

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ДОНЕЦКОЙ НАРОДНОЙ
РЕСПУБЛИКИ
ГОСУДАРСТВЕННАЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ВЫСШЕГО
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ДОНЕЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ М. ГОРЬКОГО»

На правах рукописи

ФАБЕР ТАТЬЯНА ИВАНОВНА

УДК 616.831-005.4-092-036.12

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ
ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ МОЗГА**

14.03.03 – патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Баринов Эдуард Федорович
доктор медицинских наук, профессор

*Экземпляр идентичный всем
существующим у Учёного секретаря
Диссертационного совета Д 01.022.05*

Донецк – 2022

СОДЕРЖАНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1 ФАКТОРЫ РИСКА И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИХ УЧАСТИЯ В ПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ МОЗГА.....	16
1.1. Факторы риска хронического нарушения мозгового кровообращения.....	16
1.2. Возможные патогенетические механизмы развития и прогрессирования хронической ишемии мозга.....	17
1.3. Хроническая ишемия мозга: классификация, диагностика, клиника.....	34
1.4. Тромбоциты как связующее звено между мозгом и кровью при хронической ишемии мозга.....	36
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	43
2.1. Дизайн исследования и клиническая характеристика пациентов.....	43
2.2. Клинико-инструментальное обследование больных с хронической ишемией мозга.....	45
2.3. Лабораторные исследования.....	50
2.4. Методика исследования агрегации тромбоцитов in vitro.....	51
2.5. Статистическая обработка результатов исследования.....	56
ГЛАВА 3. ПАТОГЕНЕЗ I СТАДИИ ХРОНИЧЕСКОГО НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ.....	58
3.1. Клинико-лабораторная характеристика пациентов с I стадией ХИМ.....	58
3.2. Диагностические возможности анализа функциональной активности рецепторов тромбоцитов при ХИМ I стадии.....	66
3.3. Причино-следственные связи в патогенезе ХИМ I стадии.....	70

ГЛАВА 4 ПАТОГЕНЕЗ II СТАДИИ ХРОНИЧЕСКОГО НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ.....	91
4.1. Клинико-лабораторная характеристика пациентов с II стадией ХИМ.....	91
4.2. Диагностические возможности анализа функциональной активности рецепторов тромбоцитов при ХИМ II стадии.....	104
4.3. Причино-следственные связи в патогенезе ХИМ I стадии	107
ГЛАВА 5 ФАКТОРЫ РИСКА И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ III СТАДИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ МОЗГА	121
5.1. Факторы риска и молекулярные механизмы их участия в патогенезе ХИМ	121
5.2. Диагностические возможности анализа функциональной активности рецепторов тромбоцитов при ХИМ III стадии.....	131
АНАЛИЗ И ОБОБЩЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	150
ВЫВОДЫ.....	164
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	166
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	167

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

α_2	—	альфа ₂ - адренорецептор к катехоламинам
Ан-2	—	ангиотензин 2
АТ ₁	—	рецептор I типа к ангиотензину 2
АГ	—	артериальная гипертензия
АДФ	—	аденозиндифосфат
АТц	—	агрегация тромбоцитов
ВКМ	—	внеклеточный матрикс
ГЭБ	—	гемато-энцефалический барьер
ДИ	—	доверительный интервал
ЕС	—	эффективная концентрация агониста
ИЛ	—	интерлейкин
КТ	—	компьютерная томография
ОШ	—	отношение шансов
P2	—	пуриновые рецепторы
РАС	—	ренин-ангиотензиновая система
САС —	—	симпато-адреналовая система
Тц	—	тромбоциты
ФАТ	—	фактор активации тромбоцитов
УЗД	—	ультразвуковое дуплексное сканирование
ХИМ	—	хроническая ишемия мозга
ХИМСД	—	хроническая ишемия мозга при наличии СД
ЦВЗ	—	цереброваскулярные заболевания
GP VI	—	гликопротеиновый рецептор к коллагену IV типа

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Хроническая ишемия мозга (ХИМ) является одной из наиболее распространенных форм цереброваскулярной патологии [44, 97, 148]. Сосудистые заболевания головного мозга относятся к числу основных причин смертности и стойкой утраты трудоспособности, поскольку сопровождаются развитием когнитивных нарушений [46, 54, 114]. Факторами риска ХИМ считаются артериальная гипертензия, сахарный диабет, ожирение, курение, системная воспалительная реакция, возраст и пол пациента [53, 121]. Однако, до настоящего времени остается открытым вопрос – какие патогенетические механизмы лежат в основе действия каждого конкретного фактора риска? Традиционно считается, что в основе патогенеза ХИМ лежит повреждение мелких мозговых сосудов (церебральная микроангиопатия), нарушение микроциркуляции, дефицит энергетических субстратов в нейронах мозга, глутаматный эксайтоксикоз, снижение синтеза NO, окислительный стресс, а также нарушение проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) [123, 287].

Следует признать, что существующая на сегодняшний день патогенетическая концепция ХИМ требует дальнейшего более глубокого изучения молекулярных механизмов, без чего невозможно совершенствование диагностики и разработки методов лечения и профилактики. Центральную роль в патогенезе цереброваскулярной патологии (ЦВП) отводят адренорецепторам, которые регулируют тонус церебральных сосудов и модулируют ауторегуляцию мозгового кровотока [196], участвуют в ремоделировании стенки сосудов [169, 201] и формировании противовоспалительного фенотипа микроглии [55]. Ангиотензин-2 (Ан-2) рассматривается как индуктор

патологических процессов, связанных с развитием гипертонии, сахарного диабета и старения, которые считаются основными факторами риска ЦВП. Участие ангиотензиновых AT_1 -рецепторов в патогенезе ЦВП может быть связано с ингибированием синтазы оксида азота (eNOS) [232]; стимуляцией пролиферации гладкомышечных клеток, которая является основной причиной ремоделирования сосудистого русла мозга [156]; продукцией провоспалительных цитокинов [77].

Для большинства факторов риска ЦВП - характерно нарушение микроциркуляции и развитие ишемии мозга, что сопровождается повышением внеклеточной концентрации пуринов [267]. В этой связи представляют интерес процессы, связанные с высвобождением АТФ из клеток крови и микроглии, деградацией нуклеотидов и функционированием сигнальных систем, опосредованных активацией пуриновых P_2 -рецепторов. Значимость стимуляции P_2Y -рецепторов (P_2Y_1 и P_2Y_{12}) в патогенезе ЦВП определяется участием в: функционировании различных глиальных и нейрональных модулей нервной системы [170]; поддержании паракринной связи микроглия-астроциты [197]; экспрессии генов микроглии, связанных с высвобождением провоспалительных цитокинов (ИЛ- 1β , ИЛ-6 и ФНО- α) [153].

Нейровоспаление является одним из важных этиологических факторов ЦВП и нейропсихопатических расстройств [100]. Медиатором нейровоспаления является фактор активации тромбоцитов (ФАТ), значимость которого в патогенезе ЦВП определяется возможностью модулировать синапсы ЦНС, индуцировать нейровоспаление (вследствие активации глии) и повышать проницаемость ГЭБ [282]. В связи со значимостью барьерной функции эндотелия для поддержания гомеостаза мозга предлагается исследовать активность $GPVI$ -рецептора к коллагену IV типа базальной мембраны отражающее ремоделирование стенки сосудов [282].

Перспективным подходом к анализу молекулярных механизмов патогенеза и прогрессирования ЦВП является биотехнология, связанная с исследованием *in vitro* реактивности рецепторов тромбоцитов (Тц). Данное

утверждение основывается на следующих фактах: Тц могут оперативно реагировать на нарушение гомеостаза мозга изменением экспрессии рецепторов; Тц могут влиять на морфо-функциональное состояние эндотелия капилляров [154]; Тц могут инициировать возникновение и поддержание хронического нейровоспаления, провоцирующего развитие сосудистой деменции [178].

Таким образом, необходимость изучения молекулярных механизмов реактивности Тц в условиях прогрессирования ХИМ определяет актуальность представленной научной задачи, имеющей как теоретическое, так и практическое значение.

Степень разработанности темы исследования

ЦВП является актуальной областью фундаментальных исследований вследствие значительной распространенности, высокого риска развития опасных для жизни осложнений, трудностей диагностики на ранних этапах болезни и недостаточно эффективного лечения. Описанные у пациентов неврологические и когнитивные нарушения не укладываются в картину сформировавшихся знаний об этиологии и патогенезе ХИМ. Основной причиной развития симптоматики и синдромов при ХИМ считается разъединение корковых (прежде всего лобных) и подкорковых структур вследствие альтерации проводящих путей в ЦНС, тогда как описание молекулярных механизмов в структурах головного мозга, предшествующие прогрессированию ХИМ остаются недостаточным. Можно ожидать, что исследование состояния адренергической, ренин-ангиотензиновой и пуринергической систем организма, а также причин развития нейровоспаления и возникающих изменений внеклеточного матрикса мозга позволит разработать новые методы диагностики, таргетной терапии и профилактики развития

тяжелой стадии ХИМ. В этой связи анализ *in vitro* функциональной активности рецепторов Тц представляется перспективным.

Связь с научными программами, планами, темами

Диссертационная работа выполнена на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького» и является фрагментом научно-исследовательской работы: «Тромбоцитарные маркеры прогрессирования хронической ишемии мозга, ассоциированной с сахарным диабетом 2 типа» (шифр работы УН 19.01.01). Диссертантка выполнила фрагмент научно-исследовательской работы, посвященной изучению патогенеза развития и прогрессирования ХИМ. Тема диссертации и научный руководитель утверждены на заседании Ученого совета ГОО ВПО ДонНМУ им. М. Горького, протокол №5 от 29.10.2020 г.

Цель исследования: на основании анализа функциональной активности рецепторов Тц изучить факторы риска и молекулярные механизмы патогенеза ХИМ.

Задачи исследования

1. Сопоставить клинические особенности прогрессирования ХИМ с функциональной активностью рецепторов Тц и определить факторы риска развития стадий заболевания.
2. На основе клинико-лабораторного обследования и оценки функциональной активности рецепторов Тц установить патогенетические механизмы I стадии ХИМ.

3. Изучить механизмы патогенеза II стадии ХИМ и выявить причинно-следственные связи, обеспечивающие прогрессирование от I к II стадии заболевания.
4. Определить механизмы развития III стадии ХИМ.
5. Разработать модели прогнозирования стадий ХИМ на основе факторных признаков риска развития заболевания.

Объект исследования: хроническая ишемия мозга (МКБ 10 – Цереброваскулярные болезни I67).

Предмет исследования: неврологические, нейропсихологические, лабораторные показатели (функциональная активность α_2 -адренорецептора, ангиотензинового AT₁-рецептора, пуриновых P2Y-рецепторов, ФАТ-рецептора и GP VI-рецептора тромбоцитов) у пациентов с разными стадиями ХИМ.

Научная новизна полученных результатов

Установлено, что факторами риска прогрессирования ХИМ являются: гипоксия/ишемия мозга, которая сопровождается повышением уровня в крови нуклеотидов (АТФ, АДФ) и стимуляцией пуриновых P2Y-рецепторов; артериальная гипертензия, возникающая вследствие активации ренин-ангиотензиновой (РАС) и симпатoadреналовой (САС) систем, что проявляется стимуляцией ангиотензинового AT₁-рецептора и α_2 -адренорецептора; системная воспалительная реакция, связанная со стимуляцией на клетках крови ФАТ-рецепторов и GP VI-рецептора к коллагену IV типа базальной мембраны стенки сосудов.

Впервые установлено, что у больных с I стадией ХИМ имеет место гиперреактивность AT₁-рецептора и α_2 -адренорецептора на Тц, которая проявляется, соответственно, модуляцией личностной тревожности пациентов и нейропротекцией на начальных этапах развития церебральной ишемии.

Получены новые знания о патогенезе II стадии ХИМ, основу клинической картины которой составили пирамидный, вестибуло-атактический, паркинсонический синдромы; наличие тревожно-депрессивной симптоматики; снижение общей психической активности, памяти, речевой активности и динамического праксиса. Впервые доказано, что развитие неврологических и нейрокогнитивных нарушений происходит на фоне гиперреактивности P2Y-рецепторов и может быть связано как с усилением формирования микро- и макроагрегатов, нарушающих реологию крови в сосудах микроциркуляторного русла мозга, так и с модуляцией синаптической пластичности и возбудимости нейронов в ЦНС и ПНС посредством Ca^{2+} -зависимого высвобождения глиотрансммиттера из астроцитов.

Впервые установлено, что патогенез мнестико-интеллектуальных нарушений пациентов с ХИМ III стадии сопряжен с гиперреактивностью пуриновых P2Y-рецепторов, AT_1 -рецептора, α_2 -адренорецептора, ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора. Впервые приведены доказательства, что факторами риска прогрессии от II к III стадии ХИМ являются дисрегуляция пуринергической системы организма, системная воспалительная реакция, ремоделирования стенки сосудов и увеличение проницаемости ГЭБ.

Теоретическая и практическая значимость работы

Проведенное исследование способствовало установлению новых фактов и причинно-следственных связей, углубляющих и расширяющих представление о патогенезе стадий ХИМ.

На основании анализа функциональной активности рецепторов Тц установлено что: факторами риска хронического нарушения мозгового кровообращения является пожилой возраст, артериальная гипертензия, наличие СД. Ключевыми факторами развития и прогрессирования ХИМ является

повышение активности PAC и SAC, нарушение пуринового обмена, развитие системной воспалительной реакции. Нарушение микроциркуляции, активация форменных элементов крови, развитие нейровоспаления, ремоделирование БМ сосудов и увеличение проницаемости ГЭБ сопровождается изменением активности пуриновых P2Y-рецепторов, AT₁-рецептора, α_2 -адренорецептора, ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора на Тц. Модулирующее влияние данных рецепторов на сосуды, нейроны и глию головного мозга определяют развитие неврологических и когнитивных нарушений при ХИМ.

Для внедрения в практику рекомендованы новые критерии диагностики стадий ХИМ, которые основаны на определении функциональной активности и взаимодействия рецепторов Тц, что позволило объективизировать динамику развития и стадии заболевания. Для прогнозирования риска I стадии ХИМ рекомендуется определять возраст пациента, критический порог активности AT₁-рецептора и α_2 -адренорецептора. Факторами риска прогрессирования от II к III стадии ХИМ являются критические уровни P2Y-рецепторов, ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора. Разработанные системы моделей позволят выбирать, корректировать и контролировать эффективность лечебных мероприятий у пациентов с ХИМ.

Результаты диссертационной работы, отражающие молекулярные механизмы неврологических и когнитивных нарушений при снижении мозгового кровообращения могут быть внедрены в учебный процесс кафедр медико-биологического профиля.

Методология и методы исследования

Для решения сформулированных задач проведено открытое, когортное проспективное исследование.

Этапы исследования включали изучение данных литературы, формирование когорты больных с учетом критериев включения и исключения, обследование пациентов, оценка и интерпретация полученных данных. В работе использованы клинико-неврологические, нейропсихологические, лабораторные, клинико-инструментальные и статистические методы. Функциональную активность Тц оценивали *in vitro* турбидиметрическим оптическим методом Борна.

Положения, выносимые на защиту

1. Анализ активности рецепторов Тц позволяет исследовать факторы риска и патогенетические механизмы ХИМ.
2. Факторами риска развития и прогрессирования ХИМ являются активация САС и РАС, нарушение мозгового кровообращения, развитие системной воспалительной реакции.
3. Ключевыми факторами патогенеза I стадии ХИМ являются пожилой возраст пациента, гиперреактивность АТ₁-рецептора и α_2 -адренорецептора, которые лежат в основе возникновения астеноневротического синдрома и тревожно-депрессивной симптоматики.
4. Прогрессирование от I к II стадии ХИМ проявляется гиперреактивностью Р2У-рецепторов, что позволяет использовать данный показатель для построения однофакторной модели прогнозирования риска II стадии заболевания. Взаимодействие Р2У-рецепторов, АТ₁-рецептора и α_2 -

адренорецептора связано с появлением когнитивных нарушений и тревожно-депрессивной симптоматики у больных с II стадией ХИМ.

5. Патогенез мнестико-интеллектуальных нарушений у пациентов с III стадией ХИМ связан с гиперреактивностью и взаимодействием пуриновых P2Y-рецепторов, АТ₁-рецептора, α_2 -адренорецептора, ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора. Установленные критические уровни активности данных рецепторов позволяют прогнозировать прогрессирование от II к III стадии ХИМ.

Степень достоверности полученных данных

Достоверность результатов, изложенных в диссертационной работе, базируется на использовании современных методов исследований, достаточном объеме материала, использовании методик адекватных поставленным задачам и применении современных методов статистического анализа. Положения, изложенные в диссертации, построены на достаточно изученных и проверяемых фактах, которые согласуются с опубликованными данными.

Апробация результатов исследования

Основные положения диссертационной работы представлены, обсуждены и получили положительную оценку на XXI международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина-человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 14 апреля 2018г.); научно-практической конференции «Бюллетень XVII чтений им. В.В. Подвысоцкого» (Одесса, 24-25 мая 2018г.); Первой научно-практической конференции «Механизмы развития патологических процессов и болезней и их

фармакологическая коррекция (Харьков, 18 октября 2018г.); III Национальном конгрессе кардионеврологии (Москва, 6-7 декабря 2018г.); Уральском окружном научно-практическом форуме с международным участием (Челябинск 23-24 апреля 2019г.); VIII Национальном конгрессе патофизиологов Украины (Одесса, 13-15 мая 2020г.); Международном медицинском форуме Донбасса «Наука побеждать... болезнь» (Донецк, 12-13- ноября 2020г.); 83 международном конгрессе молодых ученых «Актуальные проблемы теоретической и практической медицины» (Донецк, 20-21 мая 2021г.); VIII Национальном конгрессе патофизиологов Украины посвященном 120-летию Одесской патофизиологической школы (Одесса, 6-8 октября 2021г.); Всеукраинской научно-практической интернет конференции (Харьков, 6 октября 2021г.); Международном медицинском форуме Донбасса «Наука побеждать..... болезнь» (Донецк, 11-12 ноября 2021г.).

Личный вклад соискателя

Вклад соискателя в результаты диссертационной работы является основным и заключается в проведении лабораторных исследований, статистической обработке данных, написании всех разделов диссертации, формулировании выводов. Автором проведена статистическая обработка результатов исследования. Формулировка научной концепции исследования, определение цели и задач исследования, разработка методических подходов и выбор методов исследования, анализ и теоретическое обобщение результатов выполнены под руководством д.мед.н., профессора Барина Э.Ф. Клинико-неврологическое исследование выполнено совместно с доцентом кафедры неврологии и медицинской генетики к.мед.н. В. С. Сохиной. Диссертантом не были заимствованы результаты и идеи соавторов публикаций.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 19 научных работ, в том числе: восемь статей – в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК и 11 тезисов – в материалах конгрессов, форумов и конференций.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 196 страницах печатного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований, раздела анализ и обсуждение результатов исследования, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы, насчитывающего 290 наименований (из них 19 отечественных и 271 – зарубежных источников). Диссертация содержит 58 таблиц и иллюстрирована 13 рисунками.

.

ГЛАВА 1

ФАКТОРЫ РИСКА И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИХ УЧАСТИЯ В ПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ МОЗГА

1.1. Факторы риска хронического нарушения мозгового кровообращения

Прогноз развития цереброваскулярной патологии (ЦВП) остается одной из наиболее актуальных проблем неврологии, в связи с чем представляет интерес анализ предикторов ее формирования [39]. Применительно к хронической ишемии мозга (ХИМ) таковыми считаются артериальная гипертензия, церебральный атеросклероз, сахарный диабет, ожирение, системная воспалительная реакция, возраст и пол пациента. Однако, диагностическая значимость индикаторов, используемых для прогнозирования риска прогрессирования ЦВП оставляет желать лучшего [32].

Чтобы разобраться в причинах сложившейся ситуации необходимо выяснить, какие патогенетические механизмы альтерации структур мозга, развития неврологических и когнитивных нарушений лежат в основе действия конкретного фактора риска? Логично предположить, что такую информацию несут метаболические процессы, развивающиеся в мозге при гипоксии/ишемии, которые определяют трансформацию тяжести заболевания. Однако, приходится констатировать недостаточность теоретических знаний по патохимии и нейрофизиологии структур мозга при ЦВП.

Доказано участие пуринаргической, адренергической и ренин-ангиотензиновой систем (РАС) мозга, а также нейровоспаления и ремоделирования внеклеточного матрикса мозга (ВКМ) в моделировании функции эндотелия сосудов, нейронов и глиальных клеток при ХИМ [4]. Поскольку реактивность организма обеспечивается рецепторами на клетках-мишенях в разных тканях, то активность рецепторов на тромбоцитах (Тц) и

лейкоцитах может быть индикатором действия факторов риска на структуры мозга и позволит верифицировать конкретные патогенетические механизмы прогрессирования ХИМ.

1.2. Возможные патогенетические механизмы развития и прогрессирования хронической ишемии мозга

Традиционно считается, что в основе патогенетических механизмов ХИМ лежит уменьшение мозгового кровотока, нарушение микроциркуляции, дефицит энергетических субстратов, которые призваны обеспечивать нормальное функционирование нейронов мозга, глутаматный эксайтоксикоз, снижение синтеза NO, окислительный стресс, а также нарушение проницаемости ГЭБ [123, 288]. Снижение церебрального кровотока обусловлено как ремоделированием стенки сосудов при атеросклерозе, так и нарушением ауторегуляции мозгового кровообращения, связанным с миогенным, метаболическим и нейрогенным механизмами [205]. Важнейшим фактором нарушения ауторегуляции регионального кровотока может быть эндотелиальная дисфункция, которая сопровождается вазоконстрикцией и дефицитом перфузии участков мозга [244]. Ауторегуляция мозгового кровотока нарушается при резком изменении АД, гипоксии, гиперкапнии, а также гипергликемии [31].

Ключевую роль в патогенезе ХИМ отводят усилению активности ренин-ангиотензиновой (РАС) и симпатoadреналовой (САС) систем, которые могут провоцировать нарушение мозгового кровообращения [7]. Не менее значимым патогенетическим фактором может быть изменение нейромедиаторного обмена в ЦНС, обусловленное влиянием гормонов и биологически активных веществ [5]. В этом контексте упомянутые РАС и САС играют значимую роль, поскольку имеются доказательства их участия в модуляции функции нейронов,

глии и гемато-энцефалического барьера (ГЭБ) [9, 12, 13]. Можно предположить, что исследование активности ангиотензиновых AT1- и α_2 -адренергических рецепторов приблизит понимание молекулярных механизмов когнитивных и нейропсихологических нарушений у пациентов с ХИМ.

Адренорецепторы принимают участие в поддержании тонуса церебральных сосудов и ауторегуляции мозгового кровотока [196]. При этом НА снижает выработку цитокинов активированной микроглией, но усиливает экспрессию ЦОГ-2 и продукцию ПГЕ2. Катехоламины участвуют в ремоделировании стенки сосудов посредством стимуляции α_2 -адренорецепторов [201, 169]. Однако связь деградации коллагена IV типа в БМ сосудов при активации α_2 -адренорецептора у пациентов с ХИМ требует дополнительного изучения. Впервые [223] продемонстрировали, что адреналин активирует MMP-1 и потенцируют индуцированную экспрессию MMP-1 в моноцитах периферической крови и тканевых макрофагах. В последующем [268] подтвердили, что катехоламины модулируют активность MMP и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF).

Повышение экспрессии MMP-9 при стимуляции адренорецепторов может быть связано с активацией сигнального пути ERK / JNK-c-Fos [276]. Доказано повышение миграции нейтрофилов в периваскулярную ткань при активации САС [279]. В последнее время появилась информация, что стимуляция α_2 -адренорецепторов приводит к формированию противовоспалительного фенотипа микроглии [55]. В доклинических и клинических исследованиях показано, что высокоселективный агонист α_2 -адренергических рецепторов (Дексметомидин), обладает противовоспалительным и нейропротекторным действием [92]. Повышение экспрессии α_2 -адренорецепторов на астроцитах сопровождается реактивным глиозом и обеспечивает повышение экспрессии нейротрофического фактора мозга (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) [130].

Ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РААС) играет важную роль в регуляции концентрации натрия в плазме, внеклеточного объема, тканевой

перфузии и артериального давления [1]. RSSA активируется при снижении объема крови и / или артериального давления [40, 162]. Ренин высвобождается юкстагломерулярными клетками в почках в кровоток для расщепления ангиотензиногена, который синтезируется и секретируется печенью до ангиотензина I (Ang I), а затем превращается в ангиотензин II (Ang II) с помощью ангиотензин-превращающего фермента (ACE), расположенного в основном в легочных капиллярах и почечном эндотелии [184, 267]. Ang II индуцирует высвобождение альдостерона (ALD) из клубочковой зоны в коре надпочечников и в значительной степени отвечает за долгосрочную регуляцию артериального давления [27, 108, 184].

Исследования показали, что РААС регулирует физиологическую и патологическую деятельность мозга [106]. Многочисленные исследования показали, что Ang в центральном RAAS тесно связан с обучением и памятью [59, 92]. Исследование Кумарана и его коллег показало, что Ang II играет ключевую роль в гибели нервных клеток и потере памяти во время гипоперфузии головного мозга [135]. Следовательно, изменения РААС, вызванные хронической церебральной ишемией (ХИМ), и корреляция между ними и дисфункцией головного мозга нуждаются в дальнейшем изучении.

В настоящее время установлено, что, во-первых, Ан-2 повышает уровень асимметричного диметиларгинина (ADMA) в крови, который является эндогенным ингибитором синтазы оксида азота (eNOS) [232]. Во-вторых, Ан-2 стимулирует пролиферацию гладкомышечных клеток, которая является основной причиной ремоделирования сосудистого русла мозга [156]. Малоизученными являются эффекты активации РАС на фоне предсуществующей гипоксии/ишемии мозга. [Silpanisong J.](#) et al. [220] установили, что гипоксия может вызывать функциональное и структурное ремоделирование сосудистой стенки вследствие изменения экспрессии ядерных транскрипционных факторов, активности тирозинкиназных рецепторов (VEGF, PDGF, ангиопоэтины), а также – модуляции механизмов связанных с действием

трансформирующего фактора роста (TGF), оксида азота (NO), эндотелина, Ан-2, катехоламинов и пуринов.

В-третьих, Ан-2 является сильным стимулом для генерации активных форм кислорода (АФК) в стенке сосудов [164]. Эти соединения генерируются эндотелиальными и гладкомышечными клеткам, а также адвентициальными фибробластами. При гипертонии возникает избыток АФК, который не уравнивается эндогенными антиоксидантными механизмами, что приводит к состоянию окислительного стресса. В четвертых, Ан-2 повышает проницаемость эндотелия, который является структурным элементом ГЭБ [99]. У пациентов с цереброваскулярными расстройствами при нарушении функционирования ГЭБ, уровень Ан-2 был повышенным.

Исследования на культуре эндотелиальных клеток головного мозга человека показали, что влияние Ан-2 на проницаемость эндотелия связано с нарушением мембранного распределения белков межклеточных контактов ZO-1 и VE-Cad, снижением экспрессии белков JAM-A, Mfsd2a и увеличением – Cav1 [97]. В пятых, Ан-2 вызывает значительный подъем провоспалительных цитокинов [77]. Как микроглиальные, так и астроглиальные клетки посредством множества различных механизмов способствуют провоспалительным событиям и образованию АФК в головном мозге. Доказано, что Ан-2 стимулирует пролиферацию астроцитов [182] и секрецию ими нейровоспалительных медиаторов [180].

