



Биохимические маркеры тромботических осложнений в остром периоде ишемического инсульта

А.Г. Кочетов^{1,2}, О.В. Лянг^{3,4}, И.А. Жирова³, О.О. Ивойлов³

¹ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия;

²АНО ДПО «Институт лабораторной медицины», Москва, Россия;

³ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия;

⁴ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА России, Москва, Россия

Аннотация

Цель. Изучить профиль биохимических маркеров системы гемостаза для уточнения их роли и взаимоотношений в патогенезе развития тромботических осложнений (ТО) ишемического инсульта (ИИ) и связанной с этим оценки возможностей их диагностического применения. **Материалы и методы.** В группу исследования включены 302 пациента (164 мужчины, 138 женщин), поступивших в стационар с диагнозом ИИ в течение 24 ч от начала развития заболевания. Диагноз подтвержден методом компьютерной томографии. Средний возраст пациентов составлял 69 (50–88) лет. У всех пациентов в 1-е сутки заболевания взята кровь для определения профиля аналитов, предположительно ассоциированных с патогенезом развития ТО. В сыворотке крови методом иммуноферментного анализа определены уровни гомоцистеина, ингибитора протеина С, тромбомодулина, плазминогена, тканевого активатора плазминогена, урокиназы, ингибитора активатора плазминогена 1-го типа, комплекса t-PA/PAI-1, витронектина, комплекса «плазмин- α 2-антиплазмин», D-димера, фибронектина.

Результаты. ТО в остром периоде ИИ (до 21 сут болезни) зафиксированы у 32 (10,6%, 95% доверительный интервал – ДИ 7,37–14,3) пациентов, из них тромбоэмболия легочной артерии отмечалась у 27 (8,94%, 95% ДИ 5,98–12,4) пациентов, тромбоз глубоких вен – у 5 (1,66%, 95% ДИ 0,47–3,47) пациентов. Исследование панели специфических белков, участвующих в патогенетических процессах, сопровождающих некроз ткани мозга при ИИ, продемонстрировало, что из всего выбранного для исследования перечня биохимических маркеров системы гемостаза наиболее значимы: концентрация фибронектина в прогнозе отсутствия ТО с пороговым значением более 61 мкг/мл и отношением шансов 4,4 (95% ДИ 1,5–12,9, $p=0,011$) и концентрация комплекса t-PA/PAI-1 в прогнозе развития ТО с пороговым значением более 14 нг/мл и отношением шансов 11,3 (95% ДИ 1,18–109,3, $p=0,03$).

Заключение. Значимость комплекса t-PA/PAI-1 и фибронектина как маркеров ТО при ИИ может быть обусловлена нарушением процессов активации фибринолитического звена гемостаза и накоплением неопсонированных соединений, повреждающих сосудистую стенку.

Ключевые слова: тромботические осложнения, ишемический инсульт, биомаркер, фибронектин, комплекс активатора и ингибитора плазминогена

Для цитирования: Кочетов А.Г., Лянг О.В., Жирова И.А., Ивойлов О.О. Биохимические маркеры тромботических осложнений в остром периоде ишемического инсульта. Терапевтический архив. 2022;94(7):803–809. DOI: 10.26442/00403660.2022.07.201738

ORIGINAL ARTICLE

Biochemical markers of thrombotic complications in the acute period of ischemic stroke

Anatoly G. Kochetov^{1,2}, Olga V. Lyang^{3,4}, Irina A. Zhirona³, Oleg O. Ivoylov³

¹Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

²Institute of Laboratory Medicine, Moscow, Russia;

³People's Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russia;

⁴Federal Center for Brain and Neurotechnologies, Moscow, Russia

Abstract

Aim. To study the profile of biochemical markers of the hemostasis system, to clarify their role and relationships in the pathogenesis of the development of thrombotic complications (TC) of ischemic stroke (IS) and the associated assessment of the possibilities of their diagnostic application. **Materials and methods.** The study group included 302 patients (164 men, 138 women) who were admitted to the hospital with a diagnosis of IS within 24 hours of the onset of the disease. The diagnosis was confirmed by computed tomography. The average age of patients was 69 (50–88) years. Blood was taken from all patients on the 1st day of the disease to determine the profile of analytes presumably associated with the pathogenesis of TC. Levels of homocysteine, protein C inhibitor, thrombomodulin, plasminogen, tissue plasminogen activator, urokinase, plasminogen activator type 1 inhibitor, t-PA/PAI-1 complex, vitronectin, plasmin- α 2-antiplasmin complex, D-dimer, fibronectin were determined in blood serum by ELISA.

Results. TC in the acute period of IS (up to 21 days) were recorded in 32 (10.6%, 95% CI 7.37–14.3) patients, of which pulmonary embolism was observed in 27 (8.94%, 95% CI 5.98–12.4) patients, deep vein thrombosis in 5 (1.66%, 95% CI 0.47–3.47) patients. The results of the study of a panel of specific proteins involved in pathogenetic processes accompanying necrosis of brain tissue in IS demonstrated that of the entire list of markers of the hemostasis system activation selected for the study, the most significant are: the concentration of fibronectin in the prognosis of the absence of TC with a threshold value of more than 61 mkg/ml and OR 4.4 (95% CI 1.5–12.9, $p=0.011$), and the concentration of the t-PA/PAI-1 complex in the prognosis of the development of TC with a threshold value of more than 14 ng/ml and OR 11.3 (95% CI 1.18–109.3, $p=0.03$).

