

## СОСУДИСТЫЙ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЙ ФАКТОР РОСТА У ПАЦИЕНТОВ С НЕКАРДИОЭМБОЛИЧЕСКИМ ИНФАРКТОМ МОЗГА ПРИ НАЧАЛЬНОМ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ АРТЕРИЙ

Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии,<sup>1</sup>  
Белорусская медицинская академия последипломного образования<sup>2</sup>

Целью исследования явилось изучение уровня сосудистого эндотелиального фактора роста (СЭФР) у 28 пациентов (средний возраст 64,7±14,6 лет), госпитализированных в первые 48 ч от развития инфаркта головного мозга (ИГМ) при начальном атеросклеротическом поражении магистральных артерий мозга (МАГ). В зависимости от выраженности атеросклеротического поражения МАГ пациенты разделены на 2 группы: «Субстеноз» (n=17) и «Стеноз 30-49%» (n=11). Анализ содержания СЭФР в плазме крови проводили методом иммуноферментного анализа. Повышение уровня СЭФР до 306,2 пг/мл ( $p < 0,0001$ ) в крови пациентов с ИГМ при субстенозическом поражении МАГ демонстрируют более агрессивное развитие атеросклеротического ремоделирования артерий в данной группе пациентов по сравнению с группой «Стеноз 30-49%», что позволяет стратифицировать лиц с субстенозом в группу высокого риска повторного ИГМ.

**Ключевые слова:** атеросклероз, инфаркт головного мозга, ишемический инсульт, сосудистый эндотелиальный фактор роста.

**I. A. Gontschar, J. I. Stepanova**

### VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR IN PATIENTS WITH NONCARDIOEMBOLIC BRAIN INFARCTION AT INITIAL ATHEROSCLEROTIC DAMAGE OF CEREBRAL ARTERIES

The aim of this study is investigation of vascular endothelial growth factor (VEGF) level in 28 patients (average age 64,7 14,6 years), hospitalized at the first 48 h from the development of brain infarction (BI) with the initial atherosclerotic damage of cerebral magistral arteries (CMA). Depending on evidence of atherosclerotic defeat of CMA all patients were divide into 2 groups: «Substenosis» (n=17) and «Stenosis 30-49%» (n=11). The analysis VEGF content in blood plasma was performed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The increasing VEGF up to 306,2 pg/ml ( $p < 0,0001$ ) in blood of patients with BI at substenosis of CMA demonstrates more aggressive development of atherosclerotic artery remodeling at this patient group in comparison with the group «Stenosis 30-49%», what allows to stratify persons with substenosis into group of high risk of recurrent BI.

**Key words:** atherosclerosis, brain infarct, ischemic stroke, vascular endothelial growth factor, VEGF.

Ведущим звеном патогенеза инфаркта головного мозга (ИГМ) является макроангиопатия – атеротромботическое стенозирующее поражение брахиоцефальных (БЦА) и внутримозговых артерий. Механизмы, лежащие в основе формирования ИГМ при гемодинамически незначимом стенозировании магистральных артерий головы (МАГ), в настоящее время изучены недостаточно.

В процессе развития атеромы на артериальной стенке несомненная роль принадлежит неоангиогенезу – росту сети мелких вновь образованных сосудов, пронизывающих насквозь атеросклеротическую бляшку. В содержимом сосудистой бляшки

идентифицирован гликопротеин, являющийся стимулятором неоангиогенеза – сосудистый эндотелиальный фактор роста (СЭФР, или VEGF), который продуцируется различными типами клеток. Существует ряд разновидностей СЭФР, которые являются лигандами для рецепторов, вырабатываемых клетками сосудистого эндотелия. Установлено, что СЭФР при связывании с мембранными тирозинкиназными рецепторами инициирует сигнальный каскад, который в конечном итоге стимулирует рост, пролиферацию и выживание эндотелиальных клеток [7].

Мы предположили, что уровень экспрессии СЭФР

эндотелиоцитами в остром периоде ИГМ может быть связан с выраженностью атеросклеротического поражения церебральных артерий. **Цель** работы – исследовать уровень СЭФР у пациентов в острейшем периоде ИГМ при начальном атеросклеротическом поражении церебральных артерий.