Логично, что РАС с учетом ее роли в развитии АГ, нейровоспалении, индукции окислительного стресса, снижении мозгового кровотока, ремоделировании сосудистой стенки, нарушении консолидации и восстановления памяти вызывает значительный интерес в контексте анализа возможных механизмов прогрессирования ХИМ [260].

Известно, что пуринергическая система мозга контролирует многочисленные физиологические функции эндотелия сосудов, нейронов и глиальных клеток, а нарушение функциональной активности пуриновых P2-рецепторов проявляется при разных патологиях [8, 9]. Так, АТФ является

мощной сигнальной молекулой, распространенной в ЦНС, которая вызывает широкий спектр физиологических эффектов; рассматривается как филогенетически самый древний эпигенетический фактор, играющий важную роль в функционировании нервной ткани [10]. Потенциальными источниками внеклеточных пуринов в нервной системе являются нейроны, глия, эндотелий стенки сосудов и клетки крови [11]. Сложное семейство эктоферментов быстро гидролизует или трансформирует внеклеточные нуклеотиды, тем самым либо прекращая их сигнальное действие, либо продуцируя активный метаболит с измененной селективностью к пуриноцепторам. АТФ высвобождается во внеклеточное пространство экзоцитозом через открытые мембранные каналы или из поврежденных клеток [10].

АТФ часто секретируется вместе с другими нейротрансмиттерами и может взаимодействовать с факторами роста на уровне рецепторов и/или в процессе внутриклеточной сигнализации. Спектр воспроизводимых биологических эффектов АТФ представлен его участием в нейротрансмиссии, вазодилатации, иммунных реакциях и ноцицепции [12, 134]. Оказавшись во внеклеточной среде, АТФ связывается со специфическими пуриновыми P2-рецепторами. На основе воспроизводимых фармакологических эффектов, анализа внутриклеточных сигнальных путей и молекулярного клонирования выделены 2 основных типа пуриновых рецепторов с несколькими подтипами: P2X-рецепторы, или быстрые катион-селективные рецепторные каналы (Ca^{2+} , Na^{+} , K^{+}), обладающие низким сродством к АТФ, которые являются ответственными за быструю возбуждающую нейротрансмиссию; P2Y-рецепторы, т.е. медленные связанные с G-белком метаботропные рецепторы, обладающие более высоким сродством к лиганду. В нервной системе пуриновые P2-рецепторы экспрессированы в нейронах, глиальных клетках и могут опосредовать двойные эффекты: кратковременные (нейротрансмиссия) и долгосрочные, такие как трофическое действие.

Активация P2-рецептора рассматривается как причина или следствие стимуляции и гибели нейронов, а также реактивности глии [14]. Связь

изменений экспрессии P2-рецепторов и специфического ответа клеток на повреждение чрезвычайно сложна, может быть связана как с патогенетическими, так и/или с компенсаторными механизмами. Так как массивное внеклеточное высвобождение АТФ часто происходит после метаболического стресса, ишемии и травмы головного мозга, то пуринергические механизмы участвуют в этиопатологии многих нейродегенеративных заболеваний [157].

Внеклеточный АТФ сам по себе является токсичным для первичных диссоциированных и органотипических культур нейронов ЦНС, а P2-рецепторы могут опосредовать и усугублять гипоксическую передачу сигналов во многих нейронах ЦНС. И наоборот, некоторые антагонисты P2-рецепторов предотвращают гибель клеток первичных нейрональных культур, подвергшихся чрезмерному воздействию глутамата, калиевой депривации, гипогликемии и гипоксии [162].

Установлено, что АТФ действует как первичный сигнал активации воспаления, который связан с молекулярными фрагментами, ассоциированными с повреждением (damage-associated molecular pattern, DAMP) [17]. Еще более важно, что внеклеточный АТФ является ключевым активатором вторичного сигнала воспаления, при этом связывание пуринергического рецептора запускает сборку мультипротеинового инфламмасомного комплекса. Первичный сигнал воспаления и образование инфламмасы способствуют активации каспаз и высвобождению провоспалительных цитокинов, включая интерлейкин (ИЛ)-1 β , фактор некроза опухоли (ФНО)- α , ИЛ-18 и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF). Вероятно, пуринергическая активация NLRP3 (NOD-like receptor protein-3) инфламмасы, который связан с воспалительными реакциями, может быть механизмом, посредством которого открытие гемиканала коннексина опосредует повреждение головного мозга. Таким образом, внеклеточный АТФ играет сложную роль в восстановлении, ремоделировании и выживании клеток нервной системы при острых и хронических заболеваниях ЦНС.

В настоящее время блокада рецепторов P2X7 рассматривается как новый вариант лечения, направленный на снижение повреждения головного мозга после церебральной ишемии и стимуляцию пролиферации и созревания незрелых резидентных клеток глии, которые могут способствовать восстановлению головного мозга [180]. Лиганд АДФ и P2Y-нуклеотидные рецепторы также контролируют многочисленные функции нейронов и глиальных клеток [196]. Рецепторы P2Y связаны с G-белком (GPCR); существует 8 подтипов P2Y-рецепторов (P2Y1, P2Y2, P2Y4, P2Y6, P2Y11, P2Y12, P2Y13 и P2Y14). Подтипы рецепторов P2Y сильно различаются как по аминокислотной последовательности, так и по фармакологическому профилю. Рецепторы P2Y представлены на гладких миоцитах сосудов, при их активации уменьшается просвет мелких артерий [202, 218]. С увеличением возраста пациента количество P2Y6-рецепторов возрастает [22].

Повышенная плотность P2Y6-рецепторов трансформировала передачу сигнала, вызванного ангиотензином в гладкомышечных клетках сосудов, от β -аррестин-зависимой пролиферации к G-белок-зависимой гипертрофии. Недавние исследования [237] продемонстрировали наличие лиганд-независимой функции P2Y-рецептора через рецептор-рецепторное взаимодействие. Эти результаты позволяют предположить, что повышенное образование гетеродимера, включающего ангиотензиновый рецептор 1-го типа (AT1-рецептор) — пуриновый P2Y6-рецептор, может увеличить вероятность артериальной гипертензии, вызванной ангиотензином-2 у лиц пожилого возраста. В ЦНС нуклеотиды модулируют активность нейронов и рост отростков путем активации P2Y1-рецепторов, миграцию микроглии посредством P2Y12-рецепторов, микроглиальный фагоцитоз при стимуляции P2Y6-рецепторов [245, 258]. Считается, что P2Y2-рецептор играет важную роль в нейропротекции при воспалении.

В то время как острое воспаление необходимо для восстановления тканей после травмы, хронический воспалительный процесс способствует нейродегенерации и возникает, когда глиальные клетки подвергаются длительной активации, что приводит к высвобождению провоспалительных цитокинов и нуклеотидов. Еще один P2Y-подобный рецептор, связанный с G-белком, — рецептор 17 (GPR17, G protein-coupled receptor 17) — предложен в качестве индикатора повреждения при ишемическом инсульте [268]. Установлено, что в зоне ишемии мозга уровни мРНК и белка GPR17 повышались через 12—24 ч и за 7—14 дней; тогда как в пограничной зоне уровень GPR17 увеличивался только через 7—14 дней после реперфузии. Таким образом, пространственно-временной паттерн экспрессии GPR17 хорошо отражал острую и поздние (подострую/хроническую) реакции в ишемизированном мозге.

Интерес к данному рецептору также связан с попытками разработки эффективного метода восстановления миелиновой оболочки аксона. Демиелинизация, сопровождающаяся неврологическим дефицитом, часто наблюдается при нейродегенеративных заболеваниях. Подходы, направленные на восстановление целостности миелина и обеспечение корректной функции олигодендроцитов, в настоящее время рассматриваются как новые терапевтические возможности при нейродегенеративных и психоневрологических заболеваниях. Важные для терапевтических целей клетки-предшественники олигодендроцитов (OPCs) сохраняются в ЦНС взрослого человека.

Эти клетки обычно неактивны, но при определенных обстоятельствах их можно стимулировать, что сопровождается их дифференцировкой и образованием олигодендроцитов. Клетки-предшественники и зрелые олигодендроциты экспрессируют пуринергические рецепторы [271]. Для некоторых рецепторов экспрессия ограничена на определенных стадиях развития глии, что указывает на их ключевую роль в дифференцировке и миелинизации. Активность пуринергических рецепторов изменяется при

демиелинизации; в связи с чем можно предположить их участие в разрушении аксонов нейронов, соответственно данные рецепторы представляют собой новые цели для разработки ремиелинизирующей терапии.

Особое внимание привлекает как раз P2Y-подобный рецептор GPR17, который представляет собой один из наиболее изученных подтипов рецепторов в олигодендроцитах. Доказано участие пуриновых P2Y-рецепторов в процессе нейrogenеза [288]. В то время как в процессе эмбриогенеза происходит интенсивная пролиферативная активность нейробластов во всех областях головного мозга, нейrogenез у взрослых происходит с меньшей интенсивностью в двух областях мозга и направлен на локальную репарацию и сохранение когнитивных функций.

Хотя эмбриональный и взрослый нейrogenезы имеют ряд отличий, внутриклеточная сигнализация через пуринергические рецепторы участвует в этом процессе на протяжении всей жизни. Причем эмбриональный нейrogenез включает ингибирование активности P2X7-рецептора и ограничение потока ионов Ca^{2+} , тогда как нейrogenез у взрослых индивидуумов может быть усилен за счет повышенной активности аденозинового A2A-рецептора и P2Y1-рецептора и нарушен стимуляцией рецепторов аденозинового A1-рецептора, P2Y13 и P2X7. Аденозин является продуктом ферментативного распада экстра- и внутриклеточных нуклеотидов аденина, а также S-аденозилгомоцистеина. В сосудистой системе обнаружены 4 подтипа рецепторов аденозина — A1, A2A, A2B и A3 [29], которые участвуют в регуляции тонуса сосудов, воспаления и иммунных реакций, тромбоза и ангиогенеза [30—32]. Аденозин высвобождается при гипоксии/ ишемии мозга для усиления кровотока; эффект осуществляется через рецепторы A2A и A2B, которые экспрессированы на эндотелии и гладких миоцитах [170]. Вазодилатация связана как с синтезом NO, так и со взаимодействием между подтипом A2A-рецепторов и потенциал-зависимыми калиевыми каналами (Kv, SarcKATP и MitoKATP) в гладких миоцитах стенки сосудов [234]. Имеющиеся в литературе данные свидетельствуют, что этот нуклеозид оказывает выраженное

нейропротекторное действие через A1-рецептор при ишемии мозга, однако применение селективных агонистов данного рецептора затрудняется нежелательными периферическими эффектами.

Также установлено, что антагонисты A2A-рецепторов обеспечивают защиту мозга путем снижения эксайтотоксичности, в то время как агонисты A2A- и A3-рецепторов (возможно, и A2B-рецепторов) обеспечивают защиту путем ограничения массивной лейкоцитарной инфильтрации и развития нейровоспаления в первые часы и дни после ишемии головного мозга.

Критическую роль в развитии воспалительной реакции играет повышение внеклеточных концентраций АТФ, АДФ и аденозина в мозге [247]. Хроническое нейровоспаление признано преобладающим механизмом прогрессирования вторичного повреждения головного мозга, основная задача которого заключается в ограничении зоны альтерации и репарации нервной ткани.

При этом пуринергическая активация инфламмосомы, сопровождающаяся высвобождением провоспалительных цитокинов, активацией и миграцией микроглии, изменением функции астроглии, является ключевым регулятором нейровоспалительного ответа.

Известно, что внеклеточный АТФ может действовать в течение нескольких минут как эксайтотоксическая молекула, а в более длительные сроки (дни) вызывает нейровоспаление [111, 198]. В то же время имеются сообщения, что нуклеотиды могут способствовать вы- S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry, 2020, vol. 120, no 10 121 Обзоры Reviews живанию различных глиальных клеток и нейрональных модулей [264]. В данном контексте стимуляция пуринергических рецепторов может рассматриваться как триггер защитных механизмов, направленных на противодействие проапоптозным событиям, таким как нарушение функции митохондрий, окислительный стресс и повреждение ДНК. Однако вопросы о том, какие клетки глии и посредством каких рецепторов контролируют стадии нейровоспаления (инициация, распространение альтерации и регенерация),

остаются невыясненными. Микроглия рассматривается как первая линия защиты врожденного иммунного ответа мозга на инфекцию, травму и нейродегенеративные процессы [273].

Накопленные данные свидетельствуют, что активированная микроглия не только способствует заживлению нервной ткани, но и может вызывать вторичное повреждение структур мозга, связанное с продукцией цитокинов и хемокинов, вызывающих рекрутирование моноцитов, дендритных клеток и Т-лимфоцитов [275]. Пуринергическая система является одной из фундаментальных сигнальных систем, которая устанавливает поведение микроглии в широком спектре условий [278]. В связи с этим представляют интерес процессы, связанные с высвобождением АТФ из микроглии, деградацией нуклеотидов и функционированием сигнальных систем, опосредованных активацией P2-рецепторов.

Вполне вероятно, что несколько сигнальных систем функционируют в условиях конкуренции и/или синергии, регулируя функции микроглии. Так, показано [281], что: а) рецепторы спинного рога P2Y₁₂ и P2Y₁₃ участвуют в развитии поведения, вызванного повреждением периферического нерва; б) АДФ индуцировал повышенную экспрессию мРНК ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α в культивированной микроглии спинного мозга; эффекты частично отменялись антагонистом рецептора P2Y₁₂ (MRS2395) или антагонистом рецептора P2Y₁₃ (MRS2211).

Дополнительные исследования установили, что вызванное рецепторами P2Y₁₂ и P2Y₁₃ повышение экспрессии генов цитокинов устранялось ингибиторами киназы ROCK (Y-27632), P38MAPK (SB203580) и ядерного фактора NF- κ b (PDTC). Приведенные факты подтверждают, что экспрессия генов, вызванных рецепторами P2Y₁₂ и P2Y₁₃, а также высвобождение ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α связаны с сигнальным путем ROCK/P38MAPK/NF- κ b. P. Swiatkowski и соавт. [236] приводят доказательства, что активация пуринергических рецепторов, в частности P2Y₁₂-рецептора в микроглии, вовлечена в хемотаксис в направлении повышенной концентрации АТФ,

который высвобождается поврежденными нейронами и астроцитами. Активация данного рецептора вызывает ток ионов K^+ наружу, что связано с хемотаксисом микроглии в ответ на повреждение. Таким образом, калиевые каналы являются функциональными эффекторами передачи сигналов с P2Y₁₂-рецептора при активации микроглии. Мало известно о роли P2Y₁₃-рецептора, который является вторым наиболее значимым рецептором для нейротрансмиттеров в микроглии [223].

Экспериментальные исследования показали, что P2Y₁₃-рецептор потенцирует P2Y₁₂-зависимый механизм хемотаксиса микроглии; при отсутствии P2Y₁₃-рецептора высвобождение ИЛ-1 β увеличивалось в 5 раз, т.е. данные рецепторы могут ограничивать провоспалительную активацию микроглии. Обсуждается взаимодействие метаботропных рецепторов P2Y₁ и P2Y₁₃, и ионотропных рецепторов P2X₇ в связи с поддержанием баланса между выживанием и апоптозом клеток нервной ткани [197]. Поддержание клеточного гомеостаза связано с функционированием сигнального пути Ca^{2+} /фосфолипаза C-фосфоинозитол-3-киназа (PI3K)/Akt/киназа GSK3 и MAPK-каскад, обеспечивающих экспрессию антиоксидантных и антиапоптотических генов.

Патологические стимулы, вызывающие повреждение нейронов, сопровождаются трансформацией, покоящейся микроглии. Клетки микроглии проявляют два режима подвижности: при первом глиальные клетки постоянно увеличивают и убирают свои отростки для исследования констант гомеостаза мозга, при втором формируются целевые отростки, обеспечивающие изоляцию зоны повреждения нервной ткани [191]. Исследование механизмов подвижности микроглии позволило [174] установить, что: а) глутамат индуцирует движение микроглии в направлении поврежденных нейронов; процесс включает активацию нейрональных NMDA-рецепторов, вход ионов Ca^{2+} и высвобождение АТФ, который стимулирует P2Y₁₂-рецепторы; б) ингибирование функции калиевого канала (ТН1К-1) фармакологически или путем выключения генов деполяризует микроглию, что уменьшает

разветвление ее отростков и тем самым ограничивает ее реактивность. Блокада K^+ -канала уменьшает высвобождение провоспалительного цитокина ИЛ-1 β из активированной микроглии, что согласуется с потерей ионов K^+ , необходимых для сборки инфламмасомы.

Таким образом, микроглиальный иммунный надзор и высвобождение цитокинов требуют активности K^+ -канала. Контроль фагоцитоза микроглии связывают с активацией разных подтипов P2Y-рецепторов. Так, обнаружено [155], что данный процесс связан с увеличением экспрессии белка P2Y6-рецептора; селективный антагонист рецептора P2Y6 (MRS2578) подавлял фагоцитоз микроглии, усиливал апоптоз нейронов и демиелинизацию. Процесс активации фагоцитоза связан с повышением уровня экспрессии белка для фосфорилированного Rac1 (Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1) и киназы MLCK (myosin light chain kinase). Ингибитор Rac1 (NSC23766) подавлял экспрессию MLCK, тем самым подтверждается гипотеза, что путь Rac1—MLCK участвует в фагоцитозе микроглии, а рецептор P2Y6 играет критическую роль в обеспечении микроглиального фагоцитоза и может быть потенциальной мишенью для разработки фармакологических методов ограничения поражения головного мозга. Механизмы пуринергической стимуляции микроглии при развитии воспаления описаны [46].

Ключевую роль играет белок NLRP3-инфламмасомы, который транслирует сигналы от патогенов и поврежденных тканей в воспалительные реакции и играет решающую роль при многочисленных неврологических заболеваниях. Активация NLRP3-инфламмасомы приводит к каспазо-1-зависимому расщеплению про-ИЛ-1 β с образованием активной молекулы ИЛ-1 β . Действуя на пуринергический рецептор P2X7, внеклеточный АТФ является одним из основных стимулов, который активирует NLRP3-инфламмасому. Хотя микроглия экспрессирует несколько пуринергических рецепторов, их роль в воспалении остается неизвестной. Блокада рецептора P2Y12 микроглии (PSB0739) подавляла высвобождение ИЛ-1 β . Микроглия с дефицитом рецептора P2Y12 демонстрировала заметно ослабленную экспрессию и

высвобождение мРНК ИЛ-1 β . Блокада рецептора P2Y₁₂ также подавляла продукцию ИЛ-6. Ответы на ИЛ-1 β и ИЛ-6 усиливались внеклеточным АДФ или 122 Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова, 2020, т. 120, № 10 Обзоры Reviews лигандом АДФ- β S и отменялись антагонистом P2Y₁₂-рецептора. АДФ через рецептор P2Y₁₂ потенцировал активацию NF- κ B; изменял потенциал митохондриальной мембраны и уровень АТФ, а также увеличивал количество каспазо-1-позитивных клеток [236]. Эти результаты демонстрируют наличие воспалительного механизма, с помощью которого внеклеточный АДФ воздействует на рецептор P2Y₁₂, активируя NF- κ B и NLRP3-инфламмасому, чтобы усилить участие микроглии в воспалении. Подтверждается участие пуринергических механизмов в астроглиозе, вызванном повреждением ЦНС при гипоксии/ишемии.

Активация подтипов пуриновых рецепторов P2X₇ и P2Y_{1,2}, выявленных в астроцитах, инициирует глиоз, целью которого является ограничение поврежденных участков мозга, синтез нейротрофинов и плеотрофинов, обеспечивающих восстановление нейронов [11]. При стимуляции P2Y₁-рецептора развивается астроцитарная гиперактивность, которая является важным фактором дисфункции системы нейрон—глиальная сеть [127].

Длительная инфузия ингибитора P2Y₁-рецептора в желудочек мозга мышей устраняет астроглиальную и нейрональную дисфункцию, увеличивает структурную целостность синапсов и сохраняет долгосрочное потенцирование нейронов. Предполагается, что ингибирование P2Y₁-рецептора открывает возможности восстановления гомеостаза нейронных ансамблей мозга при болезни Альцгеймера [233].

Пуринергический механизм астроглиоза подтвержден [39]. Установлено, что в астроцитах белок Lrp4 (low-density lipoprotein receptor-related protein 4) регулирует глутаматергическую нейротрансмиссию путем подавления высвобождения АТФ. У мышей с генетическим дефицитом Lrp4 в астроцитах при ишемическом повреждении головного мозга наблюдали снижение гибели нейронов и реактивного астроглиоза. Эффект связан с повышенным

высвобождением АТФ во внеклеточное пространство и активацией аденозинозинового А₂-рецептора. В культуре астроцитов АДФ увеличивал пролиферацию клеток посредством активации рецепторов P2Y₁ и P2Y₁₂; однако эффект пропадает при совместной инкубации астроцитов с микроглией [51].

Предварительные результаты показали, что рецепторы P2Y₁₃ слабо экспрессируются в астроцитах и в основном представлены в микроглии. Вероятно, активация микроглиальных рецепторов P2Y₁₂ и P2Y₁₃ индуцирует высвобождение мессенджеров, которые ингибируют астроглиальную пролиферацию, опосредованную рецепторами P2Y_{1,12}. Антитела к ИЛ-1 β ослабляли пролиферативный эффект АДФ в культуре астроцитов. Следовательно, астроглиальная пролиферация контролируется микроглией при активации рецепторов P2Y-12,13; эффект основан на подавлении секреции цитокинов. Таким образом, в нервной системе пуринаргические P2-рецепторы экспрессированы на нейронах, глиальных клетках и эндотелии сосудов.

Нуклеотиды (АТФ, АДФ) модулируют активность нейронов, рост и демиелинизацию их отростков, миграцию и фагоцитоз микроглии, тогда как нуклеозид (аденозин) участвует в регуляции тонуса сосудов, тромбозе и ангиогенезе, воспалении и иммунных реакциях. Хроническое нейровоспаление считается основным механизмом прогрессирования вторичного повреждения головного мозга [231]. При этом пуринаргическая активация инфламмы, сопровождающаяся высвобождением провоспалительных цитокинов, активацией микроглии и астроглии, является ключевым регулятором нейровоспалительного ответа. Связь изменений экспрессии P2-рецепторов и специфического ответа клеток на повреждение чрезвычайно сложная и может быть связана как с патогенетическими, так и с компенсаторными механизмами, направленными на противодействие апоптозу и другим событиям в мозге. Приведенные данные позволяют рассматривать возможность активации пуринаргической системы мозга при действии основных факторов риска развития ЦВП (возраст, артериальная гипертензия, сахарный диабет) как

стереотипный механизм, способный изменить гомеостаз ансамбля «нейрон—глия—капилляр». Пуринергические P2-рецепторы могут быть потенциальной мишенью для фармакологических методов ограничения прогрессирования цереброваскулярной патологии.

Нейровоспаление является одним из важных этиологических факторов ЦВЗ и нейропсихопатических расстройств. В этой связи, участие активированных лейкоцитов в патогенезе ХИМ представляется логичным, поскольку повышение уровня в крови растворимого коллагена IV типа и последующая гиперактивация GP-VI-рецептора отражает деградацию БМ сосудов (как компартмента ВКМ мозга), что сопровождается повышением проницаемости стенки капилляров, в том числе входящих в состав ГЭБ [25]. Факты, подтверждающие участие активированных лейкоцитов в патогенезе нейровоспаления представлены ниже.

Во-первых, внеклеточные нуклеотиды признаны важными медиаторами активации лейкоцитов, инициирующими множественные ответы через P2X-ионотропные рецепторы и метаботропные G-белок-связанные P2Y-рецепторы [203]. При этом стимулированные лейкоциты секретируют ММР, вызывающие деградацию БМ стенки сосудов [155]. Во-вторых, ФАТ является мощным провоспалительным липидным медиатором, который играет ключевую роль в нейровоспалительных нарушениях [141]. В-третьих, ФАТ, независимо от клеточной секреции, может модулировать синапсы ЦНС следствием чего могут быть когнитивные нарушения [109]. В-четвертых, установлено [114], что ФАТ: (а) уменьшал экспрессию ZO-1-белка, связанного с плотным межклеточным соединением, увеличивал количество F-актиновых волокон, следствием чего было появление щелей между эндотелиальными клетками; (б) снижал электрическое сопротивление эндотелиального монослоя, что свидетельствует о нарушении барьерной функции эндотелия и увеличении проницаемости ГЭБ.

Интерес к ремоделированию (синтезу и деградации) молекул ВКМ при ХИМ связан с их участием в функционировании синапсов нейронов и глии,

поддержанием функции ГЭБ. Известно [224], что при гипоксии/ишемии ремоделирование белков матрикса связано с цереброваскулярным воспалением, проявляется повышением экспрессии фибронектина и коллагена IV типа в эндотелии сосудов. При этом в эндотелии и периваскулярных астроцитах возрастала активность киназы, связанной с рецептором IL-1 β (increased IL-1 receptor associated kinase-1, IRAK-1) и повышался синтез цитокин-индуцированного хемоаттрактанта нейтрофилов (CINC-1). Выявлена связь проницаемости ГЭБ с продукцией провоспалительного цитокина ИЛ-1 β [134].

Эти данные свидетельствуют, что ИЛ-1 β -индуцированное воспаление дестабилизирует плотные соединения между эндотелием, как следствие повышается проницаемость ГЭБ, возрастает миграция лейкоцитов и накопление иммунных клеток в мозге. Связанные с ЦНС макрофаги участвуют в рекрутировании предшественников микроглии, гранулоцитов, способствуют экспрессии VEGF, увеличивают проницаемость сосудов мягкой оболочки и ГЭБ [211]. Ишемия вызывает перепрограммирование профиля экспрессии генов макрофагов, что оказывает быстрое влияние на хемотаксис лейкоцитов и целостность ГЭБ. Оказалось, что уменьшение инвазии моноцитов приводило к увеличению пролиферации астроцитов, при этом уменьшалось количество ферментов, синтезирующих внеклеточный матрикс [92]. Логическую связь ремоделирования ВКМ мозга с системной воспалительной реакцией и развитием нейровоспаления предложили Dzyubenko E. с соавт. [148]. Большинство исследователей склоняются к мысли, что деградация белков ВКМ и повышение проницаемости ГЭБ связаны с активацией ММР [111]. ММР представляют собой суперсемейство структурно связанных цинк-зависимых эндопептидаз, которые синтезируются микроглией и нейронами, Тц, лейкоцитами и эндотелием при нейровоспалении [152].

1.3. Хроническая ишемия мозга: классификация, диагностика, клиника

ХИМ проявляется комплексом неврологических и нейропсихологических нарушений. Длительное время цереброваскулярная патология развивается субклинически. Первыми проявлениями заболевания является астеническая симптоматика, вегетативные нарушения и депрессия. В дальнейшем для клинической картины ХИМ характерно появление очаговой симптоматики. Одним из клинических проявлений ХИМ являются когнитивные нарушения, которые могут прогрессировать до степени деменции. Когнитивные нарушения служат одним из критериев диагностики ХИМ [143].

Наиболее универсальный механизм развития когнитивных нарушений - разъединение корковых (прежде всего лобных) и подкорковых структур за счет повреждения проводящих путей в белом веществе мозга. Возникающая при этом дисфункция лобно-подкорковых связей, обеспечивающих двигательные и психические функции, может быть причиной основных клинических проявлений ХИМ [170].