Conclusion. The significance of the t-PA/PAI-1 complex and fibronectin as markers of TC in IS may be due to a violation of the activation processes of the fibrinolytic link of hemostasis and the accumulation of non-deposited compounds that damage the vascular wall.

Keywords: thrombotic complications, ischemic stroke, biomarker, fibronectin, plasminogen activator and inhibitor complex

For citation: Kochetov AG, Lyang OV, Zhirona IA, Ivoylov OO. Biochemical markers of thrombotic complications in the acute period of ischemic stroke. Terapevticheskii Arkhiv (Ter. Arkh.). 2022;94(7): 803–809. DOI: 10.26442/00403660.2022.07.201738

Информация об авторах / Information about the authors

✉ Кочетов Анатолий Глебович – д-р мед. наук, проф. каф. фармакологии ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова», ректор АНО ДПО «Институт лабораторной медицины». Тел.: +7(917)504-79-57; e-mail: ag_kochetov@dpo-ilm.ru; ORCID: 0000-0003-3632-291X

✉ Anatoly G. Kochetov. E-mail: ag_kochetov@dpo-ilm.ru; ORCID: 0000-0003-3632-291X

Введение

Ишемический инсульт (ИИ) занимает одно из первых мест среди социально значимых заболеваний ввиду своих эпидемиологических характеристик – высокой заболеваемости, смертности и летальности. Соматические осложнения в остром периоде ИИ ухудшают течение заболевания и нередко приводят к летальному исходу или инвалидизации [1]. Изучение факторов, связанных с патогенетическими механизмами развития осложнений, позволяет оценить риски неблагоприятных событий и скорректировать схему лечения пациента.

Воспалительный процесс, сопровождающий некроз ткани мозга при ИИ, вызывает повреждение сосудистой стенки и, как следствие, активацию плазменных факторов свертывания [2]. Нарушается равновесие между коагуляционным и антикоагулянтным звеньями системы гемостаза, что может приводить к тромбозам различной локализации, в многокомпонентном патогенезе которых, помимо факторов свертывания, принимают участие и другие органические соединения, например гомоцистеин, фибронектин, витронектин. По данным литературы, частота тромботических осложнений (ТО) при ИИ в отсутствие их профилактики наблюдается в 50% случаев, тромбоз эмболии легочной артерии (ТЭЛА) – в 10–20%, тромбозы глубоких вен – в 4–6%, однако при корректной терапии она снижается, в частности, ТЭЛА – до 0,7% [3].

Гомоцистеин – метаболит, образующийся из метионина в ходе метилирования белков, нуклеиновых кислот и низкомолекулярных соединений, для которого в исследованиях *in vitro* предложено множество возможных клеточных мишеней, способных реализовывать его потенциальное многофакторное дисрегуляторное, провоспалительное и даже цитотоксическое действие [4]. Его повышенный уровень статистически ассоциирован с повреждением эндотелия и активацией процессов свертывания крови [5, 6]. Показано, что высокая концентрация гомоцистеина коррелирует с тяжестью неврологической симптоматики при ИИ [7]. При этом широко укоренившееся мнение о том, что повышение концентрации гомоцистеина в крови играет самостоятельную причинную роль в реализации сосудистых заболеваний, объективно поставлено под сомнение крупными рандомизированными исследованиями и метаанализами, в которых терапевтическое снижение уровня данного метаболита не приводило к значимому уменьшению неблагоприятных сосудистых событий [8, 9]. Так или иначе гомоцистеин представляет интерес для исследования и как одно из промежуточных патогенетических звеньев во взаимосвязи с другими регуляторными молекулами, и как потенциальный диагностический маркер ТО.

Фибронектин за счет своих специфических центров связывания с тромбоцитами и коллагеном способствует уплотнению тромба и образованию фибриновых мости-

ков [10]. Не менее важной является опсонизирующая функция фибронектина, обеспечивающая защиту сосудистой стенки от повреждающего действия таких соединений, как продукты деградации и лизиса фибринового тромба, а также других токсических метаболитов, образующихся вследствие гипоксии и некроза тканей [11].

Рост фибринового тромба ограничивается плазмином, образующимся из своего предшественника – плазминогена. Показано, что при высоком уровне последнего наблюдается меньшее повреждение гематоэнцефалического барьера у больных с ИИ [12]. Плазминоген активируется тканевым активатором плазминогена (t-PA), который находится в неактивном состоянии в комплексе со своим ингибитором (ингибитор активатора плазминогена 1-го типа – PAI-1) [13], а также урокиназой, реализующей свою функцию на поверхности клеток [14]. Нарушение равновесия между активностью t-PA и PAI-1 в сторону преобладания действия PAI-1 сопряжено с нарушениями фибринолиза и тромботическими событиями [15]. Клинический интерес представляет определение концентрации комплекса t-PA/PAI-1, уровень которого прямо взаимосвязан с уровнем свободного PAI-1 [16].

Важным механизмом по предотвращению избыточного антифибринолитического эффекта PAI-1 является его способность спонтанно переходить из своей активной конформации в латентную с периодом полураспада около 1 ч [17]. Но появились данные об участии витронектина в модулировании этого перехода за счет увеличения периода полураспада в несколько раз, что свидетельствует о важном участии витронектина в регуляции баланса между фибринолитическим и антифибринолитическим звеньями гемостаза [18].