### **Материал и методы**

В проспективное исследование включили 28 пациентов с ИГМ при начальном атеросклеротическом поражении БЦА, госпитализированных в 1 неврологическое отделение Больницы скорой медицинской помощи г. Минска в первые 48 ч от развития инсульта. Средний возраст пациентов составил  $64,7 \pm 14,6$  г. Среди обследованных было 19 (67,9%) мужчин и 9 (32,1%) женщин. Контрольную группу составили 12 добровольцев, не страдающих острыми или хроническими цереброваскулярными заболеваниями, из них 3 (25,0%) мужчин, 9 (75,0%) женщин; средний возраст –  $56,0 \pm 6,2$  г.

Выполняли физикальное обследование больных с оценкой неврологического статуса и степени функциональных нарушений по шкале NIHSS, модифицированной шкале Рэнкина (мШР) [1]. Пациентам проводили общий и биохимический анализ крови, общий анализ мочи, коагулограмму, ЭКГ, рентгенографию грудной клетки, осмотр офтальмолога.

На основании клинических и нейровизуализационных данных (КТ и/или МРТ головного мозга) определена локализация очага ишемического инсульта: левый каротидный бассейн (КБА) – 11 (39,3%) чел., правый КБА – 8 (28,6%) чел., вертебробазиллярный бассейн (ВББ) – 9 (32,1%) чел. Больные с локализацией инсульта в различных сосудистых бассейнах не отличались между собой по возрасту ( $p > 0,05$ ). Пациентов с постоянной или пароксизмальной фибрилляцией предсердий, искусственным водителем ритма, ревматическими пороками сердца в исследование не включали.

Прогрессирующее клиническое течение ИГМ диагностировали в 9 (32,1%) случаях, когда на фоне проводимой терапии происходило нарастание очагового неврологического дефицита и/или общемозговых нарушений на 2 и более пункта шкалы NIHSS в течение первых 7 дней госпитализации в инсультное отделение. Регрессирующее течение атеротромботического ИГМ отмечено в 19 (67,9%) наблюдениях.

Состояние мозговой гемодинамики оценивали в течение 1-3 суток пребывания пациентов в стационаре с помощью УЗИ артерий. Дуплексное исследование БЦА выполняли с помощью системы Acuson Cypress™, производитель Siemens Medical Solutions USA. В зависимости от выраженности атеросклеротического поражения МАГ пациенты разделены на 2 группы: «Субстеноз»-17 чел. с начальным атеросклеротическим субстенозическим поражением МАГ; «Стеноз 30-49%»-11 чел. с легкой степенью стенозирования БЦА.

Забор крови из кубитальной вены для определения СЭФР выполняли с 8.00 до 8.30 ч в первые сутки лечения в стационаре. Использовали вакутай-

неры, содержащие 3,8%-й раствор цитрата натрия в качестве антикоагулянта, в соотношении с кровью 1:9. Путем центрифугирования получали плазму, которую замораживали и хранили до исследования при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ . Анализ содержания СЭФР в плазме крови проводили иммуноферментным методом с помощью реагентов «R&D Systems» (США) на полуавтоматическом иммуноферментном анализаторе фирмы «BioТес» (США).

Перед проведением исследования у всех пациентов или их представителей было получено информированное согласие. Исследование одобрено этическим комитетом РНПЦ неврологии и нейрохирургии.

**Статистический анализ.** Результаты для категориальных переменных выражали в процентах. Оценку значимости различия частот наблюдений в независимых выборках выполняли с использованием критерия  $\chi^2$ . При нормальном распределении изучаемого количественного параметра данные представляли в виде среднего арифметического и стандартного отклонения. В противном случае данные представляли в виде медианы и квартилей. При сравнении значений количественных показателей применяли тесты Вилкоксона (Вилкоксона-Манна-Уитни U-тест), Крускалла-Уоллиса. За уровень статистической значимости принимали  $P < 0,05$ .