Выделяют несколько основных вариантов хронического нарушения мозгового кровообращения [113]: (1) гипертоническая дисциркуляторная энцефалопатия: (а) субкортикальная артериосклеротическая энцефалопатия; (б) гипертоническая мультиинфарктная энцефалопатия; атеросклеротическая энцефалопатия; (3) хроническая сосудистая вертебрально-базилярная недостаточность и (4) смешанные формы. Считается, что развитие гипертонической дисциркуляторной энцефалопатии связано с резкими колебаниями АД [65]. При этом АД способствует развитию хронической гипоксии белого вещества и разрушению миелина, отеку периваскулярных пространств и гидроцефалии. В конечном итоге указанные события приводят к подкорковой атеросклеротической энцефалопатии (болезни Бинсвангера), которая сопровождается выраженными когнитивными расстройствами [90].

При нейровизуализационных исследованиях (КТ или МРТ) выявляется: снижение плотности перивентрикулярной зоны белого вещества - так называемый лейкоареоз; наличие лакунарных инфарктов в белом веществе и подкорковых ядрах, реже в варолиевом мосту и мозжечке; расширение желудочков; умеренное расширение субарахноидального пространства.

Атеросклеротическая энцефалопатия характеризуется комплексом диффузных и очаговых изменений, связанных с уменьшением мозгового кровотока. У пациентов определяется умеренное снижение когнитивных функций (редко достигается степень деменции), преобладание различных очаговых нарушений корковых функций (афазия, алексия, аграфия, апраксия, пространственная агнозия), наблюдаются эмоционально-волевые нарушения. На томограммах выявляется расширение субарахноидальных пространств, мелкие инфаркты в глубоких отделах полушарий (часто клинически «немые»), а также в мозжечке и мосту.

Удельный вес хронической сосудистой вертебрально-базилярной недостаточности среди всех нарушений мозгового кровообращения, составляет 25-30% и около 70% от транзиторных ишемических атак [54]. В 65% случаев заболевание связано с вертеброгенной компрессией экстракраниальных отделов позвоночных артерий. Причиной заболевания могут быть атеросклеротические стенозы позвоночных артерий, их деформация, врожденная гипоплазия. Клиническая картина заболевания характеризуется частыми приступами головокружений, которые сопровождаются тошнотой; шаткостью походки (связано с транзиторной ишемией мозжечковых структур); снижением слуха, шумом в ушах транзиторной диплопией; внезапным падением без потери сознания - дроп-атаки (ишемия ретикулярной формации). При МРТ головного мозга могут быть обнаружены небольшие очаги в стволе мозга и мозжечке [225]. Стоит отметить, что локализация и степень сосудистых изменений, которые диагностируются с помощью МРТ и дуплексного сканирования сосудов головы и шеи, только частично соотносятся с наличием, типом и выраженностью нейропсихологических нарушений.

Особого внимания заслуживает изучение начальных проявлений ХИМ, поскольку именно в этом периоде болезни возможно достичь наибольшего эффекта при проведении лечебно-профилактических мероприятий, направленных на нейропротекцию мозга и сдерживание развития сосудистых осложнений [32].

1.4. Тромбоциты как связующее звено между мозгом и кровью при хронической ишемии мозга

Тромбоциты представляют собой маленькие безъядерные форменные элементы крови, которые получили признание в качестве важных медиаторов нескольких регуляторных процессов. Новые исследования выявили новые функции, которые выходят далеко за рамки традиционной роли тромбоцитов в гемостазе и закрытии ран, показывая, что они играют решающую роль в иммунных реакциях и процессах ремоделирования тканей. Были получены данные, подчеркивающие способность тромбоцитов вносить вклад в гомеостаз головного мозга в физиологических условиях [65]. В то время как их универсальные функции делают тромбоциты важными регуляторами клеточных процессов в нормальных условиях, дисфункция тромбоцитов связана с рядом патологий, включая ЦВП.

Активация тромбоцитов необходима для выполнения определенных функций; однако результат зависит от триггера, который инициирует активацию. Наиболее распространенные реакции тромбоцитов на активирующие стимулы включают изменение формы, активацию молекул клеточной адгезии, синтез белка из мРНК, эндо- и экзоцитоз и высвобождение молекул из содержимого гранул [80]. В частности, контекстно-зависимая секреция из α -гранул, которые обеспечивают хранилище большого количества

биоактивных молекул, включая факторы роста и свертывания крови, хемокины, иммунные молекулы и молекулы адгезии, строго регулируется.

Следовательно, стимуляция препаратов тромбоцитов тремя распространенными агонистами, аденозиндифосфатом, коллагеном и пептидом, активирующим рецептор тромбина, приводит к различным профилям секреции белка. В другом исследовании было показано, что существуют субпопуляции α -гранул, в которых белки хранятся в отдельных кластерах, таких как кластеры про- или антиангиогенных белков.

Избирательное высвобождение этих подтипов гранул было вызвано стимуляцией различных рецепторов специфическими агонистами, что указывает на то, что груз α -гранул секретируется контекстно-зависимым образом, чтобы либо ингибировать, либо стимулировать ангиогенез по мере необходимости [100, 282]. Точно настроенные механизмы, с помощью которых биоактивные молекулы высвобождаются из тромбоцитов, представляют собой важнейшее преимущество в управлении регуляторными процессами в различных тканях. Однако нарушения регуляции реакции тромбоцитов или гиперактивация тромбоцитов имеют значение при многих заболеваниях, в том числе при ХИМ [116, 125].

Тромбоциты могут взаимодействовать с другими типами клеток несколькими способами, с их гибкостью и механистическим разнообразием, предполагающим, что они, вероятно, действуют как межтканевые мессенджеры, в том числе между клетками крови и мозга [138, 151]. Хотя секреция биоактивных молекул из α - и плотных гранул представляет собой вероятный путь межклеточной коммуникации, возможны дополнительные механизмы, с помощью которых тромбоциты могут поддерживать взаимодействие между мозгом и кровью. Тромбоциты выделяют внеклеточные везикулы, содержащие активные компоненты цитоплазмы, такие как экзосомы и микрочастицы. Оба представляют общие пути межклеточной связи между органами и тканями в норме и при патологии. Экзосомы и микрочастицы тромбоцитов также могут содержать микроРНК, которые при нарушении

регуляции участвуют в различных нейродегенеративных заболеваниях, включая AD, PD, MS, HD и ALS [157, 169]. Более того, высвобождаемые тромбоцитами частицы, а также сами тромбоциты диаметром $\sim 0,5$ мкм у мышей [188, 200] и от 1 до 5 мкм у людей [202, 227], достаточно малы, чтобы проникать глубоко в микрокапилляры, охватывающие мозг. Таким образом, тромбоциты и высвобождаемые ими факторы могут взаимодействовать со специфическими рецепторами в сосудах головного мозга, оказывая локальные рецептор-опосредованные эффекты.

В условиях, когда целостность сосудов изменена или нарушена, возможны прямые взаимодействия с нервными клетками. Активность тромбоцитов наблюдалась в паренхиме головного мозга после поражения [254] и инсульта, а также в мозге мышей, индуцированных экспериментальным аутоиммунным энцефаломиелитом [175]. Кроме того, сообщалось о прямом взаимодействии между тромбоцитами и нервными клетками, поскольку они могут связывать специфичные для центральной нервной системы гликолипидные структуры, присутствующие в липидных рафтах нейрональных отростков [278, 288].

Недавно было показано, что это взаимодействие стимулирует рост новых дендритных шипиков [268]. Предлагаемые механизмы, с помощью которых тромбоциты взаимодействуют с нервными клетками, обсуждались более подробно в другом месте; однако эти механизмы могут также влиять на свойства нервных клеток при нейродегенеративных состояниях. Более того, как показано ниже, тромбоциты обладают нейроноподобными свойствами, которые еще больше облегчают взаимодействие между этими клетками и центральной нервной системой.

Несмотря на разное расположение и функции, тромбоциты и нервные клетки удивительно похожи, что указывает на потенциальный путь перекрестной связи между системной средой и мозгом. В частности, межклеточные хранилища в нейронах, которые содержат нейропептиды, нейрогормоны и нейротрансмиттеры, сравнимы с гранулами тромбоцитов,

включая использование сходных механизмов переноса везикул. Плотные гранулы тромбоцитов напоминают маленькие синаптические везикулы нейронов с плотным ядром с точки зрения содержания в них серотонина и аденозинтрифосфата, среди прочего, тогда как большие везикулы нейронов с плотным ядром сравнимы с α -гранулами тромбоцитов.

Оба отсека хранения несут большое количество биоактивных пептидов, и процессы секреции, специфичные для стимула, наблюдаются в обоих нейронах [211, 264] и тромбоциты [196, 200]. Это указывает на то, что, строгая регуляция селективного экзоцитоза является консервативным механизмом в обоих типах клеток [14, 145]. Тромбоцитарный и нейрональный экзоцитоз запускаются повышением внутренней концентрации кальция [193], что приводит к быстрой активации секреторного аппарата. Более того, механизм, посредством которого внутренние везикулы сливаются с плазматической мембраной, является высококонсервативным, происходящим через специфические стыковочные молекулы, такие как SNARE, VAMP и синтаксин [186]. В других обзорных статьях молекулярное сходство между тромбоцитами и нервными клетками обсуждалось более подробно [190], и предположили, что тромбоциты могут даже сами рассматриваться как «нейронные клетки», а взаимодействие между тромбоцитами и Т-клетками представляет собой новый «нейроиммунологический» синапс на периферии [177]. Точно так же тромбоциты могут действовать как мессенджеры, передавая сигналы между периферической средой и клетками мозга. Мы показали, что плазма, богатая тромбоцитами, оказывает прямое стимулирующее действие на чистую популяцию клеток-предшественников нервных клеток, полученных из зубчатой извилины гиппокампа, изолированных проточной цитометрией, *in vitro*, и что мыши, у которых были истощены тромбоциты, не показали ожидаемого увеличения, вызванного физической нагрузкой. в пролиферации нервных клеток-предшественников *in vivo* [172]. Эта работа предполагает, что связь между тромбоцитами и нервными стволовыми клетками является важным

регуляторным механизмом в этих клетках головного мозга, хотя точные молекулярные механизмы, лежащие в основе этой связи, до сих пор неясны.

Тромбоциты несут несколько нейротрансмиттеров, которые необходимы для межклеточной связи между клетками головного мозга, включая γ -аминомасляную кислоту (ГАМК), глутамат, серотонин, адреналин, дофамин и гистамин [165]. Это говорит о том, что тромбоциты могут отправлять и получать сигналы в нервную систему и из нее и могут выступать в качестве важного реле между мозгом и периферическими органами.

Моноаминовый нейротрансмиттер серотонин хранится в плотных гранулах, и описаны регуляторные функции тромбоцитов, связанные с высвобождением серотонина на периферии [154]. Хотя считается, что серотонинергические системы периферической и центральной нервной системы разделены, тромбоциты высвобождают серотонин в ответ на специфичные для мозга гликолипидные структуры, которые интегрированы в липидные рафты нейронов и астроцитов [150]. Такие взаимодействия могут происходить при состояниях, при которых церебральные микрососуды становятся негерметичными, в том числе при нейродегенеративных заболеваниях [140], что позволяет предположить, что тромбоциты могут действовать как коммуникаторы между кровью и мозгом.

Эта гипотеза становится более убедительной при рассмотрении двух основных нейротрансмиттеров ГАМК и глутамата, оба из которых поглощаются тромбоцитами [135]. Глутамат является наиболее распространенным возбуждающим нейротрансмиттером в головном мозге, и субстрат-индуцированное поглощение глутамата было продемонстрировано в тромбоцитах человека, вероятно, через специфические глутаматные рецепторы, аналогично тому, что наблюдается в нейронных клетках [129]. Тромбоциты экспрессируют различные подтипы рецепторов глутамата и проявляют активность поглощения глутамата с высоким сродством, процесс, который нарушается при таких заболеваниях, как БП, АД и БАС. ГАМК, тормозной нейротрансмиттер, имеет решающее значение для здоровой функции мозга, при

этом нарушения в передаче сигналов рецептора ГАМК связаны с нейродегенеративными состояниями [30].

Тромбоциты несут значительное количество ГАМК, хотя концентрация на 30% ниже, чем в нейронах [139]. Как в нейронах, так и в тромбоцитах ГАМК метаболизируется ГАМК-трансаминазой [148]. Более того, подобно нейронам, тромбоциты, по-видимому, поглощают ГАМК субстрат-индуцированным образом, при этом исследование *in vitro* показало, что концентрация ГАМК в тромбоцитах незначительна, когда в среде для культивирования клеток присутствует блокатор периферических бензодиазепиновых рецепторов РК11195 [152].

Учитывая эти сходные механизмы захвата и метаболизма нейротрансмиттеров, тромбоциты были предложены в качестве модельной системы транспорта глутамата и ГАМК у пациентов, страдающих нейродегенеративными состояниями [160]. В более поздней обзорной статье эти концепции были расширены на другие консервативные механизмы между тромбоцитами и нейронами, которые связаны с нейродегенеративными заболеваниями, при этом дисфункция тромбоцитов отражает аномалии, наблюдаемые в нейронах [174]. Однако до настоящего времени неясно, возникает ли сначала дисфункция тромбоцитов или функциональные нарушения в тромбоцитах возникают как следствие других дефектов, возникающих при нейродегенеративных процессах.

Таким образом, ХИМ является одной из основных причин когнитивного дефицита у людей пожилого возраста. Проведенный анализ литературы показал, что: (а) основными факторами риска ЦВП являются: возраст пациента, атеросклероз и артериальная гипертензия, СД и метаболический синдром, сердечная недостаточность и гипергомоцистеинемия; (б) ведущую роль в патогенезе ХИМ отводят активации РАС и САС, нарушению микроциркуляции и развитию гипоксии/ишемии мозга, оксидативному стрессу, нейровоспалению и повышению проницаемости ГЭБ; (в) ограниченность знаний патофизиологических механизмов, лежащих в основе возникновения и

прогрессирования ХИМ, сдерживает разработку новых стратегий профилактики и лечения этого заболевания; (д) основными методами диагностики ХИМ являются: МРТ и дуплексное сканирование сосудов головы и шеи, исследование неврологического статуса и нейропсихологическое тестирование, однако, информативность используемых показателей остается недостаточной; (д) клинически значимыми индикаторами развития ХИМ может быть реактивность пуриновых ($P2Y_{1-}$, $P2Y_{12-}$), ангиотензиновых и адренергических рецепторов, ФАТ-рецепторов и GPVI-рецепторов к коллагену, участие которых в дисфункции структур мозга доказана [113].

В этом контексте исследование рецепторного аппарата Тц представляется перспективным, поскольку позволяет анализировать: механизмы тромбогенеза; а также степень влияния патогенетических факторов ЦВП, которые влияют на течение заболевания и развитие сосудистых осложнений. Можно предположить, что анализ реактивности рецепторов Тц позволит мониторить динамику молекулярных механизмов нарушения гомеостаза мозга на разных этапах развития ХИМ, что, в свою очередь, будет способствовать разработке моделей прогнозирования риска прогрессирования заболевания, а также совершенствованию диагностики, профилактики и лечения больных с ЦВЗ.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Дизайн исследования и клиническая характеристика пациентов

Исследование носило проспективный характер, являлось одномоментным, типа «случай-контроль»; уровень доказательности С (IIb).

В исследование включено 109 пациентов с клиническими и нейровизуализационными признаками ХИМ, которые находились на стационарном лечении в 1 и 2 неврологическом отделении ДОКТМО с 2014 по 2020 год (Таблица 2.1.)

Клинические стадии ХИМ определяли согласно критериям классификации дисциркуляторной энцефалопатии [17]. Термин «хроническая ишемия мозга», предложенный Международной классификацией болезней 10 пересмотра (МКБ-10, ICD-10), использовали вместо применяемого ранее термина «дисциркуляторная энцефалопатия».

ХИМ диагностировали при соответствии заболевания следующим критериям: (а) наличие объективно выявленных неврологических и нейропсихических симптомов, которые имеют тенденцию к прогрессированию; наличие ЦВЗ, в том числе факторов риска (СД, атеросклероз, АГ, нарушения сердечного ритма и другие); (б) наличие анамнестических или инструментально подтвержденных признаков поражения мозговых сосудов и / или вещества мозга; (в) наличие причинно-следственной связи между клиническими проявлениями и ЦВЗ при условии доказанных сосудистых изменений вещества мозга, которые соответствуют основным клиническим проявлениям заболевания; (г) наличие когнитивного дефекта или двигательных нарушений подкорково-лобного типа (лобная дисбазия / дизартрия) с учетом особенностей

течения, указывающие на сосудистый генез симптомов (постепенное прогрессирование); (д) отсутствие признаков, характерных для других заболеваний, которые способны объяснить клиническую картину.

В результате анализа жалоб, анамнеза заболевания, неврологического статуса, данных КТ и МРТ головного мозга, показателей УЗДГ сосудов головы и шеи пациенты были распределены на 3 группы

1 группа включала 27 пациентов с I стадией ХИМ, которая представлена 19 (68%) женщинами и 8 (32%) мужчинами. Средний возраст женщин статистически значимо не отличался от такового у больных мужского пола. Среднее значение когнитивной производительности по шкале MMSE достигало $28,3 \pm 0,5$ балла.

2-я группа представлена 37 пациентами с II стадией ХИМ, из которых - женщин 23 (62,1%) и 14 (37,8%) мужчин. Возраст женщин не отличался от такого у больных мужского пола. Межгрупповые сопоставления показали, что возраст пациентов с ХИМ I и II стадий статистически значимо не различался ($p > 0,05$). Общий показатель когнитивной производительности был на 4,7% ($P = 0,006$) меньше чем в 1-й группе ($26,3 \pm 0,3$ балла).

3-я группа включала 45 пациентов с III стадией ХИМ Когорта представлена 20 (44,4%) женщинами и 25 (55,6%) мужчинами, возраст которых статистически значимо не отличался; возраст пациентов совпадал при III и II стадиях ХИМ. Показатель когнитивной производительности ($22,9 \pm 0,3$ балла) был на 12,8% ($P < 0,001$) меньше, чем во 2-й группе.

Обследование и лечение больных ХИМ проводили в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (Сеул, 2008). Комиссией по этическим вопросам и биоэтике (протокол № 66/5-1 от 05.10. 2020 г.) определено, что все научные исследования с участием людей осуществлялись согласно регламентированных биоэтических норм.

2.2. Клинико-инструментальное обследование больных с хронической ишемией мозга

Исследование проводили на момент госпитализации пациентов. Все больные были информированы об исследованиях и плане лечения; получено письменное согласие на участие в исследовании.

Для подтверждения диагноза ХИМ проводили [8]:

- клинико-неврологическое обследование;
- нейрокогнитивное обследование (с использованием шкал MoCA и MMSE);
- компьютерную (КТ) или магнитно-резонансную томографию (МРТ) головного мозга;
- ультразвуковое дуплексное (УЗД) сканирование брахицефальных артерий;
- офтальмоскопию.
- электрокардиографию (ЭКГ).
- мониторинг АД;
- биохимическое исследование крови.

УЗД брахицефальных артерий (ультразвуковая система GE Medical Systems VIVID 7) проводили по стандартной методике. Исследовали общую и внутреннюю сонные артерии, позвоночную (в экстракраниальном и интракраниальном отделах) и базилярную артерии. Определяли линейную скорость кровотока, толщину слоев стенки сосуда и коэффициент интима / медиа (КИМ), наличие атеросклеротических бляшек и стеноза.

Для верификации поражения мозга использовали магнитно-резонансную (Philips «Ingenia» 1.5 T) и компьютерную томографию (64 срезовый аппарат КТ Philips, Brilliance 16). Исследования проводились в течение 24ч с момента госпитализации. На томограммах анализировали наличие очаговых изменений вещества головного мозга. Гиперинтенсивность белого вещества оценивали по модифицированной шкале Fazekas: 0–отсутствие очагов; 1-стадия – единичные очаги; 2-стадия – единичные и сливные очаги; 3-стадия – сливные очаги.

Лакуны определялись как полости диаметром до 15 мм, заполненные цереброспинальной жидкостью с перифокальной зоной глиоза. В белом веществе и подкорковых ядрах, варолиевом мосту и мозжечке определяли наличие зон лейкоареоза, одиночных и множественных лакунарных очагов; микрокровоизлияний; «немых» инфарктов; постинсультных кист, атрофий участков мозга и анатомических изменений в отделах, связанных с продукцией и транспортом ликвора.

Критериями исключения пациентов с ХИМ из исследования были:

- мозговой инсульт давностью менее 6 месяцев; наличие тяжелого неврологического дефицита (параличи, нарушение сознания, афазия, апраксия, синдром игнорирования и т.д.);
- наличие деменции (оценка по Mini Mental State Examination - MMSE менее 24 баллов) или выраженной депрессии (оценка по гериатрической шкале депрессии при деменции выше 10 баллов);
- наличие другой цереброваскулярной патологии (болезнь Альцгеймера, Паркинсона, мультисистемная дегенерация ЦНС, алкогольная энцефалопатия) или психиатрических заболеваний;
- подтвержденный диагноз эпилепсии, или отдельные эпилептические припадки в анамнезе;
- перенесенные травматические заболевания мозга;
- наличие острых и хронических воспалительных заболеваний;
- наличие онкологической патологии;
- тяжелые соматические заболевания;
- коагулопатии, тромбоцитопения;
- прием психотропных препаратов, которые могут повлиять на когнитивные функции пациента;
- применение антиагрегантов и статинов.

Критерии включения пациентов в исследование:

- наличие объективно выявленных клинико-неврологических и нейропсихических симптомов, обусловленных ХИМ;

- наличие факторов риска цереброваскулярного заболевания (СД 2 типа, атеросклероз, артериальная гипертензия, сердечная недостаточность и др.);
- наличие инструментально подтвержденных признаков поражения мозговых сосудов и/или вещества головного мозга;
- наличие причинно-следственной связи между клиническими проявлениями и цереброваскулярным заболеванием при условии доказанных сосудистых изменений вещества головного мозга, которые соответствуют основным клиническим проявлениям заболевания;
- наличие когнитивного дефицита или двигательных нарушений подкорково-лобного типа (лобная дисбазия/дизартрия) с учетом особенностей течения, указывающие на сосудистый генез симптомов (постепенное прогрессирование);
- отсутствие признаков, характерных для других заболеваний, объясняющих клиническую картину.

Для выявления психоэмоциональных нарушений использовались: шкала самооценки Спилбергера–Ханина, госпитальная шкалы тревоги и депрессии (HADS).

Шкала самооценки (тест Ч.Д. Спилбергера, Ю.Л.Ханина) позволяет исследовать уровень тревожности в данный момент (реактивная или ситуативная тревожность) и уровня тревожности как устойчивой характеристики (личностная или конституциональная тревожность). Испытуемому предлагается сопоставить 40 утверждений, разбитых на две равные шкалы – с повседневным самочувствием и состоянием на момент обследования; рассчитывается показатель реактивной тревожности. Если показатели менее 30 – констатируется низкая тревожность, 31-45 – умеренная тревожность, 46 и более – высокая тревожность.

Госпитальная шкалы тревоги и депрессии (HADS–А и HADS–D) относится к субъективным шкалам и предназначена для скринингового выявления тревоги и депрессии у пациентов соматического стационара. Отличается простотой применения и обработки (заполнение шкалы не требует продолжительного времени и не вызывает затруднений у пациента), что

позволяет использовать ее в общемедицинской практике для первичного выявления тревоги и депрессии. Шкала составлена из 14 утверждений, учитывающихся в подшкале А – «тревога» и подшкале D – «депрессия». При интерпретации данных учитывается суммарный показатель по каждой подшкале (А и D), где 0-7 баллов – норма, 8-10 баллов – субклинически выраженная тревога/депрессия, 11 баллов и выше – клинически выраженная тревога/депрессия.

Батарея тестов для оценки лобной дисфункции (FAB) позволяет оценить категоризацию (обобщение), речевую активность (гибкость мышления), динамический праксис, простую реакцию выбора, усложненную реакцию выбора, исследование хватательных рефлексов. Пороговый интервал для разграничения деменций – 12 баллов. Результат ниже 12 баллов свидетельствует о наличии деменции.

Нейропсихологическое исследование проводилось с помощью психометрических и качественных тестов, направленных на оценку памяти, внимания, мышления. Нами применялись шкалы MMSE (Mini Mental State Examination) и Монреальская шкала оценки когнитивных функций (MoCA),

MMSE позволяет проводить скрининг-оценку когнитивных функций. Учитывали общее количество баллов, набранных каждым отдельным пациентом и когорты представленной в группе. В зависимости от количества баллов состояние пациентов оценивали, как: когнитивная производительность не нарушена – 28-30 баллов; легкие когнитивные нарушения – 26-27 баллов и умеренные когнитивные нарушения – 24-25 баллов (Таблица 2.1.).

Монреальская шкала оценки когнитивных функций (MoCA). Используется для быстрого скрининга мягких когнитивных нарушений. Позволяет оценить внимание, концентрацию, память, речь, исполнительные функции, концептуальное мышление, счет, ориентированность. Максимальное количество- 30 баллов, норма соответствует 26 и выше баллов. Необходимо отметить, что обе шкалы при совместном использовании позволяют выявлять

синдром когнитивных нарушений с уточнением степени и дают возможность судить о нозологической форме заболевания.

Таблица 2.1.

**Критерии нейрокогнитивного тестирования больных с ХИМ
по шкале MMSE**

Показатели когнитивной функции	Баллы
Ориентация	максимум 10 баллов
Память	максимум 6 баллов
Счетные операции	максимум 5 баллов
Перцептивно-гностические функции	максимум 9 баллов
Общий показатель когнитивной продуктивности	максимум 30 баллов

По выраженности неврологической симптоматики и когнитивных нарушений выделяли три стадии ХИМ, признаки которых и критерии диагностики приведены в таблицах 2.2. и 2.3.

Таблица 2.2.

Основные признаки стадий ХИМ
(по Н.А. Трусовой и соавт., 2016) [17]

Основные признаки	I стадия	II стадия	III стадия
Жалобы	+ / ++	+ / ++	– / +
Когнитивные нарушения	Легкие	Умеренные	Выраженные (деменция)
Двигательные нарушения	Легкие	От легких до выраженных	Умеренные или выраженные
Трудоспособность	Частично трудоспособен	Нетрудоспособен	Нетрудоспособен
Бытовая независимость	Независим	Может быть частично зависим	Зависим

Критерии диагностики ХИМ, основанные на клинических и нейровизуализационных данных (по Н.А. Трусовой и соавт., 2016) [17]

Критерии	Характеристика
Признаки поражения головного мозга	Объективно выявляемые нейропсихологические или неврологические симптомы, имеющие тенденцию к прогрессированию.
Признаки цереброваскулярного заболевания	(а) факторы риска (артериальная гипертензия, гиперлипидемия, сахарный диабет и др.); (б) анамнестические или инструментально подтвержденные признаки поражения мозговых сосудов и/или вещества мозга.
Причинно-следственная связь между клиническими проявлениями и цереброваскулярным заболеванием	а) выявляемые при КТ/МРТ изменения вещества мозга сосудистого генеза соответствуют ведущим клиническим проявлениям; (б) когнитивный дефект лобного типа / лобная дисбазия / дизартрия + особенности течения, которые указывают на сосудистый генез симптомов (ступенеобразное прогрессирование)

2.3. Лабораторное исследование

На момент госпитализации у больных проводили анализ параметров биохимии крови и водно-электролитного баланса. При анализе гемограммы определяли количество форменных элементов, лейкоцитарную формулу и абсолютное количество лейкоцитов, оценивали скорость оседания эритроцитов (СОЭ). О выраженности катаболических процессов судили по показателям

обмена азота – содержанию мочевины и креатинина. Кроме того, оценивали концентрацию глюкозы в крови. Для оценки глубины метаболических нарушений липидного обмена проводили исследования концентрации общего холестерина, триглицеридов, липопротеинов высокой и низкой плотности (ЛПВП и ЛПНП).

