

НЕЙРОНАЛЬНЫЕ БИОМАРКЕРЫ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРОЙ СИМПТОМАТИКОЙ ИНСУЛЬТА

Е. С. Нетесова, Е. В. Нетесов

*ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава
России (г. Новосибирск)*

Целью данной статьи является характеристика достижений в сфере изучения нейрональных биомаркеров и выделение наиболее перспективных направлений для дальнейшего изучения. На сегодняшний день одним из наиболее приоритетных направлений исследований в области неврологии является разработка и внедрение новых дополнительных методов дифференциальной диагностики инсульта, таких как лабораторная дифференциальная диагностика ишемического и геморрагического инсультов с использованием нейрональных маркеров плазмы. В настоящий момент наиболее хорошо изучены и используются для диагностики инсульта следующие биомаркеры: GFAP, PARK-7, NDKA, NR2A/2B антитела, NR2A/2B протеин, белок S-100, NSE, BNP, MMP-9 и др. Однако требуется дальнейшее изучение этих маркеров и их сочетания с целью создания высокочувствительного и специфичного экспресс-теста для быстрой, точной и недорогой лабораторной дифференциальной диагностики инсульта.

Ключевые слова: нейрональные биомаркеры, нейроспецифические маркеры, инсульт, мульти-маркерные панели, биомаркеры инсульта.

Нетесова Екатерина Сергеевна — аспирант кафедры клинической неврологии и алгологии ФПК и ППС ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», e-mail: netessova_es@mail.ru

Нетесов Евгений Валентинович — преподаватель кафедры общественного здоровья и здравоохранения ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 226-25-14, e-mail: netessov@mail.ru

Остро развившийся неврологический дефицит, соответствующий зоне кровоснабжения артерий головного мозга, с высокой степенью вероятности является проявлением инсульта. Своевременное лечение во временных рамках «терапевтического окна» в условиях специализированных отделений с применением доказано эффективных методов (тромболитическая терапия, ранняя нейрореабилитация, малоинвазивные нейрохирургические вмешательства) специально обученной мультидисциплинарной

бригадой позволяет значительно снизить смертность и постинсультную инвалидизацию [1, 2]. Клиницисту в острейшем периоде инсульта необходимо максимально быстро провести дифференциальную диагностику ишемического и геморрагического инсультов, поскольку правильно поставленный диагноз определяет стратегию лечения и исходы.

На сегодняшний день единственным высокочувствительным и специфичным инструментом для дифференциальной диагностики ишемического и геморрагического инсультов является нейровизуализация (МРТ/КТ головного мозга). КТ-томография является важным инструментом диагностики геморрагического инсульта, но может не выявлять изменений при малом очаге ишемии или в случае транзиторной ишемической атаки (ТИА). При малом очаге ишемии более информативным будет выполнение МРТ головного мозга. Обычно методы нейровизуализации используются в диагностике структурных поражений головного мозга, таких как инсульт, ЧМТ, опухоли головного мозга, нейродегенеративные заболевания и т. д. Однако они малоинформативны в случаях функциональных или метаболических изменений, имитирующих инсульт, таких как паралич Тодда, мигрень с пролонгированной аурой, гипогликемия с фокальным неврологическим дефицитом. Среди случаев, казалось бы, очевидного клинического диагноза инсульта — 20-25 % случаев оказываются инсультоподобными состояниями [3, 4].

Методы нейровизуализации и программы обследования постоянно совершенствуются, и чувствительность данных методов исследования значительно повышается [5]. Но, к сожалению, чаще всего подобное высокотехнологичное оборудование имеется в крупных медицинских организациях или научных институтах. Поэтому чаще на ранних стадиях, особенно при малом размере очага ишемии, КТ малоинформативна, а МРТ не всегда доступна [6]. В остром периоде инсульта на ранних стадиях не всегда возможно применить этот метод диагностики, тяжесть состояния пациента и грубые нарушения витальных функций не позволяют провести нейровизуализацию. В таких случаях предварительный диагноз ставится на основании данных анамнеза, неврологического осмотра, люмбальной пункции. Поэтому на сегодняшний день одним из наиболее приоритетных направлений исследований в области неврологии является разработка и внедрение новых дополнительных методов дифференциальной диагностики инсульта. Это лабораторная дифференциальная диагностика ишемического и геморрагического инсультов с использованием нейрональных маркеров плазмы. Данный метод диагностики основан на том, что многие заболевания центральной нервной системы (ЦНС), включая и инсульт, сопровождаются гибелью и повреждением нервных клеток и повышением проницаемости гематоэнцефалического барьера, в результате чего нейроспецифические белки попадают в плазму. Обнаружение нейроспецифических белков в плазме или спинномозговой жидкости прямым образом указывает на повреждение нервной ткани и позволяет прижизненно оценить состояние того или иного вида нервных клеток. С другой стороны, нейроспецифические белки сами по себе являются аутоантигенами. Обнаружение антител к ним также может стать специфическим маркером повреждения ЦНС [7, 8].