**Результаты.** Проведенный анализ не обнаружил статистически значимых различий основных клинических характеристик и факторов риска ишемического инсульта у пациентов с различной степенью стенозирования церебральных артерий (таблица 1). АГ 2-3 степени диагностирована у 27 (96,5%) из 28 пациентов с ИГМ, застойная сердечная недостаточность IIa стадии – у 10 (35,7%), сахарный диабет 2 типа-у 5 (17,9%) чел. В стационаре пациентам назначали гипотензивные препараты из группы ингибиторов АПФ в невысоких дозировках (эналаприл, лизиноприл). При необходимости дополнительно назначали мочегонные, бета-блокаторы, антагонисты кальция. В первые сутки лечения назначали препараты ацетилсалициловой кислоты (АСК) в дозе 50-150 мг в сутки (аспирин, кардиомагнил, полочард, аспикард). В 7 случаях проводили антикоагулянтную терапию гепарином по 5 тысяч единиц подкожно 4 раза в сутки под контролем АЧТВ. Ни один пациент с инсультом не получал тромболитическую терапию. Летальных исходов у наблюдаемых больных за время лечения в стационаре (10-14 суток) не было.

Преобладающим патогенетическим вариантом ИГМ в соответствии с критериями TOAST, был атеротромботический: 9 (81,8%) в группе «Стеноз 30-49%» и 12 (70,6%) в группе «Субстеноз» ( $p > 0,05$ ). Реже диагностирован лакунарный подтип ишемического инсульта: 2 (18,2%) и 5 (29,4%) соответственно ( $p > 0,05$ ).

По данным дуплекснографии у всех 17 пациентов группы «Субстеноз» диагностировано начальное атеросклеротическое поражение церебральных артерий, которое проявлялось умеренным уп-

лотением стенок МАГ, наличием плоских кальцинированных атеросклеротических бляшек, стенозирующих просвет брахиоцефальных артерий менее чем на 30%. У семи больных визуализированы патологические извитости БЦА, такие как петлевые изгибы внутренних сонных артерий (ВСА) с локальными гемодинамическими сдвигами (3 чел.), С-образные, S-образные изгибы или извитости позвоночных артерий, с ускорением линейной скорости кровотока (4 чел.).

В группе «Стеноз 30-49%» выявлены стенозы экстракраниальных артерий легкой степени выраженности. При исследовании интракраниальной гемодинамики закрытие темпоральных окон обнаружено у 3 пациентов, диффузное снижение кровотока по артериям основания мозга – у 2, анатомически малый диаметр позвоночной артерии – у 1 чел. В 4 случаях визуализированы изгибы ВСА с/ без локальных гемодинамических перепадов.

Результаты определения СЭФР в крови пациентов с ИГМ представлены в таблице 2. Содержание васкулоэндотелиального фактора роста в обеих группах пациентов существенно превышало уровень данного метаболита в контрольной группе ( $p < 0,0001$ ). В то же время обращает на себя внимание наличие достоверной разницы уровня СЭФР в острейшем периоде инсульта у пациентов с различной степенью вовлеченности церебральных артерий в атеростеноз. Уровень СЭФР в группе «Субстеноз» достигал 306,2 пг/мл, а в группе «Стеноз 30-49%»-143,8 пг/мл ( $p < 0,0001$ ).

**Обсуждение.** Hayashi T. et al. в экспериментальной работе показали, что при преходящей окклю-

зии средней мозговой артерии (СМА) мышцей в первые 3 ч наблюдается резкая стимуляция выработки СЭФР корковыми нейронами и клетками мягкой мозговой оболочки [5]. В другом исследовании на модели постоянной окклюзии СМА крыс содержание васкулоэндотелиального фактора роста начинало возрастать в периферической зоне церебральной ишемии через 3 ч после прекращения кровотока, достигало максимума через 24 ч и медленно снижалось в течение 7 суток [9].