2.4. Методика исследования агрегации тромбоцитов *in vitro*

Протокол исследования агрегационной способности Тц соответствует Европейским рекомендациям по стандартизации агрегометрии [102]. Исследование *in vitro* Тц проведено на периферической венозной крови; в качестве антикоагулянта использовался раствор цитрата натрия (109 ммоль / л) в объемном отношении 9: 1. Богатую тромбоцитами плазму (БТП) получали центрифугированием образцов крови при 200-250× g в течение 10 минут при температуре +21 – +24°C. Бедную тромбоцитами плазму получали путем центрифугирования цельной крови, после удаления плазмы богатой Тц при 1500 × g в течение 15 минут. Количество Тц в исследуемом образце БТП поддерживали на уровне 200.000 ± 50.000 клеток в мкл. Оценку агрегации Тц (АТц) проводили турбидиметрическим методом на анализаторе ChronoLog (USA). Инкубацию Тц с агонистом проводили в течение 7 минут при температуре 37°C и перемешивании со скоростью 1000 оборотов в минуту.

Тромбоциты больных с ХИМ использовали в качестве модели для оценки функциональной активности пуриновых P2Y рецепторов, ангиотензинового AT₁-рецептора, α₂-адренорецептора, ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора к коллагену IV типа. Представленный выбор рецепторов обусловлен следующими фактами:

1. АДФ - локальный фактор, который накапливается в плотных гранулах Тц, поддерживает аутокринную стимуляцию Тц. АТц происходит

вследствие связывания АДФ с пуриновыми $P2Y_1$ и $P2Y_{12}$ рецепторами, которые ассоциированы с Gq- и Gi-белками сигнальных систем. Целесообразность исследования активности пуриновых $P2Y$ рецепторов при ХИМ продиктована повышением внеклеточной концентрации АТФ, АДФ и аденозина при гипоксии/ишемии мозга [270] и участием пуриновых $P2$ рецепторов в функционировании различных глиальных и нейрональных модулей нервной системы [170], обеспечении взаимодействия микроглии и астроцитов [197], а также микроглиального фагоцитоза [265], экспрессии генов микроглии, связанных с высвобождением провоспалительных цитокинов (ИЛ- 1β , ИЛ-6 и ФНО- α) [153].

2. Ангиотензин-2 – гуморальный фактор, уровень которого возрастает при активации ренин-ангиотензиновой системы (РАС). Агрегация Тц обеспечивается активацией Gq-белков, связанных с AT_1 -рецептором. Исследование AT_1 -рецептора позволяет мониторить регуляцию активности синтазы оксида азота (eNOS) [232]; пролиферации гладкомышечных клеток, которая является причиной ремоделирования сосудистого русла мозга [156]; генерации активных форм кислорода (АФК) в стенке сосудов [164]; проницаемости эндотелия, который является структурным элементом ГЭБ [99]; продукции провоспалительных цитокинов [77]; пролиферации астроцитов [182] и секрецию ими нейровоспалительных медиаторов [180].

3. Адреналин – гуморальный фактор, уровень которого возрастает вследствие активации симпатoadреналовой системы (САС). Агрегация обеспечивается активацией Gi-белка, связанного с α_2 -адренорецептором. Необходимость анализа активности α_2 -адренорецепторов Тц при ХИМ обусловлена участием катехоламинов в: центральном контроле кровообращения [74], ауторегуляции мозгового кровотока [196] и ремоделировании стенки сосудов [169]; контроле миграции нейтрофилов из сосудистого русла [279]; формировании противовоспалительного фенотипа микроглии [55]; развитии реактивного глиоза [84]; повышении экспрессии нейротрофического фактора мозга (BDNF) [130].

4. Фактор активации Тц (ФАТ) - паракринный фактор, обеспечивающий стимуляцию Тц, а также взаимодействие лейкоцитов и Тц в реализации воспаления. Агрегация Тц развивается при активации Gq-белка, связанного с ФАТ-рецептором. Уровень ФАТ в плазме считается: биомаркером воспаления; модулятором местных цитокиновых сетей [276], когнитивных функций и поведения [100, 245, 282]; гуморальным фактором повышения проницаемости ГЭБ и его структурного элемента – эндотелия [49]. Приведенные факты обосновывают целесообразность исследования активности ФАТ-рецепторов для оценки хронического воспаления при ХИМ.

5. Растворимый коллаген IV типа - системный фактор, отражающий влияние концентрации растворимого коллагена в крови и / или экспрессии коллагена базальной мембраны сосудов на тромбоцитарное звено гемостаза. Агрегация обеспечивается активацией GP VI-рецептора, ассоциированного с тирозинкиназой. Интерес к GPVI-рецептору при ХИМ связан с его участием в: ремоделировании (синтезе и деградации) молекул внеклеточного матрикса, которые представлены в базальной мембране стенки сосудов и гемато-энцефалическом барьере (ГЭБ) [231]; ремоделировании внеклеточного матрикса мозга (ВКМ), связанного с системной воспалительной реакцией и нейровоспалением [82]. При этом деградация белков ВКМ и повышение проницаемости ГЭБ связаны с активацией матриксных металлопротеиназ [274]. Приведенные факты обосновывают целесообразность исследования активности GPVI-рецептора для анализа механизмов регуляции ремоделирование ВКМ, альтерации ГЭБ и развития воспалительной реакции.

Для анализа функционального состояния Тц использовались следующие агонисты.

АДФ (Adenosine 5'-diphosphate sodium salt) - адениннуклеотид, который связывается с пуриновыми рецепторами Тц (P2Y₁, P2Y₁₂). Фирма производитель Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Германия). Продукт в каталоге -

A2754. CAS Number: 20398-34-9. Эмпирическая формула (Hill Notation): $C_{10}H_{15}N_5O_{10}P_2$; молекулярный вес: 427.20 г/моль. Милимолярный коэффициент экстинкции раствора натриевой соли АДФ при pH 7,0 составляет 15,4 при максимальной длине волны поглощения 259 нм. Маточный раствор АДФ (1 мг/мл) получают введением во флакон 2,0 мл 0,9% NaCl ($t = + 20^{\circ}C$). Натриевая соль АДФ является стабильной в растворе в течение нескольких месяцев при хранении в условиях $-20^{\circ}C$ и pH 7,0. Обоснование возможных доз агониста для изучения функциональной активности $P2Y_1$ и $P2Y_{12}$ - рецепторов Тц представлен в публикации [24].

Ангиотензин-2 (Angiotensin II human; Synonyms: Ang II, Hypertensin II) - октапептидный гормон, является агонистом AT_1 - и AT_2 -рецепторов. Последовательность аминокислот: Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe. Молекулярная формула: $C_{50}H_{71}N_{13}O_{12}$; молекулярная масса: 1046.18 Da. Catalog Number A9525 Product Number: C8374 Company: Sigma-Aldrich Chemie GmbH. CAS-No.: 9007-34-5. Лиофилизированный пептид является стабильным при $t = 0^{\circ}C$ в течение двух лет. Ангиотензин-2 растворяют в воде (25 мг/мл) при pH 5,0-8,0. Стационарные растворы при нейтральном pH и $t = -20^{\circ}C$, остаются активными в течение двух месяцев. Обоснование возможных доз агониста для изучения функциональной активности Тц представлено в публикации [195].

Адреналин (Epinephrine bitartrate) - агонист адренорецепторов (α_1 -, α_2 -адренорецепторов). Фирма производитель Sigma-Aldrich Chemie GmbH Merck KGaA (Германия). Продукт в каталоге - PHR1509; CAS Number: 51-42-3. Эмпирическая формула (Hill Notation): $C_9H_{13}NO_3$ $C_4H_6O_6$; молекулярный вес: 333,33 г/моль. Приготовление маточного раствора: во флакон с адреналином вносят 8,0 мл 0,9% NaCl ($t = + 20^{\circ}C$) и в течение 10 минут периодически перемешивают. Полученный маточный раствор адреналина содержит 500 мкг/мл, который хранят при $t = +2 + 8^{\circ}C$; раствор может быть использован в течение 1 месяца. Обоснование возможных доз агониста для изучения функциональной активности α_2 -адренорецептора Тц представлен в публикации [24]

ФАТ (β -Acetyl- γ -O-hexadecyl-L- α -phosphatidylcholine hydrate) – внеклеточный сигнальный липид, который является лигандом для ФАТ-рецепторов. Молекулярная формула: $C_{26}H_{54}NO_7P \cdot xH_2O$; молекулярная масса: 523,68 г / моль. Состав алкильной группы: 56% пальмитил (гексадецил, C16), 10% стеарил (октадецил, C18), 11% пентадецил (C15), 13% является не идентифицированным. Product Number: P4904. Company: Sigma-Aldrich Chemie GmbH. CAS-No.: 74389-68-7 P4904. Лиофилизированный порошок ФАТ является фосфолипидным медиатором, который активирует различные типы клеток (Тц, нейтрофилы, моноциты, Т-лимфоциты, эозинофилы, базофилы). Активация Тц обусловлена связыванием ФАТ с его рецептором на поверхности клеток, активацией Gq и образованием инозитол-3-фосфата, что сопровождается повышением уровня Ca^{2+} . Водную дисперсию ФАТ готовят в 0,15 М NaCl, содержащем 2,5 мг/мл бычьего сывороточного альбумина (BSA). Обоснование возможных доз агониста для изучения функциональной активности ФАТ-рецептора Тц представлено в публикации [69].

Коллаген (Collagen from human placenta; Synonyms: Collagen Type IV) - связывается с GPVI-рецептором Тц, гепатоцитов, кератиноцитов, эндотелиальных клеток. Product Number: C8374 Company: Sigma-Aldrich Chemie GmbH. CAS-No.: 9007-34-5. Молекулы коллагена состоят из трех полипептидных цепей, расположенных в тройной спиральной конформации; в первичной структуре, в основном, глицин повторяется в каждой 3-й позиции, а пролин или 4-гидроксипролин часто предшествуют глицину. Тип IV коллагена представлен в базальных мембранах и содержит до шести генетически отличных α -цепей. IV тип коллагена используется для оценки функции Тц [61]. Начальный процесс приготовления раствора базируется на солубилизации коллагена при добавлении 1,0 г порошка в 50 мл холодной очищенной воды (50% конечного объема). Смесь перемешивается в течение 15 минут, после чего добавляется 50 мл холодной 0,02 М HCl, что позволяет установить окончательную концентрацию коллагена на уровне 10 мг/мл; раствор может храниться (при $-20^{\circ}C$) в течение года. pH смеси должна поддерживаться в

диапазоне от 2,0–3,0. Гомогенизация смеси коллагена достигается в течение 15 минут при $t = + 20^{\circ}\text{C}$. Перед исследованием АТц окончательная концентрация коллагена 1,0 мг / мл достигается разведением с 0,01 М HCl.

2.5. Статистическая обработка результатов исследования

Статистический анализ результатов исследований проводили с помощью пакета EZR v. 1.35 (Saitama Medical Center, Jichi Medical University, Saitama, Japan), представляющего собой графический интерфейс (The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) [4, 117]. Точечная оценка величин, подлежащих анализу, проводилась путем расчета среднего арифметического признака ($\bar{X}$) или ее медианы (Me) и соответствующей стандартной погрешности (m). Для качественных характеристик использовали показатель частоты признака (%) и его стандартную ошибку (m%). При анализе межгрупповых различий в случае двух групп применяли критерий Стьюдента (в случае нормального закона распределения, и количественных характеристик), критерий Вилкоксона (в случае отличия закона распределения от нормального, и количественных характеристик). Для анализа связи стадии ХИМ со значением показателей отдельных агонистов были использованы методы парного корреляционного анализа (рассчитывался показатель ранговой корреляции Спирмена) и построения моделей многофакторной линейной регрессии (обобщенные регрессионные модели), адекватность модели оценивали по скорректированному показателю детерминации (R^2_{adjusted}). Для оценки степени влияния каждого из факторных признаков в многофакторной модели были рассчитаны частные коэффициенты корреляции $r_{\text{част}}$. Для отбора набора признаков, тесно связанных со стадией ХИМ использован метод пошагового исключения / добавления (Stepwise, при критическом пороге исключения признаки - $p_1 > 0,1$ и критическом пороге включения - $p_2 < 0,05$).

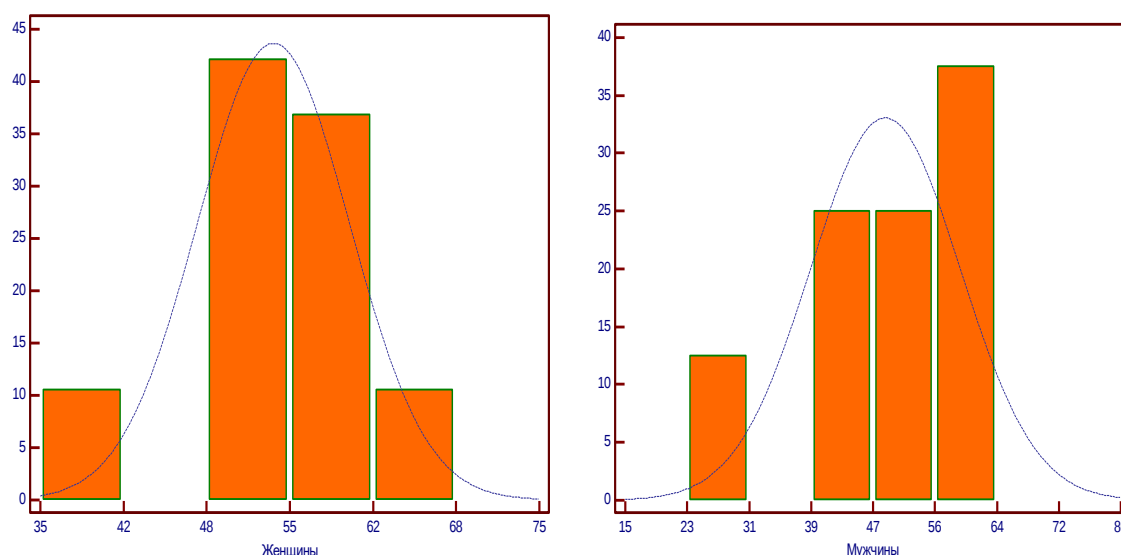
Для количественной оценки степени влияния факторных признаков на прогрессирование ХИМ были использованы метод построения и анализа логистических моделей регрессии. Адекватность логистических моделей оценивалась по площади под ROC-кривой модели (AUC -Area under the ROC curve) и ее 95%ДИ. Модель считалась адекватной при статистически значимом различии величины AUC от 0,5. Влияние факторных признаков оценены по величине показателя отношения шансов (ОШ) для которого рассчитывали 95% ДИ. Для оценки прогностических качеств моделей логистической регрессии рассчитывались показатели чувствительности, специфичности модели, прогнозируемости положительного и отрицательного результатов. При проведении анализа использованы критерии с двусторонней критической областью, критический уровень значимости $\alpha = 0,05$.

ГЛАВА 3

ПАТОГЕНЕЗ I СТАДИИ ХРОНИЧЕСКОГО НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

3.1. Клинико-лабораторная характеристика пациентов с I стадией ХИМ

Когорта пациентов с I стадией ХИМ представлена 27 пациентами, из которых было 8 (29,6%) мужчин, средний возраст которых составлял $49,0 \pm 3,4$ лет (ДИ 40-57) и 19 (70,3%) женщинами в возрасте $53,6 \pm 1,3$ лет (ДИ 50-56 лет). Наибольшее количество больных 16 (59,2%) пациентов находились в средней возрастной категории 51-60 лет (Рисунок 3.1). Межгрупповых гендерных и возрастных различий не выявлено ($p > 0,05$).



**Рисунок 3.1. Гендерная и возрастная характеристика пациентов с
ХИМ I стадии**

У больных с ХИМ I стадии основу клинической картины составила рассеянная органическая неврологическая симптоматика в сочетании с

астеноневротическим синдромом. Наиболее частыми жалобами были головная боль, расстройство сна, снижение фона настроения и головокружение (Таблица 3.1).

При неврологическом обследовании у больных часто проявлялись нарушения черепной иннервации в виде асимметрии носогубных складок, анизокории, слабости конвергенции и легкой девиации языка. Обращает на себя внимание наличие патологических рефлексов на руках и ногах.

Наиболее часто выявляли кистевые патологические рефлексы – рефлекс Россолимо-Вендеровича, Бехтерева, Жуковского, Клиппеля-Вейля (патологические кистевые знаки) и патологические стопные рефлексы – сгибательный рефлекс Бабинского и разгибательные Оппенгейма, Гордона, Шеффера, Россолимо, Бехтерева-Менделя (патологические стопные знаки).

Батарея тестов лобной дисфункции выявила незначительное снижение общей психической активности, эпизодической памяти, интеллектуальной гибкости. Так у пациентов с ХИМ 1 стадии средний балл тестирования составил $18,3 \pm 1,3$ балла. При оценке полученных результатов по шкале самооценки Спилбергера и госпитальной шкале тревоги и депрессии (HADS) у 10 (37,0%) пациентов выявлена тревожно-депрессивная симптоматика, в клинической картине которой доминировала немотивированная тревога. Нередко тревога сочеталась с простыми фобиями: кардио- и панофобиям.

Тревожный фон у ряда пациентов отрицательно влиял на выполнение заданий (Таблица 3.2.). При исследовании уровня тревоги с помощью теста Спилбергера у пациентов с ХИМ I стадии выявлено доминирование личностной тревожности над реактивной. Уровень тревоги и депрессии, оцененный по шкале HADS показала, что, у больных преобладала субклинически выраженная тревога/депрессия.

Таблица 3.1.

**Различия частоты жалоб, общемозговых и очаговых симптомов у
пациентов с ХИМ I стадии**

Показатели	ХИМ (n=27)
Жалобы	
Головная боль	27 (100%)
Расстройство сна	24 (88,9±6%)
Снижение фона настроения	22 (81,5±7,5%)
Снижение памяти	3 (11,1±6%)
Головокружение	16 (59,3±9,5%)
Раздражительность	13 (48,1±9,6%)
Шаткость походки	5 (18,5±7,5 %)
Повышение АД	13 (48,1±9,5%)
Парестезии	6 (22,2±8%)
Неврологический статус	
Нарушение ориентации	0
Нарушение речи (дизартрия)	0
Асимметрия глазных щелей	0
Анизокория	5 (18,5±7,5%)
Нистагм	0
Слабость конвергенции	22(81,5±7,5%)
Асимметрия лица	24 (88,9±6%)
Девияция языка	0
Нарушение глотания	0
Снижение мышечной силы	2 (7,4±5%)
Повышение мышечного тонуса	2 (7,4±5%)
Повышение рефлексов рук	15 (55,6±9,6%)
Повышение коленных рефлексов	20 (74,1±8,4%)
Повышение ахилловых рефлексов	19 (70,4±8,8%)
Патологические стопные знаки	17 (63±9,3%)
Патологические кистевые знаки	20 (74,1±8,4%)
Неустойчивость в позе Ромберга	2 (7,4±5%)
Нарушения при пальце-носовой пробе	2 (7,4±5%)
Нарушение чувствительности	0

Таблица 3.2.

Показатели уровня невротизации, реактивной и личностной тревожности у больных ХИМ I ст.

Тесты	ХИМ
Реактивная тревожность (тест Спилбергера)	30,3±1,5
Личностная тревожность (тест Спилбергера)	41,2±2,3**
Уровень тревоги и депрессии (HADS)	7,5±1,9

Тестирование нейрокогнитивных функций по краткой шкале MMSE на момент госпитализации пациентов не выявило нарушений - общий показатель когнитивной производительности (ОПКП) находился в пределах $28,0 \pm 0,5$ балла (95% ДИ 26,0-29,0 балла). У пациентов отсутствовали статистически значимые различия ориентации, вербальной памяти, счетных операций и функций гнозиса с нормальными показателями. (Таблица 3.3.).

Полученные данные свидетельствуют о малоинформативности данных методов диагностики. Остается не выясненным вопрос, а являются ли данные МРТ информативными показателями?

У пациентов с ХИМ I стадии для уточнения диагноза использовались КТ и МРТ головного мозга. (Таблица 3.4.). Обращает на себя внимание, то что сосудистое поражение головного мозга наблюдается только у 30% пациентов. Также не часто встречается смещение срединных структур и расширение желудочков мозга, что является диагностически значимым в развитии ХИМ.

**Критерии нейрокогнитивного тестирования пациентов с ХИМ I
стадии по краткой шкале MMSE**

Показатели когнитивной функции	ХИМ I стадия (n=27)	
	$\bar{X} \pm SD$	Min –Max
Ориентация	9,2±0,2	8,0-10,0
Память	5,5±0,17	5,0-6,0
Счетные операции	4,8±0,1	4,0-5,0
Перцептивно- гностичные функции	8,8±0,1	8,0-9,0
ОПКП	28,3±0,5	26,0-30,0

Использование магнитно-резонансной или компьютерной томографии для анализа характера и локализации очагов поражения головного мозга только частично соотносится с наличием, типом и выраженностью нейропсихологических нарушений [209, 254].

Следует предположить, что раннюю информацию несут метаболические процессы, развивающиеся в мозге при гипоксии/ишемии, которые определяют трансформацию тяжести заболевания.

Результаты доплеровского исследования сосудов шеи и головы у 27 больных с 1 стадией ХИМ свидетельствуют, что на ранних этапах ХИМ атеросклеротическое повреждение крупных сосудов встречается редко. При этом утолщение комплекса интима-медиа (более 1,1 мм) стенки экстракраниальных сосудов встречается у 50% обследованных. Однако, нарушение скорости кровотока в экстракраниальных сосудах регистрировалось только у 21,4% обследованных. Ассиметрия кровотока была только в позвоночных артериях, что, скорее всего, связано с деформацией позвоночника;

разница достигала 30%. Таким образом, на начальной стадии заболевания нарушение гемодинамики в экстракраниальных сосудах не является основополагающим в патогенезе ХИМ.

Таблица 3.4.

Результаты МРТ головного мозга у пациентов с ХИМ I стадии.

Показатели	ХИМ (n=27)
	Частота выявления признака
Очаговое поражение головного мозга сосудистого генеза	3 (30,0%)
Множественные очаги поражения головного мозга	1 (10%)
Наличие очагов предыдущих инсультов	0
Смещение срединных структур	4 (40,0%)
Расширение желудочков мозга	3 (30,0%)
Расширение подбололочных пространств	1 (10,0%)
Извитость экстракраниальных артерий	0

При отсутствии выраженных гемодинамических нарушений мозгового кровотока целесообразно исследовать патобиохимические изменения в стенке сосуда, поскольку атеросклероз вызывает жесткость стенки, что в конечном счете, способствует повышению общего периферического сосудистого сопротивления и нарушению реологии в сосудах микроциркуляторного русла (лит ссылка). Биохимический анализ не выявил нарушений метаболизма липидов (Таблица.3.5.), а значит, отсутствуют факторы риска морфологических изменений в стенке артерий эластического типа.

Таблица 3.5.

Показатели метаболизма липидов у пациентов с ХИМ I стадии

Показатели	ХИМ (n=27)	
	$\bar{x} \pm SD$	Размах (Min –Max)
Общий холестерин, ммоль/л	5,18±0,36	3,6-7,6
Триглицериды, ммоль/л	1,67±0,32	0,85-4,15
β -липопротеиды (ЛПНП), г/л	2,97±0,31	1,56-4,16
Индекс атерогенности	3,69±0,30	2,4-5,4

Клинико-инструментальное исследование выявило коморбидность ХИМ, наиболее часто встречалась ассоциация ХНМК с АГ и сердечной недостаточностью (Таблица. 3.6.).

Таким образом, у пациентов с I стадией ХИМ основу клинической картины составила рассеянная органическая неврологическая симптоматика в сочетании с астеноневротическим синдромом; а также выявлена тревожно-депрессивная симптоматика, в клинической картине которой доминировала немотивированная тревога. При этом клинико-инструментальные методы обследования пациентов не выявили убедительных доказательств наличия хронического нарушения мозгового кровообращения. Сложившаяся ситуация свидетельствует об отсутствии высокоинформативных диагностических методов, позволяющих анализировать патофизиологические механизмы, предопределяющие развитие функциональных нарушений в органах ЦНС. В этой связи исследование рецепторного аппарата Тц представляется перспективным, поскольку позволяет контролировать молекулярные механизмы не только нарушения гемодинамики мозга, но и нейрохимические процессы, лежащие в основе неврологической симптоматики, снижения памяти и развития тревоги у пациентов с ХИМ.

Таблица 3.6

Частота ассоциации коморбидной патологии сердечно-сосудистой системы у пациентов с ХИМ I стадии.

Коморбидная патология	ХИМ(n=27)	
	Абс	%
ИБС	0	—
АГ 1 ст	6	22,2%
АГ 2 ст	3	11,1%
АГ 3 ст.	1	3,7%
Нарушения ритма сердца	1	3,7%
СН1	7	25,9%
СН2А	3	11,1%
ИМ в анамнезе	1	3,7%
Инсульт в анамнезе	0	—
Остеохондроз шейного отдела позвоночника	6	22,2%
Гипертрофия ЛЖ	3	11,1%

3.2. Диагностические возможности анализа функциональной активности рецепторов тромбоцитов при ХИМ I стадии

Метаболизм нейронов и глии при гипоксии/ишемии мозга регулируется локальными механизмами с участием пуринов (АТФ, АДФ), цитокинов и модулируется гуморальными факторами (через циркумвентрикулярные органы ЦНС лишенные ГЭБ [204, 214].

Гипотеза – если у пациентов с 1 стадией ХИМ развивается ишемия мозга, то должна повышаться внеклеточная концентрация пуриновых нуклеотидов и, как следствие, будет увеличиваться активность P2 –рецепторов.

Исследовательский вопрос- изменяется ли активность P2Y-рецепторов при 1 стадии ХИМ?

Проведенное исследование АТц- индуцированной АДФ выявило нормореактивность P2Y –рецепторов (Таблица.3.7.), что, вероятно, отражает, отсутствие критического нарушения мозгового кровообращения, которое бы вызывало повышение внеклеточной концентрации пуриновых нуклеотидов.

Ключевой вопрос – возможно ли хроническое нарушение мозгового кровообращения у пациентов с 1 стадией ХИМ?

Для ответа на этот вопрос целесообразно исследовать функциональную активность α_2 -адренорецептора и АТ₁-рецептора, которые являются известными регуляторами вазоконстрикции, связанной с сократимостью гладких миоцитов в стенке сосудов [152, 164].

В исследованиях *in vitro* выявлена гиперреактивность данных рецепторов, причем доминирующее влияние на клетки мишени может оказывать α_2 -адренорецептор, активность которого была на 8,1% ($p<0,001$) больше, чем активность АТ₁ рецептора (Таблица.3.8.).

Таблица 3.7.

**Индукцированная агрегация тромбоцитов у пациентов
с ХИМ I стадии (n=27)**

Агонист	Среднее значение АТц (%), $\bar{x} \pm SD$	Min –Max	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
АДФ (5 мкМ)	51,5±0,7	45,0-59,0	50,1	52,9

Таким образом, у пациентов с ХИМ I стадии, судя по активности рецепторов, регулирующих сосудистый тонус, возможно снижение кровотока в мелких артериях и артериолах мышечного типа, которое нивелируется механизмами ауторегуляции мозгового кровообращения. Вероятно, на раннем этапе нарушения мозгового кровообращения баланс механизмов вазоконстрикции и вазодилатации позволяет поддерживать внеклеточный уровень пуриновых нуклеотидов на стационарном уровне.

Таблица 3.8.