Обзор клинических исследований биомаркеров. Последние годы повсеместно ведется активный поиск и изучение маркеров для лабораторной диагностики геморрагического, ишемического инсульта и травматического повреждения головного мозга. Уже к 2008 году было проведено 21 исследование, в которых оценивали 58 отдельных биомаркеров, и 7 исследований, изучавших панели с набором нескольких биомаркеров [6]. Результаты проведенного анализа чувствительности и специфичности не позволили ни один из маркеров рекомендовать для диагностики инсульта в клинической практике.

Биомаркера, который определял бы ишемический инфаркт мозга, подобно тропонину, определяющему ишемию миокарда, найдено не было. Сложность поиска биомаркера отчасти состоит в том, что инсульт является гетерогенным заболеванием с вариабельностью размера инфаркта, различной локализацией, причины заболевания также различны [9].

Часть исследуемых нейроспецифических маркеров, таких как NSE, GFAP, S-100b, не были специфичны для ишемии и могли выделяться при других поражениях нервной системы, включая внутримозговое кровоизлияние, субарахноидальное кровоизлияние или травматическое поражение головного мозга [9, 10]. Некоторые исследуемые маркеры были связаны с процессами фрагментирования тромба [11]. Как аналоги сывороточных маркеров также изучались различные медиаторы воспаления, такие как С-реактивный белок, матриксная металлопротеиназа-9, фактор некроза опухоли альфа, интерлейкины-1, -6 и -8, сывороточный амилоид А, сосудистые и внутриклеточные молекулы адгезии. Большинство из этих молекул не соответствовали многим требованиям для успешного применения в качестве диагностических биомаркеров. Все они обладали низкой чувствительностью и специфичностью, а повышение их концентрации в сыворотке отмечалось спустя 6–12 ч от начала инсульта, к тому же они слабо определяли размер повреждения нервной ткани и исследовались только на малочисленных группах пациентов [12].

Учитывая гетерогенность ишемического инсульта, для выявления поражений головного мозга наибольший интерес представляют панели из групп биомаркеров, которые позволяют отображать различные патологические процессы, приводящие к цереброваскулярным конфликтам. Это значительно повышает диагностическую чувствительность и специфичность метода. Такие панели биомаркеров могут иметь несколько применений: помимо дифференциации геморрагического, ишемического инсультов и ТИА панели биомаркеров могут использоваться для установления причины возникновения инсульта. Также панели биомаркеров позволяют определять риск развития инсульта и возможных исходов течения заболевания. Следует подчеркнуть, что в зависимости от поставленных клинических задач планируется применять разные панели с различным сочетанием маркеров [9, 10, 13].

К 2005 году было проведено 3 независимых Европейских и Североамериканских ретроспективных исследования и установлено, что у пациентов с инсультом значительно повышается концентрация NDKA (нуклеозиддифосфаткиназа) и PARK7 в первые 3 ч от его начала [12]. Данные биомаркеры показали высокую чувствительность 54–91 % для PARK7 и 70–90 % для NDKA и были рекомендованы как потенциальные маркеры для ранней диагностики инсульта. В исследованиях участвовали 622 пациента, перенесших инсульт, а 165 человек составили контрольную группу [12]. Однако повышение концентрации PARK7 не позволяло дифференцировать ишемический инсульт от геморрагического или от ТИА, и поэтому вопрос о возможности проведения тромболитической терапии не был решен [12].

В 2009 году было проведено проспективное мультицентровое исследование диагностической панели Triage Panel Stroke, включавшей D-димер, мозговой натрийуретический пептид (BNP), MMP-9 (матриксная металлопротеиназа-9) и S-100b протеин. Данная панель показала высокую чувствительность — 86 % и низкую специфичность — 37 % для дифференциальной диагностики инсульта [14].