Компенсаторной реакцией на повышение концентрации плазмينا и активацию фибринолиза является ингибирование плазмينا за счет его связывания с α 2-антиплазмином и образованием комплекса «плазмин- α 2-антиплазмин» (РАР-комплекс) [19].

Маркером лизиса сформированного фибринового тромба является D-димер. Его высокий уровень взаимосвязан с высокой летальностью, тяжестью состояния, плохим функциональным восстановлением [20, 21].

Предшествующими нашей работе исследованиями показано влияние на гемостатический баланс ингибитора протеина С (РС1), который обладает разнонаправленным действием на систему гемостаза, подавляя активность не только важнейшего компонента антикоагулянтного звена антикоагулянта протеина С, но также активность t-PA, тромбина и факторов свертывания [22]. В свою очередь активация протеина С многократно ускоряется за счет его кофактора тромбомодулина, который связывает тромбин, выключая его из каскада свертывания [23]. В литературе описано повышение уровня тромбомодулина

Информация об авторах / Information about the authors

Лянг Ольга Викторовна – д-р мед. наук, доц. каф. госпитальной терапии с курсом клинической лабораторной диагностики ФГАОУ ВО РУДН, зав. отд-нием клинической лабораторной диагностики ФГБУ ФЦМН. ORCID: 0000-0002-1023-5490

Жирова Ирина Алексеевна – канд. мед. наук, доц. каф. госпитальной терапии с курсом клинической лабораторной диагностики ФГАОУ ВО РУДН. ORCID: 0000-0002-6621-2052

Ивойлов Олег Олегович – канд. мед. наук, ассистент каф. госпитальной терапии с курсом клинической лабораторной диагностики ФГАОУ ВО РУДН. ORCID: 0000-0002-4684-8440

Olga V. Lyang. ORCID: 0000-0002-1023-5490

Irina A. Zhironova. ORCID: 0000-0002-6621-2052

Oleg O. Ivoylov. ORCID: 0000-0002-4684-8440

при ИИ, наиболее выраженного при кардиоэмболическом варианте [24].

Таким образом, все перечисленные метаболиты играют свои роли в патофизиологии тромбозов, но ассоциация этих факторов с ТО при ИИ не изучена. Взаимосвязи их в патогенезе развития ТО, а равно и возможности диагностического применения, неизвестны.

Цель исследования – изучение профиля биохимических маркеров системы гемостаза для уточнения их роли и взаимоотношений в патогенезе развития ТО ИИ и связанной с этим оценки возможностей диагностического применения.

Материалы и методы

В исследование включены 302 пациента, поступившие в стационар в первые 24 ч от начала развития ИИ, подтвержденного методами нейровизуализации, без острых и хронических заболеваний в стадии декомпенсации. Из исследования исключались пациенты с геморагическим инсультом, транзиторными ишемическими атаками, обострением острых и хронических заболеваний.

Средний возраст пациентов составил 68,5 (66,9–70,1) года, доля мужчин составила 54,3% (95% доверительный интервал – ДИ 48,7–59,9, $n=164$), женщин – 45,7% (95% ДИ 40,1–51,3, $n=138$). Средний объем очага поражения по данным компьютерной томографии головного мозга – 13,9 (Q 2,80–48,8) см³, средний балл по шкале NIHSS – 11,0 (Q 6,0–20,0). По патогенетическому варианту распределение следующее: атеротромботический вариант – 93 (28,5%, 95% ДИ 23,5–33,7%), кардиоэмболический – 85 (27,5%, 95% ДИ 22,6–32,7%), остальные варианты – 136 (44%, 95% ДИ 38,5–50,0%) пациентов.

Сопутствующая патология представлена артериальной гипертензией у 252 (83,4%, 79–87,4%), нарушениями сердечного ритма – 194 (64,2%, 58,8–69,5%), ишемической болезнью сердца – 106 (35,1%, 29,8–40,6%), хронической сердечной недостаточностью – 73 (24,2%, 19,5–29,2%), сахарным диабетом – 66 (21,9%, 17,4–26,7%), заболеваниями периферических сосудов – 29 (9,6%, 6,5–13,2%) пациентов.

Стандартное обследование проводилось всем пациентам при поступлении в стационар и включало в себя компьютерную томографию головного мозга, электрокардиографию, рентгенографию органов грудной клетки, ультразвуковые исследования брахиоцефальных сосудов и сердца. Также всем пациентам проводилась унифицированная базисная терапия в соответствии со стандартом оказания медицинской помощи. Реперфузионная терапия в виде тромболитической и/или тромбэкстракции назначалась по показаниям: 112 (37,1%, 95% ДИ 31,7–42,6) и 28 (9,27%, 95% ДИ 6,25–12,8) пациентам соответственно.

Лабораторные исследования помимо стандартных клинических тестов включали в себя определение следующих специфических маркеров активации системы гемостаза: гомоцистеин (Axis), PCI (Technoclone), тромбомодулин (Diacclone), плазминоген (Technoclone), t-PA (Technoclone), урокиназа (Technoclone), PAI-1 (Technoclone), комплекс t-PA/PAI-1 (Technoclone), витронектин (Technoclone), PAP-комплекс (Technoclone), D-димер (Technoclone), фибронектин (Technoclone).