**Сенситивность α_2 -адренорецептора и АТ₁ рецептора у пациентов
с ХИМ I стадии (n=27)**

Агонист	Среднее значение АТц (%), $\bar{x} \pm SD$	Min –Max	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
Адреналин (5,0 мкМ)	71,1±0,7	65,0-80,0	69,6	72,6
Ан-2 (1,0 мкМ)	65,8±0,9 $P_{\text{Адреналин}} < 0,001$	57,0-74,0	63,9	67,7

Примечание. Р – вероятность различий АТц относительно эффекта предыдущего агониста.

В процессе анализа причинно-следственных связей патогенеза ХИМ I стадии выявлена корреляция между индикатором памяти и общим показателем когнитивной производительности, которые оценивали в баллах при нейрокогнитивном тестировании пациентов по краткой шкале MMSE, и активностью α_2 -адренорецептора (соответственно, $r=0,512$ и $r=0,387$; $p<0,05$). Данная взаимосвязь, вероятно, отражает нейропротекторную роль α_2 -адренорецептора при церебральной ишемии [171] и объясняет отсутствие значимых нарушений вербальной памяти, ориентации, счетных операций и функций гнозиса у пациентов с ХИМ I стадии.

Корреляционная связь также выявлена между значениями реактивной и личностной тревожности, оцененной в тесте Спилбергера и активностью AT_1 рецептора (соответственно, $r=-0,711$ и $r=-0,433$; $p<0,05$), что вероятно, отражает модулирующее влияние РАС на тревожно-депрессивную симптоматику выявленную у пациентов. Повышение активности AT_1 рецептора отражает наличие анксиолитического эффекта у Ан-2, что может рассматриваться как компенсаторный механизм у пациентов с ХИМ I стадии [35].

В литературе обсуждается роль нейровоспаления вызванного ишемией, при котором инфильтрирующие нервную ткань иммунные клетки высвобождают различные БАВ, которые могут ограничивать степень альтерации нейронных ансамблей и восстанавливать функцию органов ЦНС [68]. В случае нарушения проницаемости ГЭБ происходит чрезмерная активация микроглии с последующим высвобождением провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6), следствием чего является усиление повреждения структур головного мозга и прогрессирование ХИМ [97].

Исследовательский вопрос -имеет ли место системная воспалительная реакция у пациентов с I стадией ХИМ, если для оценки использовать рутинные показатели лейкоцитоз и количество нейтрофилов, уровень СРБ и СОЭ. Анализ периферической крови не выявил признаков воспаления в организме (Таблицы. 3.9., 3.10., 3.11.). В этой связи имело смысл

оценить информативность активности ФАТ-рецептора, который стимулируется лейкоцитами и запускает процесс взаимодействия тромбоцитов и лейкоцитов. Формирующиеся при этом ТЛА обеспечивают рекрутирование лейкоцитов из сосудистого русла в нервную ткань, тем самым обеспечивается реализация воспалительной реакции [66]. Информативным индикатором активности лейкоцитов являются образующиеся фрагменты деградации внеклеточного матрикса, которые поступают в сосудистое русло и могут идентифицироваться [105].

Таблица 3.9.

Характеристика основных показателей крови

Показатели	$\bar{x} \pm SD$	Min –Max
Тромбоциты, $\times 10^9$	310,0 $\pm$ 8,9	234,0-286,0
MVP, fl	11,33 $\pm$ 0,30	9,0-14,0
Нб, г/л	179,3 $\pm$ 12,0	114,0-333,0
Эритроциты, $\times 10^{12}$	4,37 $\pm$ 0,09	3,82-5,07
СРБ, мг/л	7,1 $\pm$ 1,1	0-48,0
СОЭ, мм/ч	18,7 $\pm$ 1,4	2,0-62,0
Лейкоциты, $\times 10^9$	9,1 $\pm$ 0,3	3,5-24,7
ПЯ лейкоциты, %	3,0 $\pm$ 0,3	1,0-14,0
СЯ лейкоциты, %	67,3 $\pm$ 1,1	43,0-88,0
Эозинофилы, %	1,6 $\pm$ 0,2	0-8,0
Моноциты, %	5,6 $\pm$ 0,3	2,0-15,0
Лимфоциты, %	28,9 $\pm$ 1,3	5,0-51,0

Особый интерес вызывает коллаген IV типа, который входит в состав базальной мембраны стенки сосудов [43]. Уровень данного вещества в крови проявляется активацией GPVI-рецептора на Тц, что может свидетельствовать о ремоделировании сосудистой стенки, если таковая имеет место при I стадии ХИМ.

Проведенный анализ реактивности тромбоцитов при индукции ФАТ и коллагеном выявил нормореактивность соответствующих рецепторов (Таблица.3.11), что свидетельствует о сохранении активности лейкоцитов в пределах референсного диапазона у здоровых лиц.

Таблица 3.10.

Лейкоцитарная формула крови

Показатель	(Me±m)	I квартиль	III квартиль
НФ с/я, %	60,3±0,740	72	
НФ, п/я %	2,0±0,15	4	1
Моноциты, %	5,0±0,3	6	3
Лимфоциты, %	26,3±2,0	31	20
Еозинофилы, %	1,1±0,1	1	0

Если сопоставить активность рецепторов Тц, то можно получить следующую картину: активность α_2 -адренорецептора > активности АТ₁-рецептора > активности ФАТ-рецептора = активности GPVI-рецептора = активности P2Y-рецепторов. Полученный результат свидетельствует, что активация САС и РАС являются факторами риска развития ХИМ I стадии. Однако, возникает вопрос – действительно ли при данных условиях отсутствует ишемия, или таковое все же имеет место, но не проявляется изменением активности P2Y-рецепторов Тц. Дело в том, что при гипоксии/ишемии мозга

повышается уровень внеклеточных нуклеотидов, следствием чего является увеличение активности P2 рецепторов.

Таблица 3.11.

**Индукцированная агрегация тромбоцитов у пациентов
с ХИМ I стадии (n=27)**

Агонист	Среднее значение АТц (%), $\bar{x} \pm SD$	Min – Max	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
ФАТ(150,0 мкМ)	49,9±0,8	46,0-54,0	48,0	51,8
Коллаген (1,0 мг/мл)	53,6±1,1	49,0-62,0	51,0	56,1

Исследование функциональной активности рецепторов Тц позволило конкретизировать патогенетические механизмы развития I стадии ХИМ. Так, установлено наличие гиперреактивности α_2 -адренорецептора и АТ₁-рецептора, а также нормореактивность P2Y-рецепторов, ФАТ- и GPVI-рецептора (Таблица 3.12). Причем активность α_2 -адренорецептора превышала таковую АТ₁-рецептора на 12,3% ($p < 0,001$), GPVI-рецептора на 31% ($p < 0,001$), P2Y-рецепторов на 41,2% ($p < 0,001$) и ФАТ-рецептора на 40,7% ($p < 0,001$).

Приведенная выше характеристика рецепторов, свидетельствует о наличии адренергического фенотипа Тц, в котором доминирующим является активность α_2 -адренорецептора. Наличие такого фенотипа Тц у пациентов группы риска цереброваскулярной патологии свидетельствует о высокой индивидуальной адренореактивности организма, связанной с активацией САС, при этом гиперактивность α_2 -адренорецептора может рассматриваться как компенсаторный нейропротекторный механизм на начальных этапах развития церебральной ишемии.

Таблица 3.12.

**Кластер активности рецепторов тромбоцитов у пациентов
с ХИМ I стадии (n=27)**

Агонист	Среднее значение АТц (%), $\bar{X} \pm SD$	Min – Max	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
Адреналин (5,0 мкМ)	70,2±0,9	66,0-74,0	68,1	72,3
Ан-2 (1,0 мкМ)	62,5±1,3 $P_{\text{адреналин}} < 0,001$	57,0-70,0	59,5	65,5
Коллаген (1,0 мг/мл)	53,6±1,1 $P_{\text{Ан-2}} < 0,001$	49,0-62,0	51,0	56,1
АДФ (5 мкМ)	49,7±0,9 $P_{\text{коллаген}}$	45,0-53,0	47,7	51,7
ФАТ(150,0 мкМ)	49,9±0,8	46,0-54,0	48,0	51,8

Примечание. Р – вероятность различий АТц относительно эффекта предыдущего агониста

Для выявления связи риска развития ХИМ I стадии со значениями основных инструментальных и лабораторных показателей представлялось оправданным использовать метод построения и анализа многофакторных логистических моделей регрессии. Для отбора значимых признаков использовался метод пошагового добавления / отбрасывания (Stepwise при пороге включения признака – $p < 0,1$, и при пороге исключения признаки $p > 0,2$). В результате анализа выявлено три признака, сильно связанных с развитием ХИМ I стадии: возраст пациента, активность АТ₁-рецептора и α_2 -адренорецептора. Логистическая модель регрессии, построенной на выделенных признаках – адекватная ($\chi^2 = 180,7$ при 3-х степенях свободы, $p < 0,001$). Площадь под кривой операционных характеристик модели AUC = 0,901 (95% ДИ 0,723- 0,982) свидетельствует об удовлетворительной связи

риска развития I стадии ХИМ с возрастом пациента, активностью АТ₁-рецептора и α_2 -адренорецептора. В таблице 3.13 представлены коэффициенты модели. Установлено, что риск развития I стадии ХИМ возрастает ($p=0,007$) при увеличении активности АТ₁-рецептора: ОШ = 3,3 (95% ДИ 1,2-18,0) на каждую единицу роста показателя (при стандартизации по возрасту пациентов и активности α_2 -адренорецептора).

Таблица 3.13.

**Характеристики трехфакторной модели логистической регрессии
прогнозирования риска ХИМ I стадии**

Факторный признак	Значение коэффициента модели, $b \pm m$	Уровень значимости Р–различия коэффициента модели от 0	Показатель отношения шансов, ОШ (95% ДИ)	Площадь под кривой операционных характеристик, AUC (95% ДИ)
Возраст	0,43 $\pm$ 0,13	0,012	0,56 (0,45-0,81)	0,901 (0,723- 0,982)
Активность АТ ₁ -рецептора	1,22 $\pm$ 0,55	0,007	3,3 (1,2-18,0)	
Активность α_2 -адренорецептора	–1,11 $\pm$ 0,29	<0,001	1,20 (1,09-2,0)	

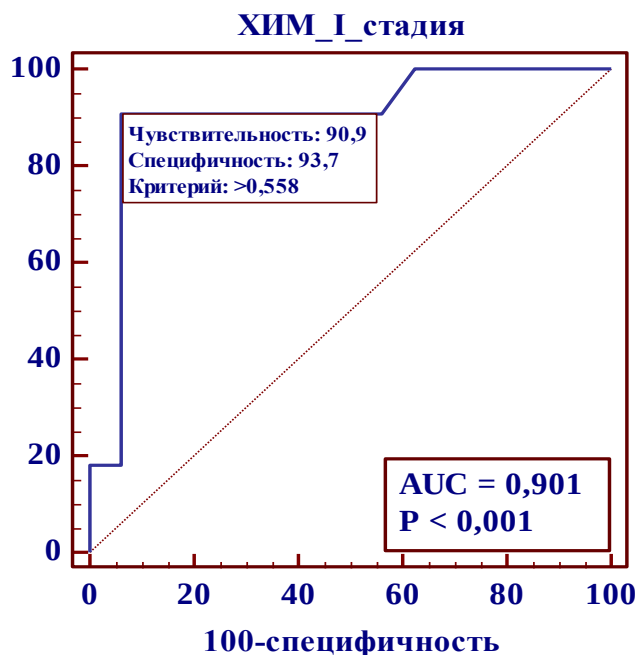


Рисунок 3.2. ROC-кривая 3-х факторной модели логистической регрессии прогнозирования риска ХИМ I стадии

Также выявлено увеличение ($p=0,012$) риска ХИМ I стадии при увеличении возраста пациентов: ОШ = 0,56 (95% ДИ 0,45-0,81) на каждые 10 лет возраста (при стандартизации по уровню активности AT_1 -рецептора и α_2 -адренорецептора.). Установлено также снижение ($p < 0,001$) риска ХИМ I стадии при увеличении MVP – ОШ = 1,20 (95% ДИ 1,09-2,0) на каждую единицу роста данного показателя (при стандартизации показателей активности AT_1 -рецептора и возраста пациентов). При выборе оптимального порога ($Y_{crit} = 0,558$) чувствительность построенной модели составляет 90,9% (95% ДИ 54,2% - 82,3%), специфичность – 93,7% (95% ДИ 84,7% - 97,8%).

3.3. Причино-следственные связи в патогенезе ХИМ I стадии

В процессе анализа причинно-следственных связей механизмов патогенеза ХИМ I стадии (Таблица 3.14) обращают на себя внимание связи возраста с рядом индикаторов гомеостаза у данного контингента больных. Так, выявлена связь между: (а) возрастом и систолическим АД ($r_{B-ADc}=0,487$; $p<0,05$); (б) возрастом и гиперсенситивностью α_2 -адренорецептора и AT_1 -рецептора (соответственно, $r_{B-\alpha AP}=0,424$ и $r_{B-AT_1}=0,529$; $p<0,05$); (в) возрастом пациентов и уровнем личной тревожности, значениями оценки памяти (соответственно, $r_{B-ЛТ}=0,500$ и $r_{B-П}=-0,405$; $p<0,05$), что согласуется с имеющиеся в литературе данными о наличии возрастных нейропсихологических и когнитивных нарушений [24;56]; (г) возрастом и количеством лейкоцитов ($r_{B-Лейкц}=0,344$), что свидетельствует о предрасположенности пожилых пациентов к развитию системной воспалительной реакции [151].

Таким образом, если судить по критериям нейропсихологического и когнитивного тестирования, то фактором риска развития ХИМ I стадии могут быть возрастные изменения метаболизма мозга (например, связанные с повышением возраста пациента на каждые 10 лет). Данные изменения могут быть обусловлены активацией РАС и САС, увеличением количества и активности лейкоцитов способных секретировать цитокины, модулирующие активность нейронов и глии.

Факт наличия корреляционных связей АД при ХИМ позволяет уточнить (а) возможные причины вазоконстрикции. Так, связь средней силы между величиной АДс и гиперсенситивностью α_2 -адренорецептора и AT_1 -рецептора (соответственно, $r_{AD-\alpha AP}=0,613$ и $r_{AD-AT_1}=0,633$; $p<0,05$) свидетельствует, что при ХИМ активация гладких миоцитов сосудистой стенки, которая и обеспечивает вазоконстрикцию, связана с обоими видами вазотропных рецепторов. В связи с описанной выше связью АД и возраста, можно прийти к заключению, что с повышением возраста именно α_2 -адренорецептор и AT_1 -рецептор являются

фактором риска АГ. (б) может ли уровень АД при ХИМ I стадии у обследованного контингента больных влиять на нейропсихологические и когнитивные нарушения? Сама по себе постановка вопроса представляется не вполне логичной, поскольку в литературе уже имеются доказательства влияния АГ на функцию головного мозга [41]. Однако выявленная корреляция между величиной АДс и показателями личностной тревожности и памяти (соответственно, $r_{\text{АД-ЛТ}}=0,607$ и $r_{\text{АД-П}}=-0,561$; $p<0,05$) свидетельствует, что (а) периодически возникающие повышения АД либо могут быть причиной тревожности пациентов, либо быть следствием изменения их психоэмоционального состояния (литература); (б) выявленная связь между повышением АД и памятью может свидетельствовать о влиянии гемодинамики на транскапиллярный обмен в мозге (по сути на трофику и метаболизм нейронов и глии), так и косвенно отражать участие α_2 -адренорецептора и AT_1 -рецептора в модуляции синаптической передачи, лежащей в основе формирования памяти [202].

Наличие корреляционной связи между тревожностью и возрастом ($r_{\text{ЛТ-В}}=0,500$; $p<0,05$) укладывается в парадигму «старения» мозга. В частности, установлено, что возрастные эмоциональные изменения регулируются миндалевидным телом и медиальной префронтальной корой, в которых происходит структурные изменения морфологии дендритов нейрона и их пространственного распределения [222]. Применительно к выяснению механизмов снижающих тревожность пациентов с ХИМ 1 стадии вызывают интерес результаты исследования [178].

Морфометрический анализ аксодендритных синапсов показал, что с возрастом уменьшается пресинаптическая площадь и количество синапсов, однако в ядре миндалевидного тела увеличивалось количество митохондрий в пресинаптической части.

Структурные основы данного компенсаторного механизма, направленные на поддержание энергообеспечения синаптической передачи при возрастных изменениях мозга, еще предстоит осмыслить, однако усиление процессов

энергообразования в митохондриях мозга может оказаться перспективной мишенью для терапевтического вмешательства на этой стадии жизни у пациентов с ХИМ 1 стадии. О чем может свидетельствовать наличие связи между тревожностью и количеством лейкоцитов в крови ($r_{\text{ЛТ-Лц}}=0,422$; $p < 0,05$)? Ответ на данный вопрос можно найти у [212], которые убедительно доказали связь системного иммунного воспаления, отражающего повышение количества нейтрофилов, тромбоцитов и лимфоцитов с оценками депрессии, и тревоги. На связь между воспалением и тревожными расстройствами указывают [113]. Нейровоспаление низкой степени тяжести было предложено как один из основных механизмов многих психических заболеваний, а также когнитивных расстройств [218].

Важную роль в этом процессе отводят провоспалительному цитокину интерлейкину 8 (IL-8), который продуцируется макрофагами и микроглией и выступает в роли хемоаттрактанта для нейтрофилов, циркулирующих в кровотоке. Наличие положительной корреляции высокой силы между количеством лейкоцитов и активностью AT_1 -рецепторов ($r_{\text{Лц-AT}_1}=0,713$; $p < 0,05$) подтверждает факт, что воспаление и РАС могут активировать друг друга, образуя петлю положительной обратной связи, которая может привести к усилению тревожности [262].

Заслуживает внимания корреляционные связи между оценкой личностной тревожности величиной систолического АД (АДс) и чувствительностью ангиотензиновых AT_1 рецепторов (соответственно $r_{\text{ЛТ-АДс}}=0,607$ и $r_{\text{ЛТ-AT}_1}=0,513$; $p < 0,05$). Наличие данной триады взаимосвязанных признаков отражает участие РАС как в развитии АГ, так и формировании поведенческих признаков тревоги [266].

Подтверждают положительную корреляция между ангиотензином II и оценками тревожности и депрессии [260]. Оставался вопрос – о возможных причинах активации РАС у пациентов с ХИМ 1 стадии и как этот механизм может быть связано с тревожностью? Вероятно, ключевую роль у данного контингента больных играет периодически возникающая стресс-реакция. В

этом случае AT_1 -рецепторы могут играть роль триггера в активации оси гипоталамус-гипофиз-надпочечники, в тоже время, ангиотензинергическая нейротрансмиссия играет ключевую роль в модуляции тревожности [218].

Выявленная корреляционная связь между показателями оценивания тревожности и памяти ($r_{\text{ЛТ-П}}=0,713$; $p<0,05$) представляет интерес в связи с поиском общих нейромедиаторных механизмов, лежащих в основе осуществления разных функций мозга. Последние исследования в этой области привели к пониманию роли пуриновой сигнализации [222]. Оказалось, что повышенная поверхностная плотность пуриновых $P2X_4$ -рецепторов в гиппокампе изменяла явления пластичности синапсов и эти клеточные события сопровождалась анксиолитическим эффектом и дефицитом памяти.

Таким образом, повышенная экспрессия $P2X_4$ -рецепторов на плазмолемме нейронов способствует синаптическому дефициту и изменениям в функциях тревоги и памяти, что согласуется с вовлечением $P2X_4$ в нейропсихиатрические и нейродегенеративные расстройства.

Наличие положительной корреляционной связи между показателями оценивания тревожности и активностью α_2 -адренорецептора ($r_{\text{ЛТ-}\alpha\text{-AP}}=0,513$; $p<0,05$), представляется несколько неожиданным, учитывая сформировавшуюся точку зрения на участии данных рецепторов в снижении тревожного поведения [26].

Причины этого феномена вероятно связаны с взаимодействием разных видов рецепторов при воспроизведении тревоги. Так, [267] показали, что ацетилхолин и норадреналин оказывают противоположное действие на поведение, связанное с тревогой и депрессией; причем передача холинергических сигналов через β_2 -содержащие холинорецепторы и норадренергические сигналы через α_2 -рецепторы в нейронах миндаливидного тела имеют решающее значение для регуляции этого поведения.

Таблица 3.14.

**Корреляционная матрица основных характеристик I стадии ХИМ
и функциональной активности рецепторов тромбоцитов**

Показатель	Возраст	АДс	ЛТ	Память	ОПКП	СОЭ	Лейко- цитоз	АТц- Ан-2	АТц- АДФ	АТц- адренал	АТц- ФАТ	АТц- коллаг
Возраст		0,487	0,500	-0,405	-0,457					0,424	0,500	
АДс	0,487		0,607	-0,378				0,633		0,613		
ЛТ	0,500	0,607								-0,703		
Память	-0,405	-0,561	0,409									
ОПКП	-0,457						-0,416			-0,572	-0,447	
СОЭ							0,452	0,575		0,468	0,406	
Лейкоцитоз	0,344		0,422	-0,389	-0,416	0,452		0,713		0,588		
АТ-Ан-2	0,529	0,501	0,513	-0,543						0,355		
АТц-АДФ				-0,456				0,804			0,440	0,549
АТ-адрен	0,424	0,476	-0,703	0,645	-0,572			0,355				
АТ-ФАТ				-0,389	-0,447	0,406		0,686	0,440	0,557		0,579
АТ-коллаг				-0,552				0,811	0,549	0,543	0,579	

Примечания: приведены значения показателей ранговой корреляции Спирмена, которые имеют статистически значимую разницу от 0 ($p < 0,05$)

Подтверждением этой гипотезы может быть и исследование [271] которые продемонстрировали взаимодействие серотонинергической и норадренергической систем мозга в патогенезе тревоги.

Наличие корреляционной связи между памятью и возрастом подтверждает тот факт, что возрастные физиологические изменения в нейронах головного мозга приводят к прогрессивному ухудшению памяти [280].

В частности, установлено, что в дорсальном гиппокампе пожилых людей, вероятно, существует дефицит зрелой формы инсулиноподобного фактора роста -2. Проведенные исследования [27] показывают, что введенный рекомбинантный ИФР-2 значительно улучшал работу гиппокампа, а, следовательно, и память. Немаловажную роль в развитии ухудшения памяти играет повышение АД, на что указывает наличие отрицательной связи ($r_{П-АД} = -0,561$; $p < 0,05$).

Церебральные кровеносные сосуды являются главной мишенью пагубного воздействия гипертонии на мозг. Возникающие в результате структурные и функциональные цереброваскулярные изменения лежат в основе многих нейропатологических аномалий, ответственных за когнитивный дефицит, включая повреждение белого вещества, микроинфаркты, микрокровоизлияния, немые инфаркты головного мозга и атрофию головного мозга. Помимо этого, стоит сказать, что ренин-ангиотензин-альдостероновая система и ангиотензин II являются ключевыми детерминантами структурных изменений при гипертонии. Это видно из корреляционных связей ($r_{АД-АТ1} = 0,633$; $p < 0,05$)

Ренин-ангиотензин-альдостероновая система является основной терапевтической мишенью у пациентов с эссенциальной или первичной гипертензией. Но так как было установлено, что концентрация ангиотензина 2 в плазме крови не повышена у людей с АГ, следует сделать вывод что это локальная продукция и передача сигналов ангиотензина II в головном мозге, сосудах и других тканях может вызывать гипертензию и связанные с ней

сосудистые изменения [37]. Нейроны также имеют все типы рецепторов ангиотензина на своей клеточной мембране.

Кроме того, у них есть внутриклеточная система ангиотензина, которая работает отдельно. Было показано, что нейроны имеют внутриклеточную РАС включая AT_1R , AT_2R и MasR в их митохондриях и ядрах [97]. Сверхактивация оси Ang II / AT_1R оказывает множество пагубных эффектов на мозг, таких как гипертония, нейровоспаление, повышенный окислительный стресс, нарушение ГЭБ и нейротоксичность. Активация нейронов AT_1R in situ или в срезах мозга может увеличивать скорость возбуждения нейронов в определенных областях мозга [113, 118]. Ось Ang II / AT_1R усиливает высвобождение симпатических нейромедиаторов в центральной нервной системе.

В частности, облегчается высвобождение вазопрессина, дофамина и норадреналина. Кроме того, в исследованиях изучались эффекты b-RAS оси Ang II / AT_1R на ингибирующие ГАМК и возбуждающие передатчики глутамата. Было показано, что ось Ang II / AT_1R снижает ГАМК и усиливает высвобождение глутамата [100, 109].

Выявленная связь между памятью и личностной тревожностью только подтверждает тот факт, что данные патологические состояния могут развиваться как независимо друг от друга, так и вместе на фоне дегенеративных изменений в мозге. В литературе есть убедительные данные свидетельствующие о том, что ухудшение памяти повышает тревожный фон пациентов с нейродегенеративными заболеваниями в мозге.

Одним из механизмов влияния старения на когнитивные функции может быть воспалительная дисрегуляция [112, 209]. Подтверждением этой гипотезы может быть наличие отрицательной корреляции между значениями нейрокогнитивных тестов и системной воспалительной реакции ($r_{\text{память-лейкоцитоз}} = -0,389$).

Установлено, что даже непатологическое старение мозга может включать хронический окислительный и воспалительный стресс, который

нарушает связь и баланс между мозгом и иммунной системой, при этом микроглия и астроциты, резидентные иммунные клетки центральной нервной системы (ЦНС), оказывают неблагоприятное воздействие на функционирование нейронов коры мозга [179]. Особого внимания заслуживает обнаруженная связь индикатора памяти и активности α_2 -адренорецептора ($r_{\text{память-}\alpha_2\text{AP}}=0,645$). Наличие положительной связи можно трактовать как проявление адаптационной реакции, направленной на улучшение когнитивных функций. В настоящее время имеются доказательства снижения дефицита памяти при стимуляции кортикальных α_2 A-адренорецепторов [43].

. Наличие корреляции средней силы между индикатором памяти в тесте MMSE и активностью P2Y-рецепторы ($r_{\text{память-P2Y}}=-0,456$) отражает роль пуринаргического сигнального пути играет в нейротрансмиссии и нейромодуляции, которые участвуют в различных нейродегенеративных заболеваниях и психических расстройствах [147, 275]. К возможным причинам нейрокогнитивных нарушений при ХИМ I стадии можно отнести наличие хронической воспалительной реакции ($r_{\text{память-ФАТ}}=-0,389$) и ремоделирование сосудистой стенки ($r_{\text{память-GP-VI}}=-0,552$), что подтверждает целесообразность поиска новых таргетных мишеней для фармакологической коррекции когнитивной дисфункции у пациентов с нарушением мозгового кровообращения [98, 157].

В этом контексте просматривается роль ФАТ, который являясь мощным провоспалительным липидным посредником, играет ключевую роль в нейровоспалительных процессах и нервно-психических расстройствах через специфический ФАТ-рецептор [56, 81]. Показано, что данный рецептор опосредует дофаминергическую дегенерацию нейронов посредством NF- κ B-зависимого процесса передачи сигналов [90]. Приведенные в литературе факты [104] свидетельствуют, что ремоделирование стенки микрососудов способствует когнитивным нарушениям вследствие увеличения проницаемости ГЭБ.