В 2003 году S. A. Dambinova с соавт., используя метод ELISA, установили повышение уровня NR2A антител у пациентов с ишемическим инсультом и ТИА по сравнению

с контрольной группой [15]. Однако повышение NR2A антител также наблюдались у пациентов с артериальной гипертензией и у больных с инсультом или атеросклерозом в анамнезе. Соответственно повышение концентрации антител может означать как наличие эпизодов ишемии различного генеза в анамнезе, так и быть предиктором ишемического инсульта или ТИА в будущем [10].

На данный момент большинство рассматриваемых биомаркеров — это протеины, являющиеся производными астроглии или нейронов, другие были получены эмпирически выделением из цереброспинальной жидкости и затем выделены в плазме без ясного понимания их происхождения [4]. В настоящий момент наиболее хорошо изучены и используются для диагностики инсульта следующие биомаркеры: GFAP, PARK7, NDKA, NR2A/2B антитела, NR2A/2B протеин, белок S-100, NSE, BNP, MMP-9 [6, 11, 12].

В острейшем периоде ишемического инсульта, особенно в случаях с минимальной неврологической симптоматикой, установление причины заболевания может быть весьма затруднительным. Появляются новые перспективные исследования, идентифицирующие некоторые биомаркеры, которые ассоциируются с кардиоэмболическим или лакунарным инсультом либо с инсультом вследствие поражения крупных магистральных артерий [9]. Например, BNP, фактор Виллебранда ассоциируются с кардиоэмболическим инсультом. Адипонектин (гормон жировой ткани), Р-селектин (молекулы адгезии клеток) и фибриноген связывают с инсультом вследствие поражения магистральных сосудов. Тромбомодулин (кофактор тромбина) — с лакунарным инсультом, D-димер (продукт деградации фибрина) — с кардиоэмболическим инсультом или инсультом вследствие поражения магистральных сосудов и т. д.

Таким образом, изучение и внедрение в клиническую практику биомаркеров, быстро идентифицирующих инсульт и его причину, позволяет дифференцировано и эффективно проводить такие методы лечения, как тромболитическая терапия, эмбол- или эндатерэктомия [9].

При проведении мультимаркерных исследований наиболее частые ошибки являются следствием ограниченного размера исследования, неудачного выбора сочетания маркеров и временных точек исследования, которые часто оказывались вне возможных сроков проведения лечения. И тем не менее на сегодняшний день уже имеется ряд биомаркеров с огромным потенциалом для создания диагностической панели мультимаркеров с целью быстрой дифференциации инсульта [10, 11, 16]. Требуется дальнейшее изучение этих маркеров и их сочетания с целью создания высокочувствительного и специфичного экспресс-теста для быстрой, точной и экономически целесообразной лабораторной дифференциальной диагностики инсульта. Важно установить, будет ли панель биомаркеров дополнением к нейровизуализации или же будет самостоятельным методом ранней диагностики ишемического инсульта или ТИА [9, 10, 17].

Список литературы

1. Инсульт : практическое руководство для ведения больных : пер с англ. / Ч. П. Ворлоу [и др.]. — СПб. : Политехника, 1998. — 629 с.
2. Алифирова В. М. Клинические проявления, факторы риска и прогнозирование исходов инсультов по данным госпитального регистра / В. М. Алифирова, Е. В. Кабанова, Н. Г. Бразовская // Журн. неврологии и психиатрии. — 2014. — № 8 (Материалы конгресса).
3. Wardlaw J. M. Early signs of brain infarction at CT : observer reliability and outcome after