Взятие венозной крови проводили в течение первых суток от начала развития инсульта, в том числе в случае проведения тромболитической терапии или тромбэкстракции до указанных процедур. Полученную после центрифугирования сыворотку/плазму аликвотировали и замораживали при -70°C. Перечисленные маркеры активации

системы гемостаза определяли методом иммуноферментного анализа, на микропланшетном спектрофотометре ASYS ExpertPlus.

ТО – ТЭЛА и тромбоз глубоких вен фиксировались за весь острый период ИИ в течение 21 сут [1]. Период наблюдения составил 25,5 (4,1–26,9) сут.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения SPSS и Excel. Описательная статистика представлена в виде среднего значения (M) и 95% ДИ (2,5–97,5%) при нормальном распределении или в виде медианы (Md) и значений 25% нижнего и 75% верхнего квартилей с использованием знака Q (Q 25–75%) при ненормальном распределении. Нормальным принималось распределение, у которого отличие от теоретически нормального по критерию Колмогорова–Смирнова более 0,05. ДИ для долей рассчитывались методом Уилсона [25, 26]. Аналитическая статистика выполнялась с использованием t -теста Стьюдента для количественных данных с нормальным распределением или критерия суммы рангов Манна–Уитни для количественных данных с распределением, отличным от нормального. Качественные и порядковые переменные сравнивались с помощью теста χ^2 (хи-квадрат) или критерия суммы рангов Уилкоксона, Манна–Уитни. Значение вероятности (p) менее 0,05 (двусторонняя проверка значимости) демонстрировало статистическую значимость. Анализ рисков с расчетом отношения шансов (ОШ), дополнительных рисков и характеристик качественных или пороговых критических значений количественных переменных (чувствительность, специфичность, точность, правдоподобие) проводились с использованием таблицы сопряженности [27]. Оценка значимости количественного теста и выбор точек деления осуществлялись по рабочей характеристической кривой (ROC-кривой). Для оценки значений площади под ROC-кривой использовалась следующая шкала: 0,9–1,0 – отличная значимость, 0,8–0,9 – очень хорошая, 0,7–0,8 – хорошая, 0,6–0,7 – средняя, 0,5–0,6 – неудовлетворительная [28].

Результаты

ТО в остром периоде ИИ наблюдались у 32 (10,6%, 95% ДИ 7,37–14,3) пациентов, из них ТЭЛА отмечалась у 27 (8,94%, 95% ДИ 5,98–12,4) пациентов, тромбоз глубоких вен – у 5 (1,66%, 95% ДИ 0,47–3,47) пациентов. Медиана развития ТО составила 7 (95% ДИ 4,92–9,1) дней. Летальные исходы наблюдались в группе пациентов с наличием ТО в 30 (93,8%, 95% ДИ 82,4–100) случаях, в группе с отсутствием ТО – в 37 (13,7%, 95% ДИ 9,86–18,1) случаях, $p<0,001$.

Наиболее часто ТО встречались у пациентов, которым проводилась тромбэкстракция, – 6 пациентов (21,4% общего числа пациентов с тромбэкстракцией, 95% ДИ 8,37–38,2). У пациентов, которым проводилась тромболитическая терапия или стандартная терапия, частота ТО отмечалась в 2 раза реже – у 12 (10,7%, 95% ДИ 5,63–17,2) и 16 (9,88%, 95% ДИ 5,74–15,0) пациентов ($p=0,822$), при сравнении с группой тромбэкстракции различия статистически незначимы не только по ДИ, но и по статистическим критериям, составляя $p=0,13$ и $0,078$ соответственно. Следует отметить, что проведение тромболитической терапии не сказалось на количестве ТО по сравнению с группой стандартной терапии и что в целом большинство ТО пришлось на острейший период ИИ.

Лабораторные показатели, исследованные в работе, имели ненормальное распределение данных, их значения между группами тромболитической терапии, стандартной терапии и тромбэкстракции исходно не различались.

Таблица 1. Описательная статистика исследуемых лабораторных показателей**Table 1. Descriptive statistics of the studied laboratory parameters**

Показатель	Медиана	Процентили				Референтный интервал
		2,5	25	75	97,5	
Гомоцистеин, мкмоль/л	19	8,0	15	25	47	3–16
Фибронектин, мкг/мл	74	14	50	96	154	70–148
Тромбомодулин, нг/мл	4,2	1,4	3,1	4,9	6,5	2,4–7,9
РСІ, мкг/мл	91	13	61	123	281	<4
РАІ-1, нг/мл	52	7,3	28	107	311	7–43
t-РА, нг/мл	8,7	1,0	4,2	18,3	101	2–8
Комплекс t-РА/РАІ-1, нг/мл	10	1,6	4,7	21	59	7–20
Витронектин, мкг/мл	117	56	93	164	263	250–450
Урокиназа, нг/мл	0,5	0,0	0,2	0,9	4,9	1,2–2,4
Плазминоген, мкг/мл	58	14	39	75	124	60–250
РАР-комплекс, нг/мл	810	48	447	1 331	1541	<514
D-димер, нг/мл	226	6,5	80	966	4931	<250

Таблица 2. Меры центральной тенденции в группах с отсутствием и наличием ТО у пациентов с ИИ**Table 2. Measures of central tendency in groups with no and presence of thrombotic complications (TC) in patients with ischemic stroke**