Анализ взаимодействия рецепторов позволяет оценить участие разных факторов риска в патогенезе нейропсихологических и нейрокогнитивных нарушений при ХИМ I стадии. Наличие корреляции между активностью АТ₁-рецептора и Р2У-рецепторов, α₂-адренорецептора, ФАТ-рецептора и GP-VI – рецептора (соответственно, $r_{\text{AT}_1-\text{P2Y}}=0,804$; $r_{\text{AT}_1-\alpha_2\text{AP}}=0,355$; $r_{\text{AT}_1-\text{ФАТ}}=0,686$ и $r_{\text{AT}_1-\text{GP-VI}}=0,811$), а также – лейкоцитозом ($r_{\text{AT}_1-\text{Лц}}=0,713$) отражает связь РАС с ишемией мозга [89], активацией САС [65], тяжестью системной воспалительной реакции, нейровоспалением [134], ремоделированием стенки сосудов и повышением проницаемости ГЭБ [67].

Ведущей причиной гиперреактивности α₂-адренорецепторов может быть взаимодействие с АТ₁-рецептором на клетках мишенях ($r_{\alpha_2\text{AP}-\text{AT}_1}=0,355$), что связано с потенцированием эффектов сигнальных путей, ассоциированных с Gi- -Gq белками [88]. Активация САС связана с реализацией воспаления, в том числе нейровоспаления, путем формирования тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов ($r_{\alpha_2\text{AP}-\text{Лц}}=0,588$ и $r_{\alpha_2\text{AP}-\text{ФАТ}}=0,557$) [1]. Как следствие, активация лейкоцитов может индуцировать ремоделирование стенки сосудов ($r_{\alpha_2\text{AP}-\text{Лц}}=0,543$) и развитие эндотелиальной дисфункции [55].

Связь активности ФАТ-рецепторов Тц с основными характеристиками ХИМ позволяет констатировать, что факторами риска развития воспаления при I стадии ХИМ может быть – пожилой возраст ($r_{\text{ФАТ-В}}=0,500$). Нормореактивность ФАТ-рецептора и сила связи с α₂-адренорецептором и пуринергическими Р2У-рецепторами ($r_{\text{ФАТ}-\alpha_2\text{AP}}=0,557$; $r_{\text{ФАТ}-\text{АДФ}}=0,440$) свидетельствует, что при I стадии ХИМ активация нейтрофилов, как продуцентов ФАТ, в большей степени определяется состоянием САС, чем ишемией мозга.

Причем ФАТ-индуцированная активность нейтрофилов связана с ремоделированием БМ микрососудов ($r_{\text{ФАТ-GPVI}}=0,579$), что подтверждает участие лейкоцитов в изменении состава и удельного объема ВКМ [89]. Выявленная сила корреляционной связи между активностью GP-VI-рецепторов и α₂-адренорецептора ($r_{\text{GPVI}-\alpha_2\text{AP}}=0,543$), АТ₁-рецептора ($r_{\text{GPVI}-\text{AT}_1}$)

=0,811), свидетельствует о доминирующем влиянии РАС по сравнению с САС в ремоделировании БМ сосудов [66], что может быть связано стимуляцией микроглии [32].

Полученные результаты позволяют создать концепцию формирования нейropsychологических и нейрокогнитивных нарушений при ХИМ I стадии.

В результате анализа выявлено три признака, сильно связанных с развитием ХИМ I стадии: возраст пациента, активность α_2 -адренорецептора и АТ₁-рецептора.

Возрастные изменения метаболизма мозга, связанные с активацией РАС и САС могут рассматриваться как фактор риска развития ХИМ I стадии. Одновременное повышение активности α_2 -адренорецептора и АТ₁-рецептора, регулирующих сосудистый тонус, провоцирует *снижение* кровотока в мелких артериях и артериолах мышечного типа, которое может нивелироваться механизмами ауторегуляции мозгового кровообращения. Наличие у пациентов с ХИМ I стадии адренергического фенотипа Тц, в котором доминирующим является активность α_2 -адренорецептора, свидетельствует о высокой адренореактивности организма, связанной с активацией САС. У данного контингента пациентов также имела место гиперреактивность ангиотензинового АТ₁-рецептора, связанная с активацией РАС.

Индикаторами развития ХИМ I стадии является развитие личностной тревожности, что может быть связано с (Таблица 3.15., 3.16.):

- периодически возникающем повышении АД; установленные корреляционные связи с обоими вазотропными рецепторами лишь доказывают их участие в развитии АГ и возникновении тревоги.

- активацией РАС, которая, вероятно, связана с периодически возникающей стресс-реакцией. В этом случае АТ₁-рецепторы могут играть роль триггера в активации оси гипоталамус-гипофиз-надпочечники, в тоже

время, ангиотензинергическая нейротрансмиссия играет ключевую роль в модуляции тревожности [76].

- активацией САС. Хотя литературные данные подтверждают обратное, можно сделать вывод что развитие тревожности у пациентов с ХИМ I стадии вероятно, связаны с взаимодействием разных рецепторов при воспроизведении тревоги. Так, норадреналин и ацетилхолин оказывают противоположное действие на поведение, связанное с тревогой и депрессией; причем передача холинергических сигналов через β_2 -содержащие холинорецепторы и норадренергические сигналы через α_2 -рецепторы в нейронах миндаливидного тела имеют решающее значение для регуляции этого поведения.

Учитывая отсутствие у данной когорты больных каких-либо изменений в мозге при инструментальных методах исследования стоит предположить, что выявленная нами гиперактивность α_2 -адренорецептора может рассматриваться как компенсаторный нейропротекторный механизм на начальных этапах развития церебральной ишемии.

Выявленная триада взаимодействий между АД, активностью AT_1 -рецепторов и личностной тревожностью может свидетельствовать о влиянии гемодинамики на транскапиллярный обмен в мозге (по сути на трофику и метаболизм нейронов и глии), так и косвенно отражать участие AT_1 -рецептора в модуляции синаптической передачи.

Таблица 3.15.

Биологические эффекты стимуляции – α_2 -адренорецепторов и возможные взаимодействия с другими рецепторами в патогенезе I стадии ХИМ



Таблица 3.16.

Биологические эффекты стимуляции AT₁-рецепторов и возможные взаимодействия с другими рецепторами в патогенезе I стадии ХИМ

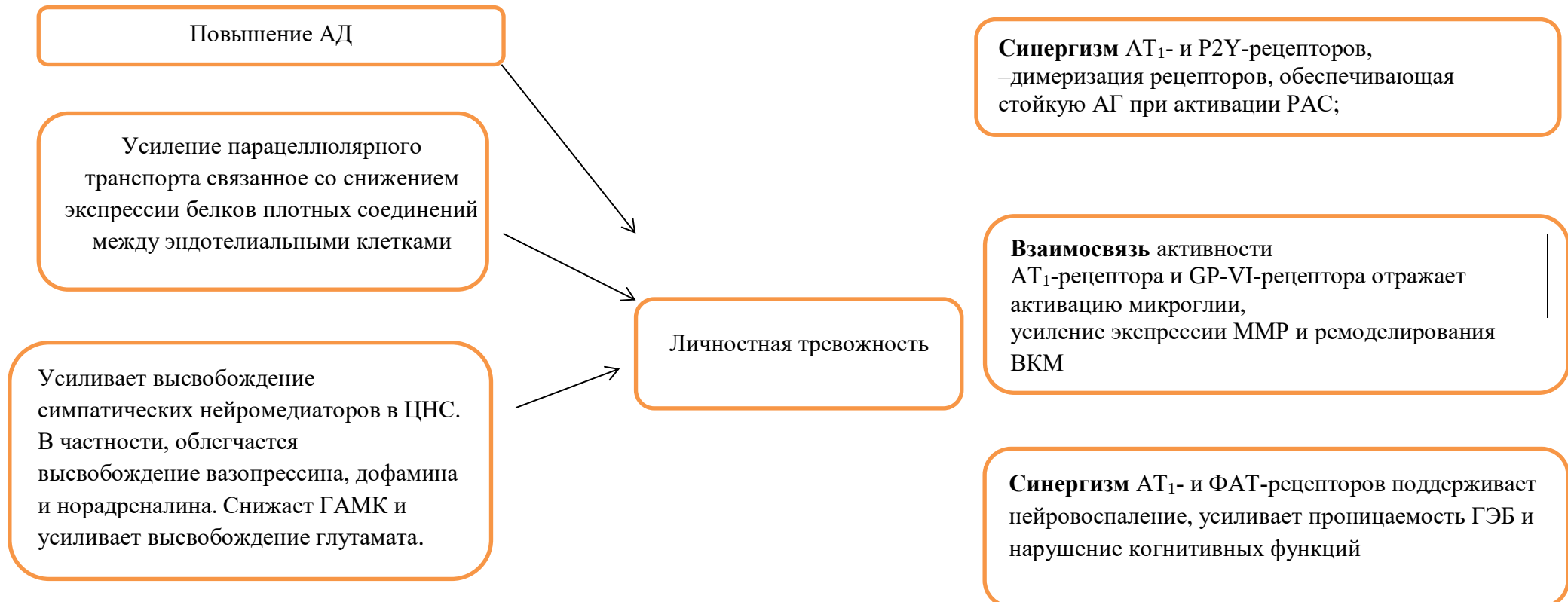


Схема патогенеза ХИМ I стадии

Факторы риска

Пожилой возраст, артериальная гипертензия

Патогенетические каскады

Повышение активности РАС

Повышение активности САС

Увеличение концентрации ангиотензина II

Повышение функциональной активности Тц,

Изменение нейромедиаторного обмена

Активация AT₁-рецепторов на нейронах и глии

Тц как связующее звено между кровью и мозгом

ацетилхолин и норадреналин оказывают противоположное действие на нейроны

Ось Ang II / AT₁R усиливает высвобождение симпатических нейромедиаторов в ЦНС

Ось Ang II / AT₁R снижает ГАМК и усиливает высвобождение глутамата

передача холинергических сигналов через β 2-содержащие холинорецепторы и норадренергические сигналы через α 2a-рецепторы в нейронах миндаливидного тела

Нейропротекторный эффект

Личностная тревожность



ГЛАВА 4

ПАТОГЕНЕЗ II СТАДИИ ХРОНИЧЕСКОГО НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

4.1. Клинико-лабораторная характеристика пациентов с II стадией ХИМ

По результатам клинико-инструментального обследования пациентов II стадия ХИМ диагностирована у 37 пациентов, средний возраст – $69,5 \pm 2,1$ лет (ДИ 65,1-73,9). Максимальное количество больных - 28 (75,7%) находились в возрастном диапазоне 60-80 лет. Распределение пациентов по полу и возрасту представлено на рисунке 4.1. В исследованной группе было 23 женщины, средний возраст – $70,4 \pm 2,7$ года (ДИ 64,4 - 76,4 года) и 14 мужчин в возрасте $68,5 \pm 3,5$ года (ДИ 60,4 - 76,6 года) (Рисунок 4.1.). У больных с ХИМ II стадии наиболее частыми жалобами были головная боль, головокружение, расстройство сна, снижение фона настроения, парестезии (Таблица 4.1).

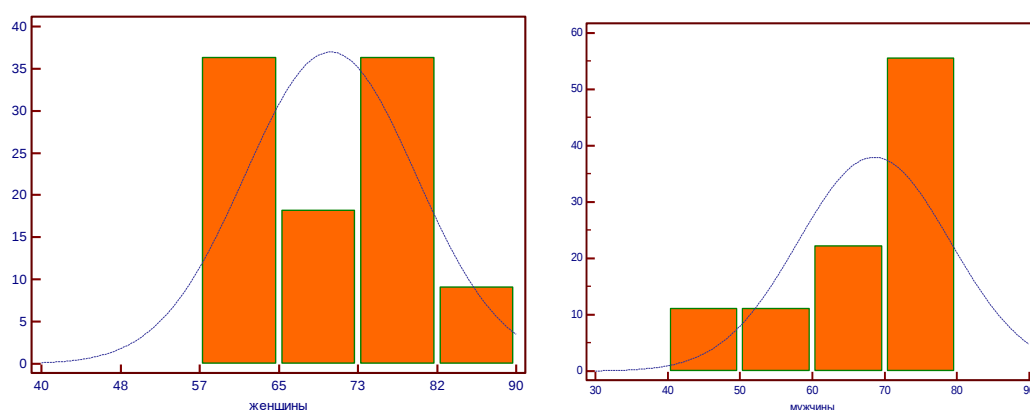


Рисунок 4.1. Гендерная и возрастная характеристика пациентов с ХИМ II стадии

Примечание: по оси абсцисс- возраст пациентов, по оси ординат количество пациентов соответствующего возраста (в %).

Таблица 4.1.

**Характеристика жалоб и неврологического статуса у пациентов
с ХИМ II стадии**

Показатели	ХИМ (n=37)
Жалобы	
Головная боль	35 (94,6± 3,7%)
Расстройство сна	27 (73±7,3%)
Снижение фона настроения	25 (67,6±7,7%)
Снижение памяти	17 (45,9±8,2%)
Раздражительность	22 (59,5±8,1%)
Головокружение	27 (73±7,3%)
Шаткость походки	12 (32,4±7,7%)
Повышение АД	22 (59,5±8,1%)
Парестезии	5 (13,5±5,6%)
Неврологический статус	
Нарушение сознания	5 (13,5±5,6%)
Нарушение ориентации	5 (13,5±5,6%)
Нарушение речи (дизартрия)	5 (13,5±5,6%)
Асимметрия глазных щелей	22 (59,5±8,1%)
Анизокория	8 (21,6±6,8%)
Нистагм	8 (21,6±6,8%)
Слабость конвергенции	32 (86,5±5,6%)
Девияция языка	2 (5,4±3,7%)
Нарушение глотания	2 (5,4±3,7%)
Снижение мышечной силы	5 (13,5±5,6%)
Повышение мышечного тонуса	5 (13,5±5,6%)
Гипокинезия	5 (13,5±5,6%)
Повышение рефлексов рук	25 (67,6±7,7%)
Повышение коленных рефлексов	25 (67,6±7,7%)
Повышение ахилловых рефлексов	17 (45,9±8,2%)
Патологические стопные знаки	9 (60,0±12,6%)
Проба Баре	0
Неустойчивость в позе Ромберга	22 (59,5±8,1%)
Нарушения при пальце-носовой пробе	25 (67,6±7,7%)
Патологические кистевые знаки	10 (27±7,3%)
Нарушение чувствительности	8 (21,6±6,8%)
Ригидность	5 (13,5±5,6%)
Тремор	2 (5,4±3,7%)

При исследовании неврологического статуса наиболее часто выявлялись поражения черепно-мозговых нервов (слабость конвергенции, асимметрия лица и глазных щелей) и нарушения в двигательной сфере (повышение сухожильных рефлексов с рук, коленных и ахилловых рефлексов, появление патологических стопных кистевых знаков). У 4 (10,8%) больных был повышен тонус мышц по пирамидному типу, у 3 (8,1%) – экстрапирамидные нарушения. Статические нарушения обнаружены у 21 (56,8%) пациента с ХИМ II стадии, которые проявлялись шаткостью в позе Ромберга, неустойчивостью в "сенсibilизированной" позе Ромберга, а также неуверенностью и пошатыванием при ходьбе. Паркинсонический синдром диагностирован у 3 (8,1%) больных. Нарушение чувствительности выявлялись у 26 (43,2%) больных. Таким образом, для больных ХИМ II стадии характерны пирамидный (23 пациента; 62,2%), вестибуло-атактический (27 пациентов; 73,0%) и паркинсонический (3 пациента; 8,1%) синдромы. Прогрессирование ХИМ от I к II стадии проявлялось снижением памяти и раздражительностью, увеличением частоты нарушений в координаторной деятельности (неустойчивость в позе Ромберга, дискоординация при выполнении пальце-носовой пробы), гипокинезией, ригидностью и тремором, а также нарушением чувствительности (Таблица 4.2).

При оценке полученных результатов по шкале самооценки Спилбергера и госпитальной шкале тревоги и депрессии (HADS) у 23 (62,2%) больных ХИМ выявлена тревожно-депрессивная симптоматика, которая проявлялась усталостью, снижением фона настроения, нарушением сна, нервным напряжением, двигательной заторможенностью, которая сменялась состояниями двигательного и эмоционального возбуждения. Доминировала умеренная тревожность; личностная тревога была выше реактивной ($p > 0,05$),

Тревожные состояния часто сопровождалась вегетативной симптоматикой в виде приступов тахикардии, кардиалгии, эмоциональной лабильности, расстройством работы пищеварительного тракта (Таблица 4.3).

Таблица 4.2.

**Динамика индикаторов неврологического статуса у пациентов при
прогрессировании ХИМ**

Показатели	ХИМ I стадия (n=27)	ХИМ II стадия (n=37)
Жалобы		
Головная боль	25 (100%)	34 (91,9±4,5%)
Расстройство сна	24 (96,0±3,9%)	27 (73,0±7,3%)
Снижение фона настроения	22 (88,0±6,5%)	23 (62,2±8,0%)
Снижение памяти	3 (12,0±6,5%)	19 (51,4±8,2%**)
Раздражительность	15 (60,0±9,8%)	24 (64,9±7,8%)
Головокружение	15 (60,0±9,8%)	28 (75,7±7,1%)
Шаткость походки	6 (24,0±8,50%)	13 (35,1±7,8%)
Повышение АД	15 (60,0±9,8%)	24 (64,9±7,4%)
Парестезии	13 (52,0±10,0%)	11 (29,7±7,5%)
Неврологический статус		
Нарушение ориентации	2 (8,0±5,4%)	5 (13,5±5,6%)
Нарушение речи (дизартрия)	0	5 (13,5±5,6%)
Асимметрия глазных щелей	10 (40,0±9,8%)	21 (56,8±8,1%)
Анизокория	5 (20,0±8,0%)	7 (18,9±6,4%)
Нистагм	2 (8,0±5,4%)	8 (21,6±6,8%)
Слабость конвергенции	17 (68,0±9,3%)	29 (78,4±6,8%)
Асимметрия лица	22 (88,0±6,5%)	33 (89,2±5,1%)
Девияция языка	1 (4,0±3,9%)	3 (8,1±4,5%)
Нарушение глотания	1 (4,0±3,9%)	2 (5,4±3,7%)
Снижение мышечной силы	3 (12,0±6,5%)	8 (21,6±6,8%)
Повышение мышечного тонуса	2 (8,0±5,4%)	4 (10,8±5,1%)
Гипокинезия	0	3 (8,1±4,5%)
Повышение рефлексов рук	17 (68,0±9,3%)	23 (62,2±8,0%)
Повышение коленных рефлексов	19 (76,0±8,5%)	19 (51,4±8,2%)
Повышение ахилловых рефлексов	16 (64,0±9,6%)	15 (40,5±8,1%)
Патологические стопные знаки	14 (56,0±9,9%)	21 (56,8±8,1%)
Патологические кистевые знаки	3 (12,0±6,5%)	14 (37,8±8,0%)
Проба Баре	0	2 (5,4±3,7%)
Неустойчивость в позе Ромберга	5 (20,0±8,0%)	21 (56,8±8,1%*)
Нарушения пальце-носовой пробы	5 (20,0±8,0%)	21 (56,8±8,1%*)
Нарушение чувствительности	4 (16,0±7,3%)	16 (43,2±8,1%*)
Ригидность	0	3 (8,1±4,5%)
Тремор	0	1 (2,7±2,7%)

Примечание: * - достоверность различий при ХИМ II стадии относительно I стадии на уровне $p < 0,05$; ** - на уровне $p < 0,01$; *** - на уровне $p < 0,001$.

Тревожные состояния часто сопровождались вегетативной симптоматикой в виде приступов тахикардии, кардиалгии, эмоциональной лабильности, расстройством работы пищеварительного тракта (Таблица 4.3.). Уровень депрессии и тревоги по шкале HADS у 29 (78,4%) пациентов преобладала субклинически выраженная тревога/депрессия.

Таблица 4.3.

**Характеристика депрессии и тревоги у больных с ХИМ II стадии
(значения тестов в баллах)**

Тесты	ХИМ
Реактивная тревожность (тест Спилбергера)	39,8±2,1
Личностная тревожность (тест Спилбергера)	45,3±1,1 p<0,05
Уровень тревоги и депрессии (HADS)	8,6±1,4

При оценке полученных результатов по шкале самооценки Спилбергера и госпитальной шкале тревоги и депрессии (HADS) у 23 (62,2%) больных ХИМ выявлена тревожно-депрессивная симптоматика, которая проявлялась усталостью, снижением фона настроения, нарушением сна, нервным напряжением, двигательной заторможенностью, которая сменялась состояниями двигательного и эмоционального возбуждения. Доминировала умеренная тревожность; личностная тревога была выше реактивной (p<0,05), Тревожные состояния часто сопровождались вегетативной симптоматикой в виде приступов тахикардии, кардиалгии, эмоциональной лабильности, расстройством работы пищеварительного тракта (табл. 4.3). Уровень депрессии и тревоги по шкале HADS у 29 (78,4%) пациентов преобладала

субклинически выраженная тревога/депрессия. При сравнительной характеристике тревоги и депрессии у больных с I и II стадией ХИМ показатель реактивной тревожности был достоверно выше у II стадии ХИМ ($p<0,01$) (Таблица 4.4.).

Таблица 4.4

**Сравнительная характеристика тревоги и депрессии
при прогрессировании ХИМ (значения тестов в баллах)**

Тесты	ХИМ I стадия (n=27)	ХИМ II стадия (n=37)
Реактивная тревожность (тест Спилбергера)	30,3±1,5	39,8±2,1 $p<0,01$
Личностная тревожность (тест Спилбергера)	41,2±2,3	45,3±1,1
Уровень тревоги и депрессии (HADS)	7,5±1,9	8,6±1,4

У пациентов с ХИМ II стадии выявлено наличие легких когнитивных нарушений - общий показатель когнитивной продуктивности находился в пределах $26,3 \pm 0,3$ балла, что было несколько ниже ($p=0,006$) по сравнению с таковым у пациентов с ХИМ I стадии (Таблица. 4.5).

Для пациентов было характерно снижение скорости выполнения лобно-исполнительных функций, которые проявлялись замедлением обработки информации, снижением рабочей памяти и способности к переключению с одного вида деятельности на другой, больные отмечали трудности концентрации внимания. При тестировании выявлена психомоторная замедленность и снижение скорости реакций.

По шкале МоСА-теста при ХИМ II стадии у 10 (66,7%) пациентов показатель находился в диапазоне 24,0-25,0 балла ($24,6 \pm 1,5$ балла), у 4 (26,7%) - в диапазоне 19,0-23,0 ($22,0 \pm 1,8$ балла), и только у 1 (2,7%) достигал 26 баллов. Батарея тестов лобной дисфункции выявила снижение общей психической активности, памяти, речевой активности и динамического праксиса. Так у пациентов с ХИМ средний балл тестирования составил $17,5 \pm 1,4$ баллов.

Таблица 4.5.

Результаты нейрокогнитивного тестирования пациентов по шкале MMSE при прогрессировании ХИМ (значения показателей в баллах)

Показатели когнитивной функции	ХИМ I стадия (n=27)		ХИМ II стадия (n=37)	
	$\bar{X} \pm SD$	Размах (Min – Max)	$\bar{X} \pm SD$	Размах (Min – Max)
Ориентация	$9,12 \pm 0,13$	8,0-10,0	$9,13 \pm 0,10$	8,0-10,0
Память	$5,28 \pm 0,12$	4,0-6,0	$5,08 \pm 0,09$	4,0-6,0
Счетные операции	$4,72 \pm 0,12$	3,0-5,0	$4,54 \pm 0,09$	4,0-5,0
Перцептивно-гностичные функции	$8,04 \pm 0,31$	4,0-9,0	$7,43 \pm 0,12$	6,0-9,0
ОПКП	$27,6 \pm 0,4$	24,0-30,0	$26,3 \pm 0,3$ P=0,006	23,0-29,0

При нейровизуализации головного мозга у пациентов с ХИМ II стадии выявлена тенденция к увеличению множественных очагов поражения мозга (табл. 3.20). Были выявлены морфологические изменения головного мозга

которые проявлялись в увеличении количества и размеров очагов, расширением желудочков, подбололочечных пространств и смещением структур мозга; появлением извитости экстракраниальных сосудов (Таблица 4.6.).

Результаты дуплексного сканирования сосудов шеи и головы у пациентов с I-II стадией свидетельствуют, что фактором риска прогрессирования заболевания может быть снижение мозгового кровотока, связанное с атеросклерозом сосудов головного мозга (Таблица 4.7.).

Таблица 4.6.

**Индикаторы морфологических изменений головного мозга при МРТ
исследовании у пациентов с I и II стадией ХИМ.**

Показатели	ХИМ I стадия (n=27)	ХИМ II стадия (n=37)
	Частота выявления признака	
Очаговое поражение головного мозга сосудистого генеза	8 (32,0±9,3%)	7 (18,9±6,4%)
Множественные очаги поражения головного мозга	5 (20,0±8,0%)	11 (29,7±7,5%)
Наличие очагов предыдущих инсультов	2 (8,0±5,4%)	3 (8,1±4,5%)
Смещение срединных структур	8 (32,0±9,3%)	10 (27,0±7,3%)
Расширение желудочков мозга	6 (24,0±8,5%)	5 (13,5±5,6%)
Расширение подбололочечных пространств	3 (12,0±6,5%)	3 (8,1±4,5%)
Извитость экстракраниальных артерий	3 (12,0±6,5%)	4 (10,8±5,1%)

Таблица 4.7.

**Сравнительная характеристика мозгового кровотока по данным
ультразвуковой доплерографии у пациентов при прогрессировании
ХИМ.**

Показатели	II стадия ХИМ (n=37)	I стадия ХИМ (n=27)
Признаки стенозирующего атеросклероза	19	6
Утолщение комплекса интима-медиа (более 1,1мм с частичной потерей дифференциации на слой) экстракраниальных сосудов	20	13
Асимметрия кровотока в общей сонной артерии	8	4
Асимметрия кровотока во внутренней сонной артерии	4	0
Асимметрия кровотока в позвоночной артерии	23	10
Признаки нестабильности артериального давления	30 $P_{2-1}=0,042$	10
Нарушение скорости кровотока по экстракраниальным артериям	13	7

При прогрессировании ХИМ от I к II стадии не выявлено статистически значимых различий частоты коморбидной патологии

сердечно-сосудистой системы (Таблица. 4.8.). Несмотря на увеличение частоты выявления гипертрофии левого желудочка при ХИМ, величина фракции выброса желудочка находилась в диапазоне референсных значений.

Таблица 4.8.

Сравнительная характеристика частоты коморбидности ХИМ с патологией сердечно-сосудистой системы у пациентов

Коморбидная патология	I стадия ХИМ (n=27)		II стадия ХИМ (n=37)	
	Абс	%	Абс	%
ИБС	3	12,0±6,5	4	10,8±5,1
АГ 1 ст	11	44,0±9,9	9	24,3±7,1
АГ 2 ст	12	48,0±10,0	24	64,9±7,8
АГ 3 ст.	2	8,0±5,4	4	10,8±5,1
Нарушения ритма сердца	2	8,0±5,4	3	8,1±4,5
СН1	18	72,0±9,0	18	48,6±8,2
СН2А	7	28,0±9,0	10	27,0±7,3
ИМ в анамнезе	3	12,0±6,5	3	8,1±4,5
Инсульт в анамнезе	1	4,0±3,9	2	5,4±3,7
Остеохондроз шейного отдела позвоночника	18	72,0±9,0	20	54,1±8,2
Гипертрофия ЛЖ	10	40,0±9,8	14	37,8±8,0

У данного контингента больных прогрессирование от I ко II стадии ХИМ не сопровождалось нарушением центральной гемодинамики (Таблица 4.9.). Несмотря на увеличение частоты выявления гипертрофии левого

желудочка при ХИМ II стадии, величина фракции выброса желудочка находилась в диапазоне референсных значений.