- thrombolytic treatment-systematic review / J. M. Wardlaw, O. Midlake // *Radiology*. — 2005. — Vol. 235. — P. 444-453.
4. Hill M. D. Diagnostic biomarkers for stroke : a stroke neurologist's perspective / M. D. Hill // *Clin. Chem.* — 2005 Nov. — Vol. 51 (11). — P. 2001-2.
 5. Стаховская Л. В. Инсульт : руководство для врачей / Л. В. Стаховская, С. В. Котов. — М. : Мед. информ. агентство, 2013. — 397 с.
 6. Whiteley W. Blood biomarkers in the diagnosis of ischemic stroke : a systematic review / W. Whiteley, M. C. Tseng // *Stroke*. — 2008 Oct. — Vol. 39 (10). — P. 2902-9.
 7. Петров С. В. Иммуноферментный анализ нейроспецифических белков в оценке нейродегенеративного процесса при экспериментальном ишемическом инсульте головного мозга : автореф. дис. ... канд. мед. наук / С. В. Петров. — М., 2005. — 117 с.
 8. Нечунаева Е. В. Иммуно-биохимические показатели в ранней диагностике хронической ишемии головного мозга : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е. В. Нечунаева. — Барнаул, 2010. — 146 с.
 9. Jickling G. C. Biomarker Panels in Ischemic Stroke / G. C. Jickling, F. R. Sharp // *Stroke*. — 2015. — Vol. 46. — P. 915-920.
 10. Сэенген А. К. Биомаркеры инсульта : прогресс и проблемы диагноза, прогноза, дифференциального лечения / А. К. Сэенген, Р. Н. Христенсон // *Клин. лаб. Диагностика*. — 2012. — № 2. — С. 47-56. — (Перевод статьи из *Clin. Chem.* — 2010. — Vol. 56, N 1. — P. 21-33).
 11. Биохимические маркеры в диагностике ишемии головного мозга / А. А. Скоромец [и др.] // *Международ. неврологический журн.* — 2009. — № 5. — С. 27.
 12. PARK7 and nucleoside diphosphate kinase A as plasma markers for the early diagnosis of stroke / L. Allard, P. R. Burkhard [et al.] // *Clin. Chem.* — 2005 Nov. — Vol. 51 (11). — P. 2043-2051.
 13. Kumar A. Biomarkers to enhance accuracy and precision of prediction of short-term and long-term outcome after spontaneous intracerebral haemorrhage : a study protocol for a prospective cohort study / A. Kumar, P. Kumar // *BMC Neurol.* — 2015 Aug. — Vol. 12, N 15. — P. 136.
 14. Clinical usefulness of a biomarker-based diagnostic test for acute stroke : the Biomarker Rapid Assessment in Ischemic Injury (BRAIN) study / D. T. Laskowitz [et al.] // *Stroke*. — 2009. — Vol. 40 (1). — P. 77-85.
 15. Dambinova S. A. Blood test detecting autoantibodies to NMDA neuroreceptors for evaluation of patients with TIA and stroke / S. A. Dambinova, G. A. Khounteev, G. A. Izykenova // *Clin. Chem.* — 2003. — Vol. 49. — P. 1752-1762.
 16. Weissman J. D. NR2 antibodies : risk assessment of transient ischemic attack (TIA)/stroke in patients with history of isolated and multiple cerebrovascular events / J. D. Weissman // *J. Neurol. Sci.* — 2011. — Vol. 300 (1-2). — P. 97-102.
 17. Jickling G. C. Blood biomarkers of ischemic stroke / G. C. Jickling, F. R. Sharp // *Neurotherapeutics*. — 2011 Jul. — Vol. 8 (3). — P. 349-60.

NEURONAL BIOMARKERS AT PATIENTS WITH ACUTE SYMPTOMATOLOGY OF A STROKE

[*E. S. Netesova, E. V. Netesov*](#)

SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health» (Novosibirsk)

The purpose of this article is the characteristic of achievements in the sphere of studying the neuronal biomarkers and allocation of the most perspective directions for further studying. Nowadays one of the most priority directions of researches in the field of neurology is development and deployment of new additional methods of differential diagnostics of a stroke, such as laboratory differential diagnostics of ischemic and hemorrhagic strokes with usage the plasma neuronal marker. Currently the following biomarkers are the most well-studied and are used for diagnostics of a stroke: GFAP, PARK-7, NDKA, NR2A/2B antibodies, NR2A/2B protein, S-100, NSE, BNP, MMP-9 protein, etc. However the further studying of these markers and their combination is required for the purpose of creation of a highly sensitive and specific rapid test for fast, exact and inexpensive laboratory of differential diagnostics of a stroke.

Keywords: neuronal biomarkers, neurospecific markers, stroke, multi-marker panels, stroke biomarkers.