Показатели	ТО						p
	нет			да			
	медиана	25-й процентиль	75-й процентиль	медиана	25-й процентиль	75-й процентиль	
Гомоцистеин, мкмоль/л	18,6	14,6	24,7	18,7	14,1	29,9	0,884
Фибронектин, мкг/мл	77,0	51,4	95,0	45,8	30,0	70,8	0,017
Тромбомодулин, нг/мл	4,22	3,0	4,86	4,44	3,9	4,57	0,708
РСІ, мкг/мл	84,3	52,4	116,4	17,1	11,3	86,2	0,067
РАІ-1, нг/мл	61,6	29,4	115,5	91,8	45,0	122,0	0,198
t-РА, нг/мл	9,53	4,60	19,2	8,60	5,78	22,1	0,959
Комплекс t-РА/РАІ-1, нг/мл	10,0	8,0	16,7	22,5	15,0	50	0,029
Витронектин, мкг/мл	101,0	87,9	131,0	98,0	71,5	146,81	0,613
Урокиназа, нг/мл	0,76	0	0,9	0,35	0	0,73	0,295
Плазминоген, мкг/мл	60,5	42,2	72,6	53,7	38,4	78,9	0,121
РАР-комплекс, нг/мл	1072	514,1	1460	430,9	248,6	613,1	0,143
D-димер, нг/мл	241	94,3	1023	261,0	66,1	2122	0,991

Меры центральной тенденции для всей выборки пациентов выше верхнего значения референтного интервала по следующим показателям: гомоцистеин, РАІ-1, t-РА, РСІ, РАР-комплекс (табл. 1).

При этом значимость различий исследуемых лабораторных показателей относительно отсутствия и наличия ТО по статистическим критериям выявлена лишь для фибронектина и комплекса t-РА/РАІ-1, чьи меры центральной тенденции не выходили за пределы референтных интервалов, соответственно: 77 (Q 51,4–95,0) мкг/мл и 45,8 (Q 30,0–70,8) мкг/мл при $p=0,003$; 10,0 (Q 8,0–16,7) нг/мл и 22,5 (Q 15,0–50,0) нг/мл при $p=0,029$. Дополнительное сравнение не по статистическим критериям, а по межквартильному размаху уровня фибронектина и комплекса

t-РА/РАІ-1 в группах с наличием и отсутствием ТО не выявило статистически значимых различий (табл. 2).

В соответствии с результатами ROC-анализа фибронектин и комплекс t-РА/РАІ-1 оказались хорошими классификаторами. Причем если рост характеристической кривой комплекса t-РА/РАІ-1 над диагональной линией характеристического квадрата традиционно, как для большинства лабораторных показателей, сочетается с повышением его концентрации при наличии осложнений (ТО), то повышение концентрации и рост характеристической кривой фибронектина сочетается с отсутствием ТО.

Площадь под ROC-кривой для комплекса t-РА/РАІ-1 при развитии ТО составила 0,772 (95% ДИ 0,566–0,978, $p=0,029$). Рассчитанное по характеристической кривой по-

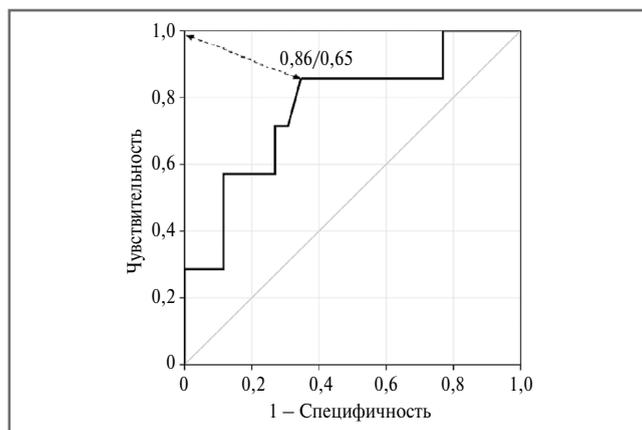


Рис. 1. Характеристическая кривая концентрации комплекса t-PA/PAI-1 в прогнозе развития ТО.

Fig. 1. Characteristic curve of the concentration of the t-PA/PAI-1 complex in the prognosis of the development of TC.

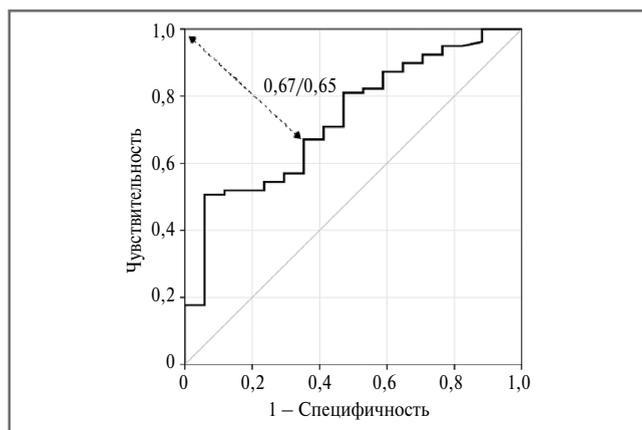


Рис. 2. Характеристическая кривая концентрации фибронектина в прогнозе отсутствия ТО.

Fig. 2. Characteristic curve of fibronectin concentration in the prognosis of the absence of TC.

пороговое значение находилось в референтных пределах и составило 14 нг/мл с чувствительностью 85% и специфичностью 65% (рис. 1).