При анализе крови у пациентов с ХИМ II стадии по сравнению с I стадией заболевания обращает на себя внимание снижение количества циркулирующих моноцитов на 28,4% ($p < 0,001$) (Таблица 4.10.).

При ХИМ II стадии у пациентов выявлен более высокий уровень общего холестерина, ЛПНП и индекса атерогенности (Таблица 4.11.), что подтверждает риск развития атеросклероза.

Таблица 4.9.

**Основные показатели центральной гемодинамики
у пациентов с ХИМ II стадии**

Показатель	ХИМ (n=37)	
	Me, %	Q _I – Q _{III}
СД, мм.рт. ст.	140,0±5,6	130,-160,0
ДД, мм.рт ст,	100,0±2,1	95,0-100,0
ЧСС, уд/мин	66,5±2,9	66,0-74,0
Фракция выброса ЛЖ (%)	66,0±2,7	62,0-76,0

Таким образом, у пациентов с II стадией ХИМ основу клинической картины составили пирамидный, вестибуло-атактический, паркинсонический синдромы и когнитивные нарушения, которые проявлялись: а) поражением черепно-мозговых нервов и нарушениями в двигательной сфере (повышением сухожильных рефлексов и появлением патологических

стопных кистевых знаков); б) шаткостью в позе Ромберга, неустойчивостью в "сенсibilизированной" позе Ромберга, а также неуверенностью и пошатыванием при ходьбе; в) наличием тревожно-депрессивной симптоматики; при этом доминировала умеренная тревожность, личностная тревога была выше реактивной; (г) снижением общей психической активности, памяти, речевой активности и динамического праксиса.

Таблица 4.10.

Характеристика гемограммы у пациентов с ХИМ II стадии

Показатели	ХИМ (n=37)	
	$\bar{x} \pm SD$	Min – Max
Тромбоциты, $\times 10^9$	290,3 $\pm$ 22,7	179,0-342,0
MVP, fl	8,9 $\pm$ 0,2	8,0-10,5
Hb, г/л	142,7 $\pm$ 3,6	124,0-168,0
Эритроциты, $\times 10^{12}$	4,55 $\pm$ 0,2	3,8-5,2
СОЭ, мм/ч	10,1 $\pm$ 1,5	2,0-26,0
Лейкоциты, $\times 10^9$	6,9 $\pm$ 0,5	3,7-9,4
ПЯ лейкоциты, %	3,3 $\pm$ 0,6	1,0-6,0
СЯ лейкоциты, %	63,7 $\pm$ 2,5	51,0-76,0
Эозинофилы, %	1,7 $\pm$ 0,4	0-4,0
Моноциты, %	5,90 $\pm$ 0,41	4,0-8,0
Лимфоциты, %	25,5 $\pm$ 3,1	12,0-41,0

Таблица 4.11.

Индикаторы метаболизма белков и липидов у пациентов с ХИМ II стадии

Показатели	ХИМ (n=37)	
	$\bar{x} \pm SD$	Размах (Min –Max)
Мочевина, ммоль/л	6,9±0,7	3,7-11,9
Креатинин, мкмоль/л	91,0±5,0	64,0-130,0
Общий холестерин, ммоль/л	5,04±0,25	3,72-6,50
Триглицериды, ммоль/л	1,64±0,28	0,69-3,83
β-липопротеиды (ЛПНП, г/л)	3,07±0,25	2,12-4,20
Индекс атерогенности	3,05±0,27	

При клинико-инструментальном обследовании обращает на себя внимание увеличение ($p > 0,05$), множественных очагов поражения мозга, признаков стенозирующего атеросклероза, утолщение комплекса интима-медиа и экстракраниальных сосудов, что отражает снижение мозгового кровотока, связанное с атеросклерозом сосудов головного мозга. В этом контексте особый интерес представляет поиск информативных показателей, отражающих молекулярные механизмы органических изменений в мозге, когнитивных нарушений и развития тревоги у пациентов с II стадией ХИМ.

4.2. Диагностические возможности анализа функциональной активности рецепторов тромбоцитов при ХИМ II стадии

Исследовательский вопрос - отличается ли активность рецепторов Тц при ХИМ II стадии? Ответ на данный вопрос позволяет оценить степень участия факторов риска ХИМ в развитии II стадии заболевания. Проведенное исследование выявило гиперреактивность исследованных рецепторов, причем наиболее выраженный эффект воспроизводил Ан-2 (Таблица 4.12.).

Таблица 4.12.

Индукцированная агрегация тромбоцитов у пациентов с ХИМ II стадии (n=37)

Агонист	Среднее значение АТц (%), $\bar{X} \pm SD$	Размах (Min –Max)	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
Ан-2 (1,0 мкМ)	70,6±0,8	58,0-80,0	68,9	72,3
Адреналин (5,0 мкМ)	67,6±0,7 $P_{\text{Ан-2}}=0,008$	56,0-77,0	66,3	69,0
АДФ (5 мкМ)	61,6±0,8 $P_{\text{адреналин}}<0,001$	54,0-75,0	59,9	63,4
ФАТ (150,0 мкМ)	57,6±0,9 $P_{\text{АДФ}}=0,001$	48,0-70,0	55,8	59,3
Коллаген (1,0 мг/мл)	57,5±1,0	47,0-69,0	55,4	59,7

Примечание. Р – вероятность различий АТц относительно эффекта предыдущего агониста

Кластер активности рецепторов может быть представлен следующим образом: активность AT_1 -рецептора > активности α_2 -адренорецептора > активности $P2Y$ -рецепторов > активности ФАТ-рецептора = активности $GP VI$ -рецептора. Полученные результаты свидетельствуют, что факторами риска развития II стадии ХИМ остаются активация САС и РАС. Это может быть связано с развитием вазоконстрикции при стимуляции AT_1 -рецептора и α_2 -адренорецептора на ГМК артериол микроциркуляторного русла мозга.

Таким образом, стереотипными механизмами развития ХИМ являлась активация САС и РАС, поскольку при прогрессировании заболевания сохранялась гиперреактивность α_2 -адренорецептора и AT_1 -рецептора (Таблица 4.13.).

Таблица 4.13.

Индикаторы индуцированной АТц (%) при прогрессировании ХИМ

Индуктор АТц	I стадия ХИМ (n=27)		II стадия ХИМ (n=37)	
	$\bar{X} \pm m$	Min–Max _I	$\bar{X} \pm m$	Min–Max _I
Адреналин (5,0 мкМ)	70,2±0,9	66,0-74,0	67,6±0,7	56,0-77,0
АДФ (5 мкМ)	49,7±0,9	45,0-53,0	61,6±0,8 P<0,001	54,0-75,0
Ан-2 (1,0 мкМ)	62,5±1,3	57,0-70,0	70,6±0,8 P<0,001	58,0-80,0
ФАТ (150,0 мкМ)	49,9±0,8	46,0-54,0	57,6±0,9 P=0,002	48,0-70,0
Коллаген (1,0 мг/мл)	53,6±1,1	49,0-62,0	57,5±1,0	47,0-69,0

Примечание. Р – вероятность различий АТц относительно эффекта предыдущего агониста.

Обращает на себя внимание появление при II стадии ХИМ гиперреактивности P2Y-рецепторов ($P < 0,001$), что, может свидетельствовать о нарастании гипоксии/ишемии мозга.

Метод построения однофакторных моделей логистической регрессии подтвердил, что фактором риска прогрессирования ХИМ является нарушение мозгового кровообращения. При выборе оптимального порога принятия решения (по Youden Index) установлен критический порог АДФ-индуцированной АТц (АДФcrit) на уровне 54% (Рисунок 4.2.). При значении показателя АДФcrit $>54\%$ у пациента имела место ХИМ II стадия, а при значении АДФcrit $<54\%$ – I стадия заболевания. Для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста составляет 93,3% (95% ДИ 68,1%-99,8%) и специфичность – 60% (95% ДИ 26,2%-87,8%). Площадь под кривой операционных характеристик $AUC = 0,830$ (95% ДИ 0,627 – 0,949).

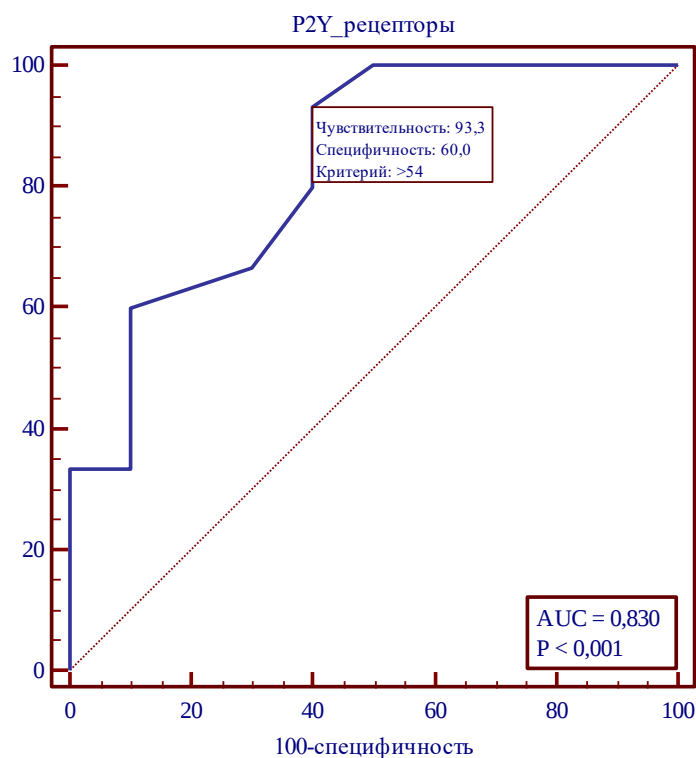


Рис. 4.2. Кривые операционных характеристик (ROC) определения риска II стадии ХИМ по активности P2Y-рецепторов

4.3. Причино-следственные связи в патогенезе ХИМ I стадии

В процессе анализа причинно-следственных связей (Таблица 4.13.), складывающихся в процессе патогенеза ХИМ II стадии обращает на себя внимание сохранение зависимости от возраста ФВЛЖ ($r_{B-ФВЛЖ} = -0,362$; $p < 0,05$), активации САС ($r_{B-\alpha AP} = 0,508$; $p < 0,05$), выраженности системной воспалительной реакции (судя по реактивности ФАТ-рецепторов) и снижения когнитивной продуктивности (снижение ОПКП).

Обращает на себя внимание сохранение силы связи между возрастом и активацией α_2 -адренорецептора ($r_{B-\alpha AP} = 0,508$; $p < 0,05$) у пациентов с I и II стадией заболевания (Рисунок 4.3.). Приведенные факты позволяют утверждать, что пожилой возраст может быть фактором риска прогрессирования ХИМ от I к II стадии заболевания.

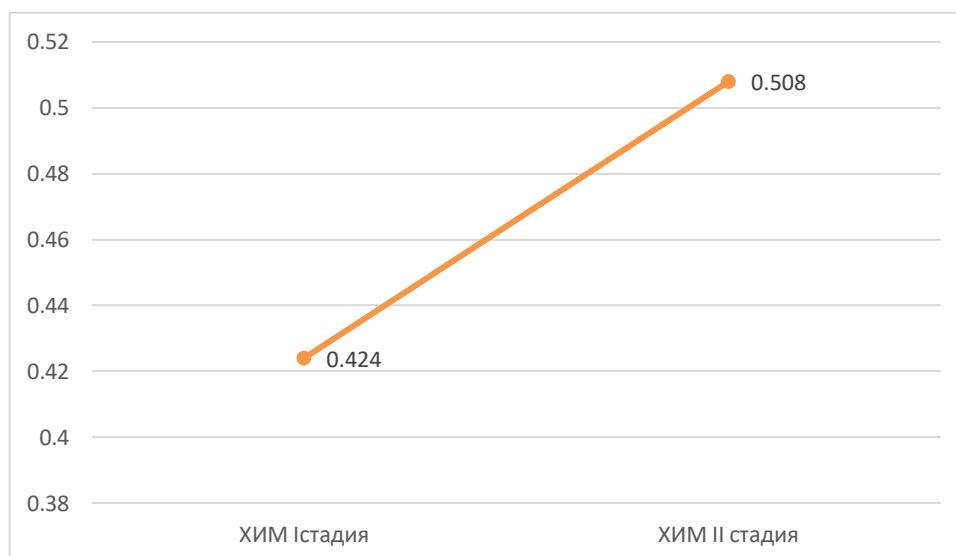


Рисунок 4.3. Корреляционная зависимость возраста от реактивности α_2 -адренорецептора

Примечания: приведены значения показателей ранговой корреляции

Спирмена, которые имеют статистически значимую разницу от 0 ($p < 0,05$).

Таблица 4.13.

**Корреляционные взаимосвязи основных показателей, характеризующих состояние пациентов
с II стадией ХИМ и функциональную активность рецепторов тромбоцитов**

Показатель	Возраст	АДс	ФВЛЖ	ЛТ	Память	ОПКП	Кол-во лейко- цитов	АТц- Ан-2	АТц- АДФ	АТц- адренал	АТц- ФАТ	АТц- коллаг
Возраст			-0,362	0,523	-0,389	-0,430				0,508	0,620	
АДс			-0,330	0,488	-0,503						0,353	
ФВЛЖ	-0,362	-0,330				0,463			-0,385			-0,35
ЛТ	0,523	0,488			0,433	0,551		0,530	0,419	0,479		
Память	-0,389	-0,503		0,433		0,500		0,412	-0,514			
ОПКП	-0,430	0,350	0,463	0,551	0,500		-0,490	0,388	-0,665		-0,400	
Кол-во лейкоцитов						-0,490		0,583		0,650		
АТ-Ан-2				0,530	0,412	0,388	0,583		0,587	0,829		
АТц-АДФ			-0,385	0,419	-0,514	-0,665		0,587		0,402	0,453	0,549
АТ-адрен	0,508			-0,479		0,0000	0,650	0,829	0,402		0,337	
АТ-ФАТ	0,620	0,353				-0,400			0,453	0,337		0,579
АТ-коллаг		0,543	-0,35						0,549		0,579	

Примечания: приведены значения показателей ранговой корреляции Спирмена, которые имеют статистически значимую разницу от 0 ($p < 0,05$).

К возможным причинам АГ при II стадии ХИМ можно отнести ремоделирование сосудистой стенки связанное с наличием хронической воспалительной реакции, в т.ч. в стенке артерий эластического типа (повышение реактивности ФАТ-рецептора $r_{\text{АГ-ФАТ}} = 0,353$; $p < 0,05$) и разрушением/ синтезом внеклеточного матрикса (гиперреактивность GR-VI – рецептора $r = 0,543$; $p < 0,05$).

Выявленная корреляционная связь между значениями АГ и ОПКП ($r_{\text{АГ-ОПКП}} = 0,350$; $p < 0,05$) укладывается в гипотезу о связи нарушения структуры и мелких цереброваскулярных сосудов с когнитивной функцией . [9]

Обращают на себя внимание связи значений ФВЛЖ при II стадии ХИМ. Зависимость ФВЛЖ от возраста и АД (соответственно $r_{\text{ФВЛЖ-В}} = -0,362$; $p < 0,05$ и $r_{\text{ФВЛЖ-АД}} = 0,330$; $p < 0,05$) обсуждается в литературе [79]. Можно предположить, что причиной ремоделировании стенки ЛЖ у лиц пожилого возраста является избыточная продукция матриксных металлопротеиназ MMPs, связанная с активацией лейкоцитов, участвующих в реализации хронической воспалительной реакции при ХИМ [60].

Интересной представляется взаимосвязь между уровнем ФВЛЖ и когнитивными нарушениями ($r_{\text{ФВЛЖ-ОПКП}} = 0,463$; $p < 0,05$). Вероятно, снижение ФВЛЖ сопровождается нарушением церебральной перфузии, что может способствовать клиническому или субклиническому повреждению головного мозга, вследствие ремоделирования БМ микрососудов ($r_{\text{ФВЛЖ-ФАТ}} = -0,350$; $p < 0,05$), повышения экспрессии пуриновых P2-рецепторов, в том числе на эндотелиальных клетках ($r_{\text{ФВЛЖ-АГ-АДФ}} = -0,385$; $p < 0,05$). Подтверждение данной гипотезы можно найти в исследованиях [72]. Хроническая гипоперфузия головного мозга может приводить к развитию и прогрессированию изменений белого вещества [178] что проливает свет на причины выявленных неврологических изменений.

Оценивая корреляционные связи тревожности (ЛТ) можно констатировать, что пожилой возраст и АГ остаются факторами риска при прогрессировании ХИМ. (Рисунок 4.4.)

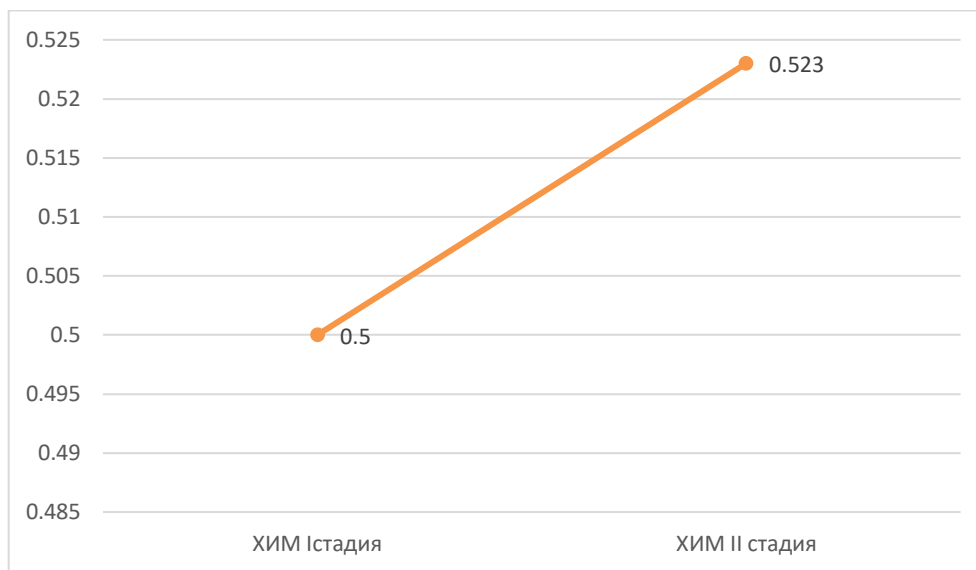


Рисунок 4.4. Корреляционная зависимость личностной тревожности от возраста

Примечания: приведены значения показателей ранговой корреляции

Спирмена, которые имеют статистически значимую разницу от 0 ($p < 0,05$).

Наличие связи между ЛТ и ОПКП ($r_{\text{ЛТ-ОПКП}} = 0,551$; $p < 0,05$), можно объяснить поражением анатомически близко расположенных зон, отвечающих за когнитивные функции развитие тревоги и депрессии (лит). Важным представляется появление при II стадии ХИМ связи между ЛТ и АТц индуцированной - АДФ ($r_{\text{ЛТ-АГ-АДФ}} = 0,419$; $p < 0,05$), поскольку появляются доказательства, что ЛТ развивается на фоне повышения уровня внеклеточных пуринов, возникающего при ишемии головного мозга; как следствие— возникающей гиперреактивности P2Y-рецепторов на тромбоцитах происходит формированию микро- и макроагрегатов, снижающих микроциркуляцию мозга.

Как для I, так и для II стадии ХИМ механизмами снижения когнитивных функции являются пожилой возраст ($r_{\text{ОПКП-В}} = -0,430$; $p < 0,05$) и количество лейкоцитов ($r_{\text{ОПКП-Л}} = -0,490$; $p < 0,05$). Если судить по значениям коэффициентов корреляции, то данные факторы риска не оказывают влияния

на прогрессирование от I к II стадии ХИМ. Однако, появление когнитивных нарушений может быть фактором риска развития тревожности у пациентов с II стадией ХИМ ($r_{\text{ОПКП-ЛТ}}=0,551$; $p<0,05$). У пациентов с I -II стадией ХИМ сохранялась отрицательная корреляционная связь между ОПКП и активностью ФАТ-рецепторов ($r_{\text{ОПКП-ФАТ}}=0,400$; $p<0,05$) (Рисунок 4.5.), отражающая влияние системного воспалительного ответа (в частности, рекрутирование моноцитов в ЦНС) на функционирование ансамбля нейрон-микроглия.

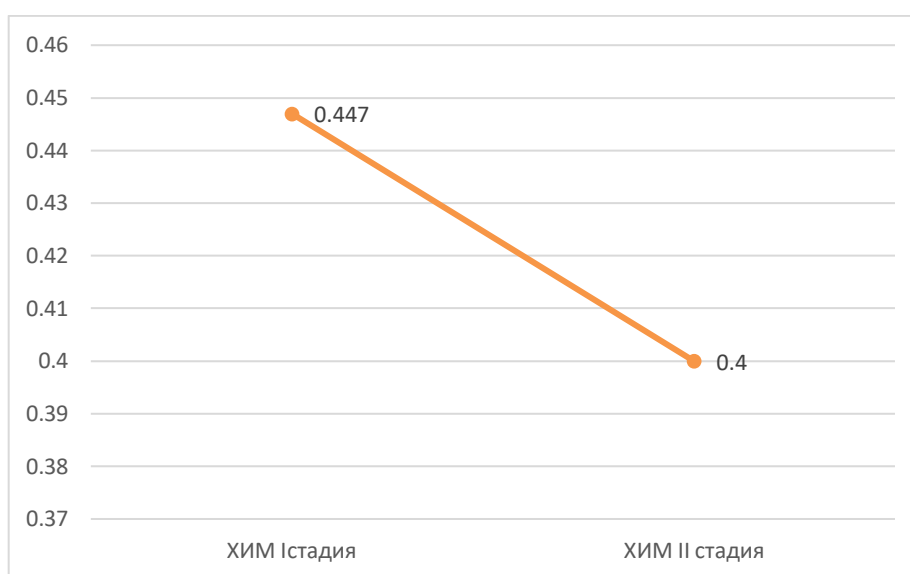


Рисунок 4.5. Сохранение силы причинно-следственных связей между ОПКП и активностью ФАТ-рецепторов при прогрессировании ХИМ

Примечания: приведены значения показателей ранговой корреляции

Спирмена, которые имеют статистически значимую разницу от 0 ($p < 0,05$).

С нашей точки зрения, фактором риска появления когнитивных нарушений у пациентов с II стадией ХИМ является нарушение пуринового метаболизма в головном мозге, возникающее при эпизодическом или перманентном снижении мозгового кровообращения. Подтверждением данной гипотезы является появление корреляционной связи между ОПКП и

активностью пуринового P2Y-рецептора ($r_{\text{ОПКП-Аг-АДФ}} = -0,665$; $p < 0,05$) у пациентов с II стадией ХИМ, чего не наблюдалось у пациентов с ранней стадией заболевания. Вероятно, при прогрессировании заболевания мы сталкиваемся со следующей последовательностью причинно-следственных связей: повышение уровня аденозин-5'-трифосфат (АТФ) → активация пуриновых рецепторов на нейронах, глиальных клетках и эндотелии сосудов → нарушение когнитивной функции пациента. Причиной увеличения внеклеточного содержания нуклеотидов (АТФ, АДФ, аденозин) может быть (а) нарастающая ишемия мозга [61] (б) повышение функциональной активности Тц, секретирующих пуриновые нуклеотиды. Когнитивная дисфункция может развиваться как следствие активации пуринового P2X7 рецептора вследствие изменений потока Na^+ и Ca^{2+} в нейронах и глии мозга, модуляции нейротрансмиссии и глиотрансмиссии, высвобождения микроглиальными клетками провоспалительного цитокина ИЛ-1 β и привлечения иммунных клеток в головной мозг. На возможность такого каскада нейрофизиологических процессов указывают [127]. Что касается механизмов участия P2Y-рецепторов в когнитивных нарушениях, то это, вероятно, связано с модуляцией синаптической пластичности и возбудимости нейронов посредством Ca^{2+} -зависимого высвобождения глиотрансмиттера из астроцитов экспрессирующих пуриновые рецепторы P2Y(1) и P2Y(2/4) [193]. Таргетной мишенью для агониста АДФ могут быть глутаматергические синапсы СА3-СА1 в гиппокампе, которые принимают участие в механизмах, нарушения синаптической передачи, тем самым вызывая когнитивное снижение [235].

Обсуждая связи количества лейкоцитов и активности ангиотензиновых рецепторов ($r_{\text{КОЛ-ВОЛ-Аг-Ан2}} = -0,583$; $p < 0,05$) можно прийти к выводу, что повышение активности РАС при ХИМ сопровождается активацией AT₁ – рецепторов, которые экспрессируются на иммунных клетках, происходящих из гемопоэтических клеток костного мозга, включая макрофаги. В свою очередь макрофаги (микроглия) играют центральную роль в поддержании

гомеостаза мозга и проницаемости ГЭБ [250]. При II стадии ХИМ увеличивается сила связи между активностью AT_1 -рецепторов и α_2 -адренорецепторов (Рисунок. 4.6.), что отражает синергизм взаимодействия адреналина и ангиотензина-2 при стимуляции клеток-мишеней имеющих соответствующие рецепторы. Наиболее значимым следствием такого взаимодействия рецепторов может быть усиление вазоконстрикции, снижающей перфузию мозга. Таким образом, одновременная активация САС и РАС могут быть фактором риска прогрессирования заболевания от I к II стадии заболевания.

Потенцирование эффектов сигнальных путей, которые селективно связаны с членами семейства Gq-белков, ассоциированных с ангиотензиновым AT_1 -рецептором и пуриновыми $P2Y$ -рецептором ($r_{\text{An2-АДФ}} = 0,587$; $p < 0,05$) отражают взаимодействие РАС и пуринергической систем мозга в модулировании механизмов тревожности и поддержания памяти.

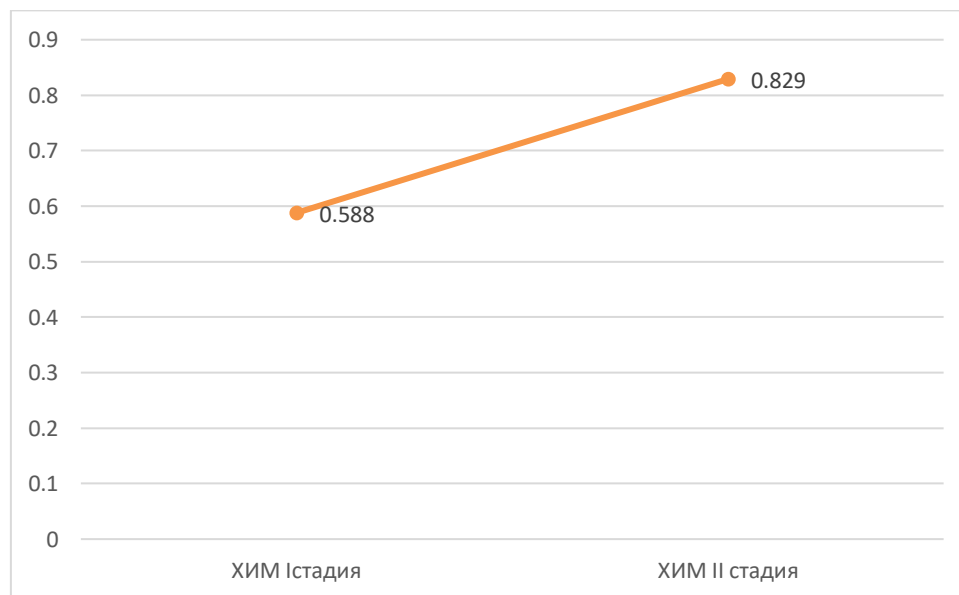


Рисунок 4.6. Увеличение силы корреляционной связи между активностью AT_1 -рецептора с α_2 -адренорецептором

Примечания: приведены значения показателей ранговой корреляции

Спирмена, которые имеют статистически значимую разницу от 0 ($p < 0,05$).