Работы, посвященные исследованию фактора сосудистого роста у пациентов с ишемическим инсультом, весьма немногочисленны. Благодаря исследованию S. C. Lee et al. [6] показано, что сывороточные уровни СЭФР в первые 24 ч ишемического инсульта коррелируют с размером очага острой церебральной ишемии, а также с долгосрочным прогнозом у пациентов с ИГМ. M. Slevin et al. выполнили исследование концентрации СЭФР в сыворотке крови 29 пациентов с острым ИГМ на 1, 2, 3, 7 и 14-е сутки госпитализации. Необходимо отметить, что через 24 ч от дебюта инсульта концентрация СЭФР в сыворотке крови пациентов составила в среднем 416 пг/мл. Наиболее высокий уровень васкулоэндотелиального фактора роста зарегистрирован в конце 1-й недели инсульта. Данная работа продемонстрировала важную роль СЭФР в патогенезе ишемического инсульта, обнаружив прямую связь между размером очага ИГМ и содержанием циркулирующего в крови эндотелиального фактора ангиогенеза [10]. Исследование включало 14 пациентов с атеротромботическим ИГМ, 7 – с кардиоэмболическим при фибрил-

**Таблица 1** – Основные демографические данные, клинические характеристики и факторы риска острого ИГМ (n=28 чел.)

Характеристики	Группа «Субстеноз» (n=17 чел.)	Группа «Стеноз 30-49%» (n=11 чел.)	p
Возраст, в годах	65,7±10,4	63,2±19,9	НЗ
Количество мужчин	6 (63,7%)	12 (70,6%)	НЗ
ИГМ в КБА	6 (54,5%)	13 (76,5%)	НЗ
ИГМ в правом КБА	3 (27,3%)	5 (29,4%)	НЗ
Прогрессирующее течение ИГМ	2 (18,2%)	7 (41,2%)	НЗ
Перенесенный инсульт или ТИА	0 (0%)	1 (5,9%)	НЗ
Артериальная гипертензия 3 ст.	4 (36,4%)	5 (29,4%)	НЗ
Постинфарктный кардиосклероз	1 (9,1%)	1 (5,9%)	НЗ
Сердечная недостаточность Н2а ст.	5 (45,5%)	5 (29,4%)	НЗ
Заболевания периферических артерий	2 (18,2%)	2 (11,8%)	НЗ
Сахарный диабет	2 (18,2%)	3 (17,7%)	НЗ
Ожирение	2 (18,2%)	3 (17,7%)	НЗ
Злоупотребление алкоголем	3 (27,3%)	5 (29,4%)	НЗ
Оценка по шкале NIHSS при поступлении, в баллах	6 {3; 12}	5 {4; 8}	НЗ
Оценка по шкале NIHSS через 10-12 дней, в баллах	4 {1; 7}	3 {2; 7}	НЗ
Оценка по мШР при поступлении, в баллах	4 {3; 4}	4 {3; 4}	НЗ
Оценка по мШР через 10-12 дней, в баллах	3 {2; 3}	3 {2; 3}	НЗ

Примечание. НЗ – различия статистически незначимы.

Характеристика	Стеноз 30-49% (n=17)	Субстеноз (n=11)	Контроль (n=12)	p 2-3	p 2-4	p 3-4
1	2	3	4	5	6	7
СЭФР, пг/мл	143,8 {128,8;160,2}	306,2 {250,8;389,2}	57,2 {45,9;69,3}	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

ляции предсердий и еще 7 – с лакунарным инсультом; наиболее высокое содержание СЭФР отмечено при атеротромботическом подтипе ИГМ, вызванном выраженным стенозом или окклюзией церебральной артерии. Анализ концентрации СЭФР при ИГМ на фоне начального атеросклеротического поражения МАГ, в данной статье не приведен.

Известно, что в физиологических условиях эндотелиальный фактор роста транспортируется по кровеносному руслу в основном в связанном состоянии с тромбоцитами. Так, по данным E. Gunsilius et al. (2000), на 106 кровяных пластинок периферической крови приходится около 1,74 пг СЭФР, что подтверждается тесной корреляцией между количеством тромбоцитов и сывороточным содержанием СЭФР [4]. Поэтому уровень СЭФР в сыворотке крови всегда выше, чем в плазме, где тромбоциты остаются интактными.