Риск развития ТО при концентрации комплекса t-PA/PAI-1 более 14 нг/мл, рассчитанный по таблице сопряженности, составил по ОШ 11,3 (95% ДИ 1,18–109,3, $p=0,03$). Прогностическая ценность положительного результата комплекса t-PA/PAI-1 составила всего 32%, однако прогностическая ценность отрицательного результата достаточно высока – 93%.

Площадь под ROC-кривой при отсутствии ТО для фибронектина составила 0,756 (95% ДИ 0,642–0,870, $p=0,001$). Обращает на себя внимание, что пороговое значение по координатам характеристической кривой ниже референтного значения и составило 61 мкг/мл с чувствительностью 67% и специфичностью 65% (рис. 2).

Вероятность отсутствия ТО при концентрации фибронектина более 61 мкг/мл, рассчитанная по таблице сопряженности, составила по ОШ 4,4 (95% ДИ 1,5–12,9, $p=0,011$). Прогностическая ценность положительного результата

концентрации фибронектина в прогнозе отсутствия ТО также оказалась низкой и составила 26%, но прогностическая ценность отрицательного результата – 93%.

Совместное использование тестов на фибронектин и комплекс t-PA/PAI-1 резко увеличило диагностическую значимость показателей при наличии ТО: площадь под кривой составила 1,000 с $p<0,001$.

Обсуждение

Актуальность изучения клинической значимости биохимических маркеров ТО в остром периоде ИИ не вызывает сомнений – в нашем исследовании вероятность развития летального исхода при наличии ТО по отношению рисков в обследованной выборке увеличивалась в 6,84 (95% ДИ 3,74–12,5, $p<0,001$) раза.

Результаты проведенного исследования панели специфических белков, участвующих в патогенетических процессах, сопровождающих некроз ткани мозга при ИИ, продемонстрировали, что из всего выбранного перечня наиболее значимы концентрация фибронектина, имеющая обратную взаимосвязь с наличием ТО ($r=-271$, $p=0,016$), и концентрация комплекса t-PA/PAI-1, взаимосвязанная с наличием ТО напрямую ($r=+350$, $p=0,042$).

При концентрации фибронектина выше порогового значения тест среднечувствителен и среднеспецифичен в диагностике при подтверждении отсутствия ТО, но в прогнозе намного более важен оказался результат ниже порогового значения, который с большей точностью свидетельствует о высокой вероятности развития ТО.

В свою очередь при концентрации комплекса t-PA/PAI-1 выше порогового значения тест высокочувствителен в диагностике при наличии ТО, а в прогнозе важен результат ниже порогового значения, который с большей точностью свидетельствует о высокой вероятности того, что ТО не разовьются.

Воспалительный процесс активирует секрецию фибронектина клетками, в том числе эндотелиальными, а его биологические эффекты опосредуются фибрином с последующим образованием нерастворимых фибронектиновых волокон [10, 11]. Рабочая альтернативная гипотеза заключалась в том, что ТО сопровождаются более выраженным воспалением и гиперкоагуляцией и, как следствие, более высокой концентрацией фибронектина. Однако в своем исследовании мы не получили подтверждения этой гипотезы, но такая ассоциация выявлена у пациентов без ТО: коэффициент корреляции фибронектина с t-PA составил 0,468 ($p=0,003$, статистически значимая средней силы положительная взаимосвязь), коэффициент корреляции фибронектина с PCI составил -0,459 ($p=0,004$, статистически значимая средней силы отрицательная взаимосвязь), коэффициент корреляции t-PA с PCI составил -0,394 ($p=0,014$, статистически значимая средней силы отрицательная взаимосвязь); табл. 3.

Таким образом, при отсутствии ТО снижение активности PCI сопровождается повышением концентрации t-PA, активирующего фибринолиз, что вполне логично с учетом их функциональной взаимосвязи. Но в то же время с той же точки зрения нелогично выглядит выявленная обратная взаимосвязь PCI и прямая t-PA с концентрацией фибронектина. Мы предполагаем, что повышение концентрации фибронектина в конкретном случае обусловлено преимущественно не тем, что он является непосредственным участником процессов свертывания крови. Эти процессы менее выражены в группе с отсутствием ТО, так как активность PCI в данной группе снижается, а активность фибринолиза возрастает по

Таблица 3. Взаимосвязь концентрации фибронектина с концентрациями t-PA и PCI у больных с ИИ**Table 3. Interrelation of fibronectin concentration with concentrations of t-PA and PCI in patients with ischemic stroke**

Группа пациентов	Коэффициент корреляции			
	переменные	фибронектин	t-PA	PCI
Отсутствие ТО	Фибронектин	–	0,468 ^{p0,003}	-0,459 ^{p0,004}
	t-PA	0,468 ^{p0,003}	–	-0,394 ^{p0,014}
	PCI	-0,459 ^{p0,004}	-0,394 ^{p0,014}	–
Наличие ТО	Фибронектин	–	-0,293 ^{p0,383}	0,229 ^{p0,337}
	t-PA	-0,293 ^{p0,383}	–	-0,229 ^{p0,337}
	PCI	0,229 ^{p0,337}	-0,229 ^{p0,337}	–
Полная выборка	Фибронектин	–	0,389 ^{p0,008}	-0,282 ^{p0,061}
	t-PA	0,389 ^{p0,008}	–	-0,315 ^{p0,035}
	PCI	-0,282 ^{p0,061}	-0,315 ^{p0,035}	–

мере повышения концентрации фибронектина. Вероятнее всего, фибронектин играет роль прежде всего белка-опсони-на, участвующего в процессах ликвидации дериватов фибрина, и повышение концентрации фибронектина имеет компенсаторную природу в ответ на активацию фибринолиза.