About authors:

Netesova Ekaterina Sergeyevna — post-graduate student of clinical neurology and algology chair of FAT and PDD at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», e-mail: netessova_es@mail.ru

Netesov Evgeny Valentinovich — teacher public health and health care services chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 226-25-14, e-mail: netessov@mail.ru

List of the Literature:

1. Stroke : practical guidance for maintaining patients : translation from English / C. P. Warlow [et al.]. — SPb. : Polytechnique, 1998. — 629 p.
2. Alifirova V. M. Clinical implications, risk factors and forecasting of outcomes of strokes according to the hospital register / V. M. Alifirova, E. V. Kabanova, N. G. Brazovskaya // Journal of neurology and psychiatry. — 2014. — N 8 (Materials of the congress).
3. Wardlaw J. M. Early signs of brain infarction at CT : observer reliability and outcome after thrombolytic treatment-systematic review / J. M. Wardlaw, O. Midlake // Radiology. — 2005. — Vol. 235. — P. 444-453.
4. Hill M. D. Diagnostic biomarkers for stroke : a stroke neurologist's perspective / M. D. Hill // Clin. Chem. — 2005 Nov. — Vol. 51 (11). — P. 2001-2.
5. Stakhovskaya L. V. Stroke : guidance for doctors / L. V. Stakhovskaya, S. V. Kotov. — M. : Medical inform. agency, 2013. — 397 p.

6. Whiteley W. Blood biomarkers in the diagnosis of ischemic stroke : a systematic review / W. Whiteley, M. C. Tseng // *Stroke*. — 2008 Oct. — Vol. 39 (10). — P. 2902-9.
7. Petrov S. V. Enzyme immunoassay of neurospecific proteins in assessment of neurodegenerative process at experimental ischemic stroke of brain: theses ... cand. of medical science / S. V. Petrov. — M., 2005. — 117 p.
8. Nechunayeva E. V. Immune and biochemical indicators in early diagnostics of chronic ischemia of brain : theses. ... cand. of medical science / E. V. Nechunayeva. — Barnaul, 2010. — 146 p.
9. Jickling G. C. Biomarker Panels in Ischemic Stroke / G. C. Jickling, F. R. Sharp // *Stroke*. — 2015. — Vol. 46. — P. 915-920.
10. Saengen A. K. Stroke biomarkers : progress and challenges, prognosis, differentiation and treatment / A. K. Saengen, R. N. Christenson // *Clin. lab. Diagnostics*. — 2012. — N 2. — P. 47-56. — (Translation of article from *Clin. Chem.* — 2010. — Vol. 56, N 1. — P. 21-33)
11. Biochemical markers in diagnostics of brain ischemia / A. A. Skoromets [et al.] // *International neurologic journal*. — 2009. — N 5. — P. 27.
12. PARK7 and nucleoside diphosphate kinase A as plasma markers for the early diagnosis of stroke / L. Allard, P. R. Burkhard [et al.] // *Clin. Chem.* — 2005 Nov. — Vol. 51 (11). — P. 2043-2051.
13. Kumar A. Biomarkers to enhance accuracy and precision of prediction of short-term and long-term outcome after spontaneous intracerebral haemorrhage : a study protocol for a prospective cohort study / A. Kumar, P. Kumar // *BMC Neurol.* — 2015 Aug. — Vol. 12, N 15. — P. 136.
14. Clinical usefulness of a biomarker-based diagnostic test for acute stroke : the Biomarker Rapid Assessment in Ischemic Injury (BRAIN) study / D. T. Laskowitz [et al.] // *Stroke*. — 2009. — Vol. 40 (1). — P. 77-85.
15. Dambinova S. A. Blood test detecting autoantibodies to NMDA neuroreceptors for evaluation of patients with TIA and stroke / S. A. Dambinova, G. A. Khounteev, G. A. Izykenova // *Clin. Chem.* — 2003. — Vol. 49. — P. 1752-1762.
16. Weissman J. D. NR2 antibodies : risk assessment of transient ischemic attack (TIA)/stroke in patients with history of isolated and multiple cerebrovascular events / J. D. Weissman // *J. Neurol. Sci.* — 2011. — Vol. 300 (1-2). — P. 97-102.
17. Jickling G. C. Blood biomarkers of ischemic stroke / G. C. Jickling, F. R. Sharp // *Neurotherapeutics*. — 2011 Jul. — Vol. 8 (3). — P. 349-60.