В нашем исследовании значение СЭФР в плазме крови здоровых добровольцев, сопоставимых с пациентами с ИГМ по возрасту, составило в среднем 57,2 пг/мл. Близкие по значению данные приведены в статье В. Т. Ozturk et al., где контрольный уровень СЭФР равнялся 92,8 пг/мл [8]. Высокий уровень СЭФР в группе «Субстеноз», превышающий более чем в 2 раза таковой при легком стенозе МАГ, свидетельствует об активно протекающем процессе неоангиогенеза в атеромах церебральных артерий пациентов, у которых ИГМ развился вследствие атероартериальной эмболии с поверхности атеросклеротической бляшки, суживающей просвет крупной магистральной артерии мозга менее чем на 30%. Под действием СЭФР активируется пролиферация эндотелиоцитов, рост атеросклеротической бляшки, который завершается ремоделированием артерии, после чего вновь сформированный церебральный сосуд приобретает стабильное состояние [2]. Показано, что неоангиогенез определяется балансом между стимуляторами и ингибиторами роста сосудов: при низком уровне СЭФР рост новых микрососудов блокируется или протекает с низкой интенсивностью, при высоком наблюдается активация неоангиогенеза [3]. В последнее десятилетие усилия ученых направлены на изучение молекулярных механизмов, которые регулируют ангиогенез при ИГМ, так как это может способствовать развитию новых терапевтических направлений, базирующихся на стимуляции нейротекции и функционального восстановления ишемизированных тканей мозга.

**Заключение.** Проведенное исследование продемонстрировало неоднозначную роль сосудисто-

го эндотелиального фактора роста в патогенезе острого ИГМ. С одной стороны, СЭФР является маркером повреждения сосудистого эндотелия и повышение его концентрации в крови свидетельствует о развитии эндотелиальной дисфункции и активации протромбогенных и вазоконстрикторных свойств эндотелия, что, в свою очередь, усугубляет церебральную ишемию. С другой стороны, увеличенная экспрессия СЭФР отражает развитие компенсаторных реакций в виде стимуляции неоангиогенеза и нейровосстановительных процессов. Повышение уровня СЭФР в крови пациентов с ИГМ при субстенозическом поражении БЦА демонстрирует более агрессивное развитие атеросклеротического ремоделирования артерий в данной группе пациентов по сравнению с группой «Стеноз», что позволяет стратифицировать лиц с субстенозом в группу высокого риска повторного ИГМ.

### Литература

1. Гончар, И.А. Современные системы оценки степени тяжести больных с инфарктом мозга / И.А. Гончар // Медицинский журнал. 2005. № 3. С. 124 – 126.
2. Сергеевичев, Д.С. Диссертация... канд. биол. наук: 03.00.25 / Д.С. Сергеевичев; НИИ регион. патологии и патоморфологии СО РАМН. Новосибирск, 2009. 102 с.
3. Choy, J.C. Endothelial cell apoptosis: biochemical characteristics and potential implications for atherosclerosis / J. C. Choy // J. Mol. Cell. Cardiol. 2001. Vol. 33. P. 1673 – 1690.
4. Gunsilius, E. Thrombocytes are the major source for soluble vascular endothelial growth factor in peripheral blood / E. Gunsilius [et al.] // Oncology. 2000. Vol. 58 (2). P. 169 – 174.
5. Hayashi, T. Temporal profile of angiogenesis and expression of related genes in the brain after ischemia / T. Hayashi [et al.] // J. Cereb. Blood Flow Metab. 2003. Vol. 23. P. 166-180.
6. Lee, S.C. Serum VEGF levels in acute ischaemic strokes are correlated with long-term prognosis / S. C. Lee [et al.] // Eur. J. Neurol. 2010. Vol. 17 (1). P. 45 – 51.
7. Matsumoto, T. VEGF receptor signal transduction / T. Matsumoto, L. Claesson-Welsh // Sci. STKE. 2001. Issue. 112. P. 21.
8. Ozturk, B.T. Effect of serum cytokines and VEGF levels on diabetic retinopathy and macular thickness / B. T. Ozturk [et al.] // Molecular Vision. 2009. Vol. 15. P. 1906-1914.
9. Plate, K.H. Cell type specific upregulation of vascular endothelial growth factor in an MCA-occlusion model of cerebral infarct / K. H. Plate [et al.] // J. Neuropathol. Exp. Neurol. 1999. Vol. 58 (6). P. 654-666.
10. Slevin, M. Serial measurement of vascular endothelial growth factor and transforming growth factor-beta1 in serum of patients with acute ischemic stroke / M. Slevin [et al.] // Stroke. 2000. Vol. 31 (8). P. 1863 – 1870.

Поступила 24.10.2011 г.