Такое предположение объясняет риск развития ТО при низких концентрациях фибронектина – снижается защита сосудистой стенки от повреждающего действия пристеночного фибринолиза и образующихся при ишемии токсических продуктов распада тканей, что создает порочный круг постоянной и даже нарастающей стимуляции гемостаза.

Более высокий уровень комплекса t-PA/PAI-1, отражающего уровень свободного t-PA, в группе с ТО, казалось бы, не подтверждает ведущую роль PAI-1 в развитии тромбозов [12]. Но в проведенном нами исследовании сдвиг в сторону связанного t-PA относительно несвязанной формы (комплекс t-PA/PAI-1/t-PA) наблюдался в группе именно с наличием ТО, составив, соответственно, 1,05 и 2,61 раза. Отношения несвязанных форм PAI-1 и t-PA (PAI-1/t-PA) были больше в сторону PAI-1 тоже в группе с наличием ТО и составили, соответственно, 6,46 и 10,7 раза. Однако в отношении несвязанной формы PAI-1 и комплекса t-PA/PAI-1 (PAI-1/комплекс t-PA/PAI-1) был сдвиг в сторону PAI-1 в группе с отсутствием ТО, составив, соответственно, 6,16 и 4,08 раза, что вынуждает предположить в группе с отсутствием ТО более эффективную или достаточную нейтрализацию несвязанного PAI-1 за счет описанного в литературе регуляторного механизма спонтанного перехода PAI-1 в латентную конформацию [14].

Заключение

Таким образом, в проведенном нами исследовании панели специфических белков, связанных с инфарктом мозга, наиболее значимыми маркерами ТО выявлены фибронектин и комплекс t-PA/PAI-1.

Патогенетическая роль указанных маркеров может заключаться в том, что при ТО наблюдается неэффективность или недостаточность механизма перевода несвязанного PAI-1 в латентное состояние на фоне активного использования и последующего истощения фибронектина, что в конечном итоге завершается тромбозом, обусловленным прежде всего нарушением процессов активации фибринолитического звена гемостаза и накоплением неопсонированных соединений, повреждающих сосудистую стенку.

Раскрытие интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Disclosure of interest. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

Authors' contribution. The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Авторы декларируют отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

Funding source. The authors declare that there is no external funding for the exploration and analysis work.

Список сокращений

ДИ – доверительный интервал
ИИ – ишемический инсульт
ОШ – отношение шансов
ТО – тромботические осложнения
ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии

PAI-1 – ингибитор активатора плазминогена 1-го типа
РАР-комплекс – комплекс плазмин- α 2-антиплазмин
PCI – ингибитор протеина С
t-PA – тканевой активатор плазминогена

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Инсульт: Руководство для врачей. Под ред. Л.В. Стаховской, С.В. Котова. М.: МИА, 2014 [Insult: Rukovodstvo dlia vrachei. Pod red. LV Stakhovskoi, SV Kotova. Moscow: MIA, 2014 (in Russian)].
2. Парфенов В.А. Венозные тромбозные осложнения при ишемическом инсульте и их профилактика. *Неврологический журнал*. 2012;5:4-9 [Parfenov VA. Venous thromboembolic complications in ischemic stroke and their prevention. *Neurological journal*. 2012;5:4-9 (in Russian)].
3. Рябинкина Ю.В., Гнедовская Е.В., Максимова М.Ю., и др. Инсульт: частота развития и факторы риска венозных тромбозных осложнений в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии. *Анестезиология и реаниматология*. 2015;5:54-9 [Ryabinkina YuV, Gnedovskaya EV, Maksimova MYu, et al. Stroke: Incidence and risk factors for venous thromboembolic complications in intensive care unit. *Anesteziologiya i reanimatologiya*. 2015;6(5):54-59 (in Russian)].
4. Esse R, Barroso M, Tavares de Almeida I, Castro R. The Contribution of Homocysteine Metabolism Disruption to Endothelial Dysfunction: State-of-the-Art. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(4):867. DOI:10.3390/ijms20040867
5. Huimin F, Hao X, Yang S, et al. Study on the incidence and risk factor of silent cerebrovascular disease in young adults with first-ever stroke. *Medicine (Baltimore)*. 2018;48:e13311. DOI:10.1097/MD.00000000000013311
6. Liu J, Quan J, Li Y, et al. Blood homocysteine levels could predict major adverse cardiac events in patients with acute coronary syndrome A STROBE-compliant observational study. *Medicine (Baltimore)*. 2018;40:e12626. DOI:10.1097/MD.00000000000012626
7. Fan YL, Zhan R, Dong YF, et al. Significant interaction of hypertension and homocysteine on neurological severity in first-ever ischemic stroke patients. *J Am Soc Hypertens*. 2018;7:534-41. DOI:10.1016/j.jash.2018.03.011
8. Albert CM, Cook NR, Gaziano JM, et al. Effect of folic acid and B vitamins on risk of cardiovascular events and total mortality among women at high risk for cardiovascular disease: A randomized trial. *JAMA J Am Med Assoc*. 2008;299:2027036. DOI:10.1001/jama.299.17.2027
9. Marti-Carvajal AJ, Solà I, Lathyrus D, Dayer M. Homocysteine-lowering interventions for preventing cardiovascular events. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;17(8):CD006612. DOI:10.1002/14651858.CD006612.pub5
10. Cho X, Degen JL, Collier BS, et al. Fibrin but not adsorbed fibrinogen supports fibronectin assembly by spread platelets. Effects of the interaction of alphaIIb beta3 with the C terminus of the fibrinogen gamma-chain. *Biol Chem*. 2005;9:280-5. DOI:10.1074/jbc.M506289200
11. Березовская Г.А., Карпенко М.А., Петрищев Н.Н. Фибронектин – фактор риска или защиты после интракоронарного стентирования? *Региональное кровообращение и микроциркуляция*. 2013;12(4):12-9 [Berezovskaya GA, Karpenko MA, Petrishchev NN. Fibronectin – a risk factor or protection after intracoronary stenting? *Regional Blood Circulation and Microcirculation*. 2013;12(4):12-9 (in Russian)].
12. Singh S, Houng AK, Wang D, Reed GL. Physiologic variations in blood plasminogen levels affect outcomes after acute cerebral thromboembolism in mice: a pathophysiologic role for microvascular thrombosis. *J Thromb Haemost*. 2016;9:1822-32. DOI:10.1111/jth.13390
13. Bachmann F, Kruihof EKO. Tissue plasminogen activator: Chemical and physiological aspects. *Sem Thromb Haemostas*. 1984;10:6-17. DOI:10.1055/s-2007-1004403
14. Ткачук В.А., Плеханова О.С., Белоглазова И.Б., Парфенова Е.В. Роль мультидоменной структуры урокиназы в регуляции роста и ремоделирования сосудов. *Український біохімічний журнал*. 2013;6:18-45 [Tkachuk VA, Plekhanova OS, Beloglazova IB, Parfenova EV. The role of the multidomain structure of urokinase in the regulation of growth and vascular remodeling. *Ukrainian Biochemical Journal*. 2013;6:18-45 (in Russian)].
15. Jung RG, Motazedian P, Ramirez FD, et al. Association between plasminogen activator inhibitor-1 and cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis. *Thromb J*. 2018;16:12. DOI:10.1186/s12959-018-0166-4
16. Ozolina A, Strike E, Jaunalksne I, et al. PAI-1 and t-PA/PAI-1 complex potential markers of fibrinolytic bleeding after cardiac surgery employing cardiopulmonary bypass. *BMC Anesthesiol*. 2012;30:12-27. DOI:10.1186/1471-2253-12-27
17. Yildiz SY, Kuru P, Oner E, Agirbasli M. Functional Stability of Plasminogen Activator Inhibitor-1. *ScientificWorldJournal*. 2014;2014:858293. DOI:10.1155/2014/858293
18. Guruswamy R, El Ali A. Complex Roles of Microglial Cells in Ischemic Stroke Pathobiology: New Insights and Future Directions. *Int J Mol Sci*. 2017;3:496. DOI:10.3390/ijms18030496
19. Feinberg WM, Macy E, Cornell ES, et al. Plasmin-alpha2-antiplasmin complex in patients with atrial fibrillation. Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Investigators. *Thromb Haemost*. 1999;1:100-3.
20. Shapir L, Gross B. Dynamic changes of D-dimer following stroke. *Harefuah*. 2017;5:302-6.
21. Li J, Gu C, Li D, et al. Effects of serum N-terminal pro B-type natriuretic peptide & D-dimer levels on patients with acute ischemic stroke. *Pak J Med Sci*. 2018;4:994-8. DOI:10.12669/pjms.344.15432
22. Yang H, Geiger M. Cell penetrating SERPINA5 (Protein C inhibitor, PCI): More questions than answers. *Semin Cell Dev Biol*. 2017;62:187-93. DOI:10.1016/j.semcdb.2016.10.007
23. Olivot JM, Labreuche J, Broucker T De, et al. Thrombomodulin gene polymorphisms in brain infarction and mortality after stroke. *J Neurol*. 2008;4:514-9. DOI:10.1007/s00415-008-0725-x
24. Dharmasaroja P, Dharmasaroja PA, Sobhon P. Increased plasma soluble thrombomodulin levels in cardioembolic stroke. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2012;3:289-93. DOI:10.1177/1076029611432744
25. Brown LD, Cai TT, Dasgupta A. Interval Estimation for a Binomial Proportion. *Statistical Science*. 2001;2:101-33.
26. Garcia-Perez MA. On the confidence interval for the binomial parameter. *Quality and Quantity*. 2005;39:467-81.
27. Altman DJ, Gore SM, Gardner MJ. Statistical guidelines for contributors to medical journals. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1983;6376:1489-93. DOI:10.1136/bmj.287.6385.132-b
28. Ланг Т.А., Сесик М. Описание статистики в медицине. Руководство для авторов, редакторов и рецензентов. М.: Практическая медицина, 2011 [Lang TA, Sestic M. Opisaniye statistiki v meditsine. Rukovodstvo dlia avtorov, redaktorov i retsenzentov. Moscow: Prakticheskaya meditsina, 2011 (in Russian)].

Статья поступила в редакцию / The article received: 10.02.2022



OMNIDOCTOR.RU