Наличие отрицательной корреляционной связи между активностью P_2Y -рецепторов и ФВЛЖ ($r_{\text{АГ-АДФ-ФВЛЖ}} = -0,385$; $p < 0,05$) показывает, что повышение концентрации внеклеточных пуринов при гипоксии в частности является фактором риска снижения ФВЛЖ [254]. Выявленные связи между активностью P_2Y -рецепторов и ЛТ ($r_{\text{АГ-АДФ-ЛТ}} = 0,419$; $p < 0,05$) а также памятью ($r_{\text{АГ-АДФ-память}} = -0,514$; $p < 0,05$) и ОПКП ($r_{\text{АГ-АДФ-ОПКП}} = -0,665$; $p < 0,05$) показывает что накопление внеклеточных пуринов при ишемии/гипоксии является фактором риска прогрессирования ХИМ.

Также как при I стадии ХИМ, у больных со II стадией ХИМ сохраняется взаимосвязь между активностью ФАТ-рецептора с возрастом ($r_{\text{АГ-ФАТ-возраст}} = 0,620$; $p < 0,05$) и артериальной гипертензией ($r_{\text{АГ-ФАТ-АД}} = 0,353$; $p < 0,05$). На основании данных фактов можно прийти к заключению, что пожилой возраст и артериальная гипертензия являются стереотипными факторами риска и прогрессирования ХИМ. Причинами повышенной экспрессии у данного контингента больных могут быть: полиморфизмы rs5938 или rs313152 гена ФАТ-рецептора, которые рассматриваются как потенциальные биомаркеры предрасположенности к ИБС [97], нарушения метаболизма жирных кислот [104]. Следствием повышенной экспрессии ФАТ-рецептора на эндотелии является увеличение проницаемости стенки капилляров [103] и развитие макроангиопатии [90]. Более того, у лиц пожилого возраста гиперреактивность ФАТ-рецепторов обеспечивает рекрутирование лейкоцитов для реализации острой воспалительной реакции [1]. Наличие отрицательной корреляционной связи между активностью ФАТ рецепторов, в т.ч. на клетках микроглии, и ОПКП ($r_{\text{АГ-ФАТ-ОПКП}} = -0,400$; $p < 0,05$) свидетельствует, что развитие нейровоспаления сопровождающегося демиелинизацией нервных волокон [287] может рассматриваться как одна из ключевых причин нарушения когнитивных функций при ХИМ.

Интересными механизмами патогенеза прогрессирования ХИМ представляются таковые, в которых имеет место наличие взаимосвязи между активностью ФАТ-рецептора и GP VI-рецептора к коллагену БМ стенки

сосудов. Такая взаимосвязь выявлена в наших исследованиях на суспензии тромбоцитов ($r_{\text{АГ-ФАТ-АТЦ-колаген}} = -0,400$; $p < 0,05$) выделенных из крови пациентов с II стадией ХИМ. Вероятно, что при прогрессировании ХИМ аутокринная стимуляция лейкоцитов посредством ФАТ сопровождается секрецией ММР и деградацией коллагена БМ стенки капилляров, что, в свою очередь, способствует повышению проницаемости ГЭБ [261]. При этом наличие взаимосвязи между активностью ФАТ-рецептора и пуринового P2Y-рецептора ($r_{\text{ФАТ-АДФ}} = 0,453$; $p < 0,05$) отражает развитие ишемии мозга, проявляющейся повышением концентрации внеклеточных нуклеотидов. [288]; тогда как связь между активностью ФАТ-рецептора и $\alpha 2$ -адренорецептора ($r_{\text{ФАТ-}\alpha\text{АР}} = 0,337$; $p < 0,05$) позволяет связать системную воспалительную реакцию с активацией САС [281].

Полученные результаты позволяют, во-первых, оценить роль факторов риска в прогрессировании ХИМ; во-вторых, сформулировать концепцию патогенеза II стадии ХИМ, основанную на участии изученных факторов риска.

Проведенный анализ причинно-следственных связей, складывающихся в процессе патогенеза ХИМ I-II стадии, позволяет отнести к *факторам риска* цереброваскулярной патологии: возраст пациента, наличие артериальной гипертензии и повышение проницаемости ГЭБ, снижение сократительной функции сердца, активацию САС и РАС, наличие синдрома системной воспалительной реакции.

Пожилой возраст пациентов является стереотипным фактором риска и прогрессирования ХИМ, что связано с развитием АГ, снижением ФВЛЖ и развитием системной воспалительной реакции. Впервые удалось доказать, что у лиц пожилого возраста влияние артериальной гипертензии и снижения **ФВЛЖ** на гомеостаз мозга связано с разрушением коллагена БМ микрососудов, повышения экспрессии пуриновых P2-рецепторов и ФАТ-рецепторов на эндотелиальных клетках эндотелия сосудов, что

сопровождается эндотелиальной дисфункцией и повышением проагрегантного состояния Тц.

САС и РАС являются фактором риска прогрессирования ХИМ, поскольку выявленная гиперреактивность $\alpha 2$ -адренорецепторов и АТ₁-рецепторов и их взаимосвязь на клетках мишенях могут обеспечить: во-первых, эпизодическое усиление вазоконстрикции (таргетная мишень— ГМК в стенке артериол и прекапилляров микроциркуляторного русла мозга). В этом контексте практически значимым фактом для оценки выраженности развивающейся гипоксии/ишемии головного мозга может быть повышение концентрации внеклеточных пуринов и активация пуриновых Р2-рецепторов. Во-вторых, системная гуморальная регуляция активности Тц и лейкоцитов, принимающих участие в формировании ТЛА, контролирует рекрутирование лейкоцитов для реализации нейровоспаления. В свою очередь макрофаги (микроглия) играют центральную роль в поддержании гомеостаза мозга и проницаемости ГЭБ. Значимым следствием активации лейкоцитов, участвующих в реализации нейровоспаления при ХИМ, также является ремоделирование сосудистой стенки вследствие избыточной продукции матриксных металлопротеиназ (MMPs), вызывающих деградацией коллагена БМ стенки капилляров и повышение проницаемости ГЭБ. Последствием нейровоспаления при ХИМ может быть и демиелинизация нервных волокон, которая рассматриваться как одна из ключевых причин нарушения когнитивных функций при ХИМ.

Ключевыми индикаторами прогрессирования ХИМ является развитие личностной тревожности и **когнитивных нарушений**, что может быть связано с (Таблица 4.14.):

- наличием АГ, сопровождающейся нарушением структуры и функции мелких цереброваскулярных сосудов;
- прогрессирующими морфологическими изменениями белого вещества головного мозга при наличии хронической гипоперфузии;

-нарушением пуринового метаболизма в головном мозге, возникающее при эпизодическом или перманентном снижении мозгового кровообращения. Вероятно, при прогрессировании заболевания мы сталкиваемся со следующей последовательностью причинно-следственных связей: повышение уровня аденозин-5'-трифосфат (АТФ) → активация пуриновых рецепторов на нейронах, глиальных клетках и эндотелии сосудов → нарушение когнитивной функции пациента. Причиной увеличения внеклеточного содержания нуклеотидов (АТФ, АДФ, аденозин) может быть (а) нарастающая ишемия мозга, (б) повышение функциональной активности Тц, секретирующих пуриновые нуклеотиды.

-активации пуринового ионотропного P2X7 рецептора контролирующего изменение потоков Na^+ и Ca^{2+} в нейронах и глии мозга, тем самым модулирующего нейротрансмиссию и глиотрансмиссию, высвобождение микроглиальными клетками провоспалительного цитокина ИЛ-1 β и привлечения иммунных клеток в головной мозг;

-наличием системного воспалительного ответа (в частности, рекрутирование моноцитов в ЦНС), влияющего на функционирование ансамбля нейрон-микроглия и ремоделирование БМ микрососудов, что обуславливает повышение проницаемости ГЭБ.;

- гиперреактивностью P2Y-рецепторов на тромбоцитах, что приводит к формированию микро- и макроагрегатов, нарушающих реологию крови в сосудах микроциркуляторного русла.

Что касается механизмов участия **P2Y**-рецепторов (Таблица 4.15.) в когнитивных нарушениях, то это, вероятно, связано с модуляцией синаптической пластичности и возбудимости нейронов посредством Ca^{2+} - зависимого высвобождения глиотрансммиттера из астроцитов экспрессирующих пуриновые рецепторы P2Y(1) и P2Y(2/4). Таргетной мишенью для агониста АДФ могут быть глутаматергические синапсы СА3-СА1 в гиппокампе, которые принимают участие в механизмах, нарушения синаптической передачи, тем самым вызывая когнитивное снижение.

Таблица 4.14.

Схема патогенеза ХИМ II стадии

Факторы риска

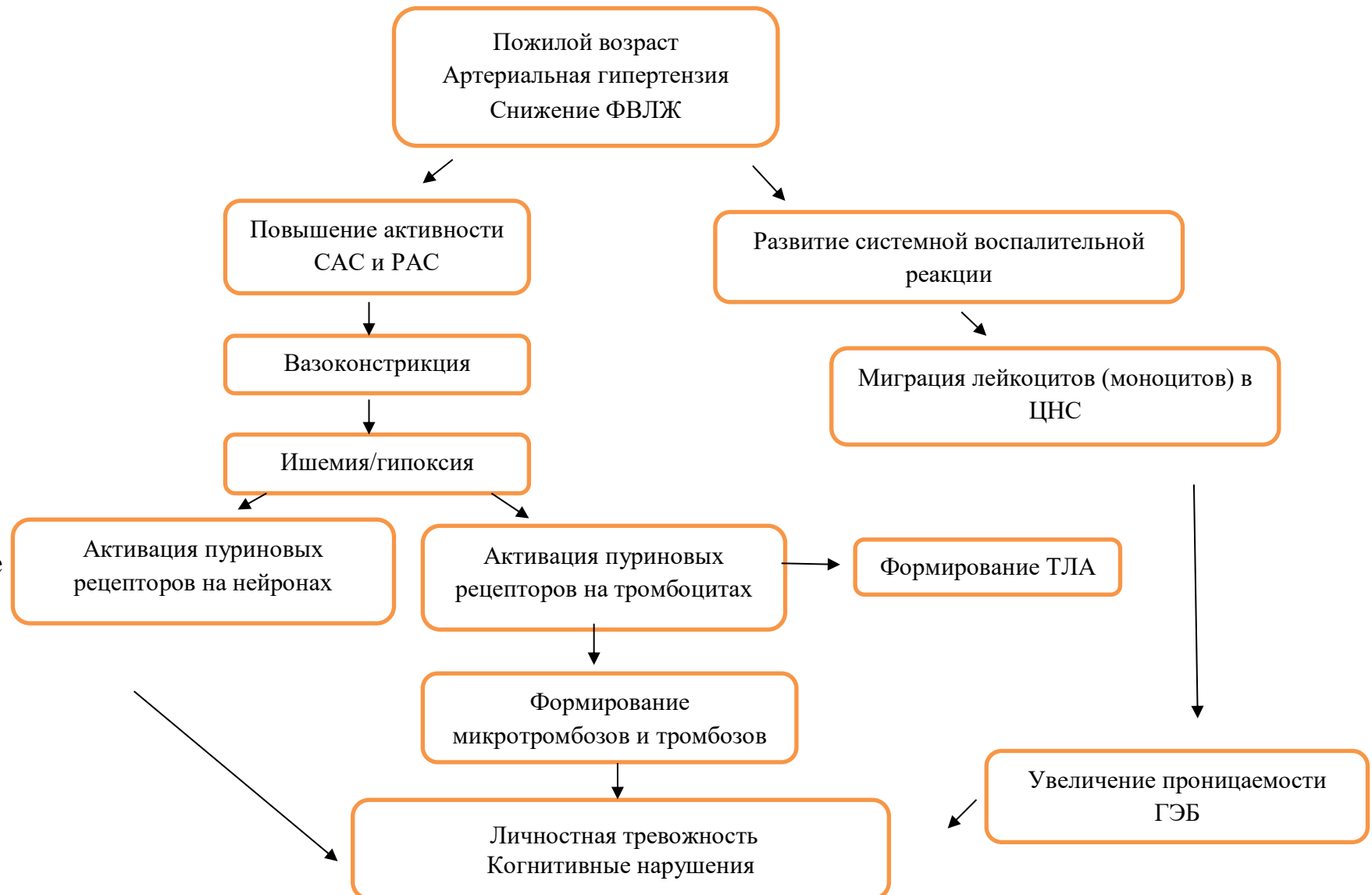
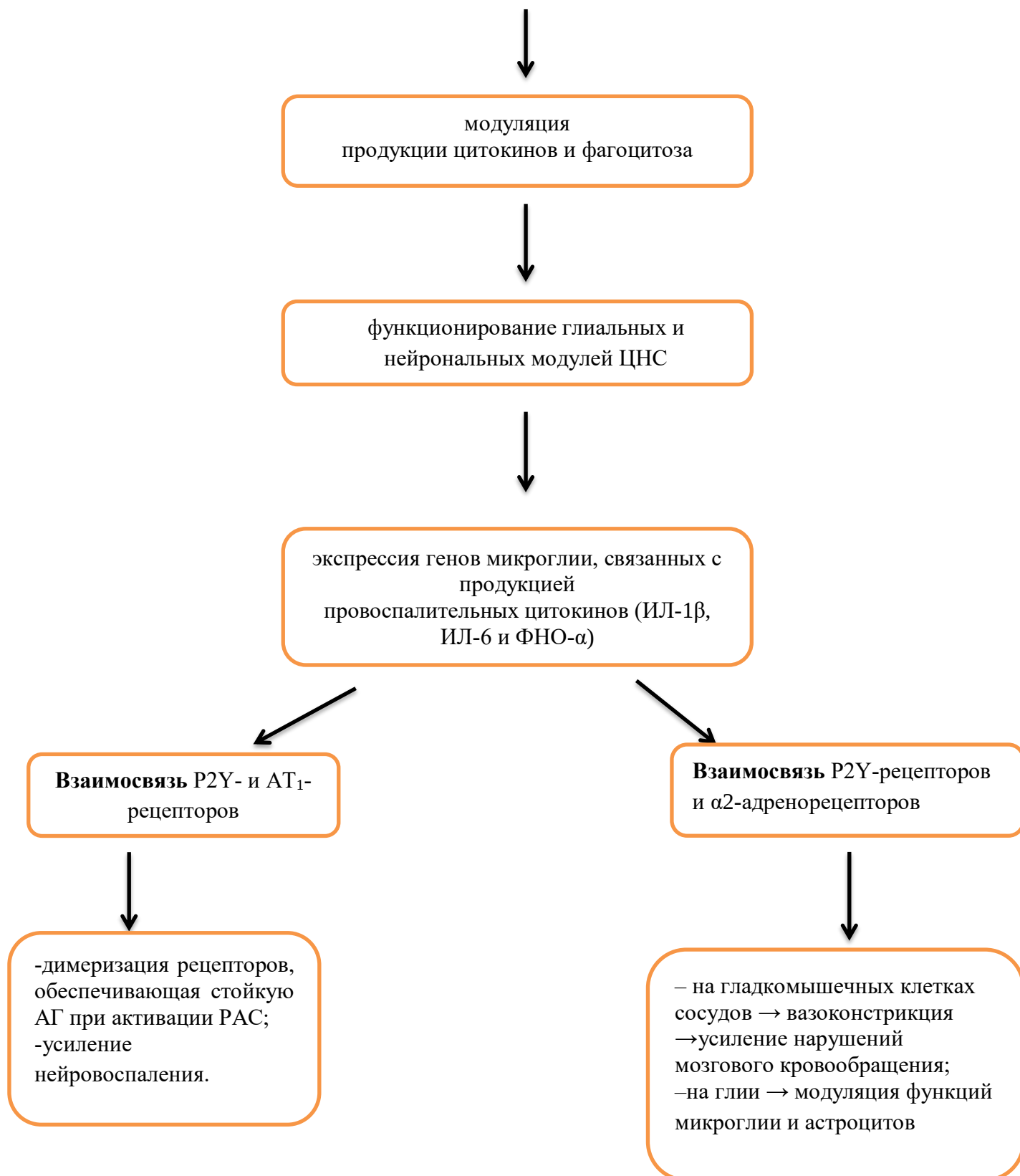
Патогенетические
факторыПатогенетические
механизмы

Таблица 4.15.

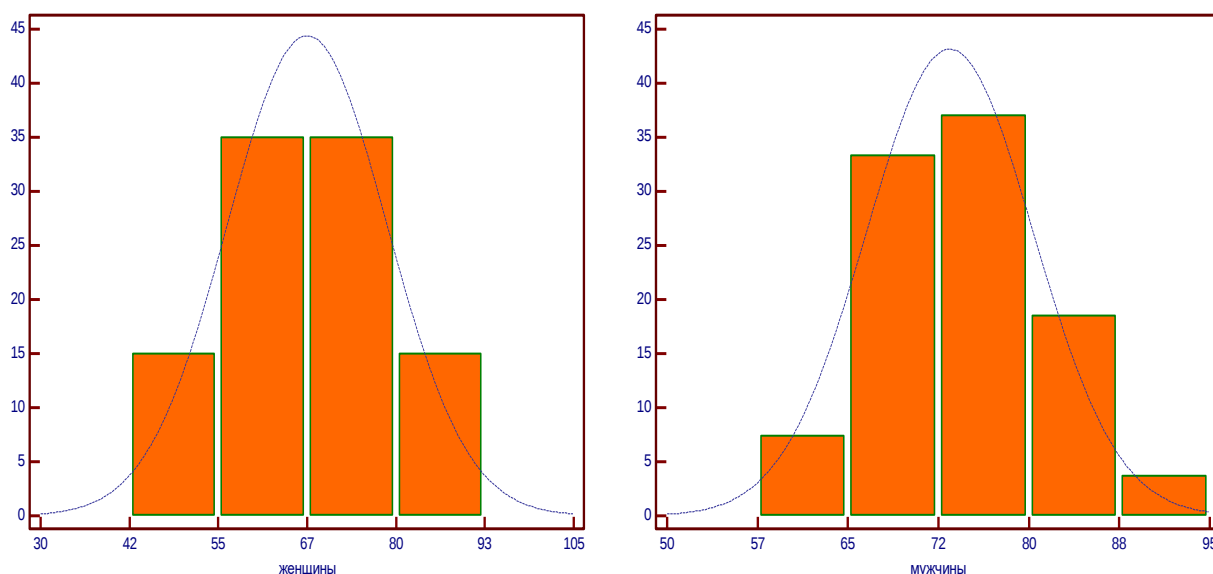
Биологические эффекты активности P2Y-рецепторов

ГЛАВА 5

ФАКТОРЫ РИСКА И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ III СТАДИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ МОЗГА

5.1. Результаты клинико-инструментального обследования пациентов с ХИМ III стадии

По результатам клинико-инструментального обследования пациентов III стадия ХИМ диагностирована у 45 пациентов, средний возраст – $70,9 \pm 1,3$ лет (ДИ 68,1 - 73,6). Максимальное количество больных - 28 (75,7%) находились в возрастном диапазоне 60-80 лет. Распределение пациентов по полу и возрасту представлено на рисунке 5.1. В исследованной группе было 20 женщин, средний возраст – $67,5 \pm 1,3$ года (ДИ 62,2 - 72,7 года) и 25 мужчин в возрасте $73,4 \pm 1,3$ года (ДИ 70,7 - 76,1 года).



**Рисунок 5.1. Гендерная и возрастная характеристика пациентов с ХИМ
III стадии**

Примечание: по оси абсцисс- возраст пациентов, по оси ординат количество пациентов соответствующего возраста (в %).

При ХИМ III стадии доминирующим проявлением заболевания было стойкое мнестико-интеллектуальное снижение, которое проявлялось значительным снижением памяти, концентрации внимания, трудностями обобщения, абстрагирования и переключения. Темп мыслительных процессов, счетных операций и исполнительных функций был замедлен. Критика к своему состоянию и поведению резко снижена, нарушена бытовая адаптация.

Среди субъективных жалоб частыми жалобами были общая слабость, головокружение, шаткость походки, повышение АД, парестезии (Таблица 5.1.).

Выявлялась симптоматика со стороны черепных нервов, чаще в виде псевдобульбарного синдрома (нарушение глотания имело место у 24,4% пациентов), пирамидная недостаточность (повышение ахилловых рефлексов у 44,6% больных), паркинсонический синдром (ригидность у 31,1% больных) и нарушение координации (неустойчивость в позе Ромберга у 88,9% больных). По сравнению с II стадией ХИМ при III стадии заболевания более часто встречались, вестибуло-атактический ($P=0,002$), паркинсонический ($P=0,022$) и псевдобульбарный ($P=0,041$) синдромы (Таблица 5.2.).

При оценке уровня невротизации и тревожности по шкале самооценки Спилбергера и госпитальной шкале тревоги и депрессии (HADS) у 22 (51,1%) больных с ХИМ выявлена тревожно-депрессивная симптоматика, которая проявлялась усталостью, снижением фона настроения, нарушением сна, идеаторной и двигательной заторможенностью, вялостью и апатией. Личная тревога доминировала над реактивной ($p<0,01$), соответствовала показателям умеренной тревожности (Таблица 5.3.). По шкале депрессии и тревоги по HADS у большинства 30 (66,7%) пациентов преобладала субклинически выраженная тревога/депрессия.

Таблица 5.1.

**Характеристика жалоб и неврологического статуса у пациентов
с ХИМ III стадии.**

Показатели	ХИМ (n=45)
<i>Жалобы</i>	
Головная боль	35 (77,8±6,2%)
Расстройство сна	29 (64,4±7,1%)
Снижение фона настроения	29 (64,4±7,1%)
Снижение памяти	43(95,6±3,1%)
Раздражительность	32 (71,1±6,8%)
Головокружение	30 (66,7±7,0%)
Шаткость походки	27 (60,±7,3%)
Повышение АД	37 (82,2±5,7%)
Парестезии	19 (42,2±7,4%)
<i>Неврологический статус</i>	
Нарушение ориентации	27(60,0±7,3%)
Нарушение речи (дизартрия)	10 (22,2±6,2%)
Асимметрия глазных щелей	26 (57,8±7,4%)
Анизокория	5 (11,1±4,7%)
Нистагм	5 (11,1±4,7%)
Слабость конвергенции	31 (68,9±6,9%)
Девиация языка	34 (75,6±6,4%)
Нарушение глотания	2 (4,4±3,1%)
Снижение мышечной силы	11 (24,4±6,4%)
Повышение мышечного тонуса	24 (53,3±7,4%)
Гипокинезия	15 (33,3±7,0%)
Повышение рефлексов рук	14 (31,1±6,9%)
Повышение коленных рефлексов	34 (75,6±6,4%)
Повышение ахилловых рефлексов	17 (37,8±7,2%)
Патологические стопные знаки	20 (44,4±7,4%)
Проба Баре	17 (37,8±7,2%)
Неустойчивость в позе Ромберга	8 (17,8±5,7%)
Нарушения при пальце-носовой пробе	40 (88,9±4,7%)
Болезненность в точках Валле	42(93,3±3,7%)
Нарушение чувствительности	13 (28,9±6,8%)
Ригидность	30 (66,7±7,0%)
Тремор	14 (31,1±6,9%)

Таблица 5.2.

**Динамика индикаторов неврологического статуса у пациентов при
прогрессировании ХИМ**

Показатели	ХИМ II стадия (n=37)	ХИМ III стадия (n=45)
Жалобы		
Головная боль	34 (91,9±4,5%)	35 (77,8±6,2%)
Расстройство сна	27 (73,0±7,3%)	29 (64,4±7,1%)
Снижение фона настроения	23 (62,2±8,0%)	29 (64,4±7,1%)
Снижение памяти	19 (51,4±8,2%)	43(95,6±3,1%)***
Раздражительность	24 (64,9±7,8%)	32 (71,1±6,8%)
Головокружение	28 (75,7±7,1%)	30 (66,7±7,0%)
Шаткость походки	13 (35,1±7,8%)	27 (60,±7,3%)*
Повышение АД	24 (64,9±7,8%)	37 (82,2±5,7%)
Парестезии	11 (29,7±7,5%)	19 (42,2±7,4%)
Неврологический статус		
Нарушение ориентации	5 (13,5±5,6%)	27(60,0±7,3%)***
Нарушение речи (дизартрия)	5 (13,5±5,6%)	10 (22,2±6,2%)
Асимметрия глазных щелей	21 (56,8±8,1%)	26 (57,8±7,4%)
Анизокория	7 (18,9±6,4%)	5 (11,1±4,7%)
Нистагм	8 (21,6±6,8%)	5 (11,1±4,7%)
Слабость конвергенции	29 (78,4±6,8%)	31 (68,9±6,9%)
Асимметрия лица	33 (89,2±5,1%)	34 (75,6±6,4%)
Девиация языка	3 (8,1±4,5%)	2 (4,4±3,1%)
Нарушение глотания	2 (5,4±3,7%)	11 (24,4±6,4%)*
Снижение мышечной силы	8 (21,6±6,8%)	24 (53,3±7,4%)*
Повышение мышечного тонуса	4 (10,8±5,1%)	15 (33,3±7,0%)
Гипокинезия	3 (8,1±4,5%)	14 (31,1±6,9%)
Повышение рефлексов рук	23 (62,2±8,0%)	34 (75,6±6,4%)
Повышение коленных рефлексов	19 (51,4±8,2%)	17 (37,8±7,2%)
Повышение ахилловых рефлексов	15 (40,5±8,1%)	20 (44,4±7,4%)
Патологические стопные знаки	21 (56,8±8,1%)	17 (37,8±7,2%)
Проба Баре	2 (5,4±3,7%)	8 (17,8±5,7%)
Неустойчивость в позе Ромберга	21 (56,8±8,1%)	40 (88,9±4,7%)**
Нарушения пальце-носовой пробы	21 (56,8±8,1%)	42(93,3±3,7%)***
Болезненность в точках Валле	14 (37,8±8,0%)	13 (28,9±6,8%)
Нарушение чувствительности	16 (43,2±8,1%)	30 (66,7±7,0%)
Ригидность	3 (8,1±4,5%)	14 (31,1±6,9%)*
Тремор	1 (2,7±2,7%)	3 (6,7±3,7%)

Примечание: * - достоверность различий показателей при III и II стадиях ХИМ на уровне $p < 0,05$; *** - на уровне $p < 0,001$.

Таблица 5.3.

**Характеристика депрессии и тревоги у больных с ХИМ III стадии
(значения тестов в баллах)**

Тесты	ХИМ
Реактивная тревожность (тест Спилбергера)	32,6±2,7
Личностная тревожность (тест Спилбергера)	42,5±1,2 P<0,01
Уровень тревоги и депрессии (HADS)	8,0±1,2

Нейрокогнитивное тестирование по краткой шкале MMSE у пациентов с ХИМ III стадии выявило нарушения по сравнению с таковыми при II стадии заболевания. Так, на 11,7% ($p<0,001$) снижались значения показателя ориентации с $9,1\pm0,1$ баллов (95% ДИ 8,9-9,3 баллов) при ХИМ II стадии до $7,9\pm0,1$ баллов (95% ДИ 7,6-8,1 баллов) при III стадии заболевания. Показатель счетных операций уменьшался на 13,6% ($p<0,001$) с $4,5\pm0,1$ баллов (95% ДИ 4,4-4,7 баллов) при ХИМ III стадии до $3,9\pm0,1$ баллов (95% ДИ 3,7-4,1 баллов) при II стадии заболевания. Общий показатель когнитивной производительности при ХИМ III стадии был на 12,8% ($p<0,001$) меньше, чем при II стадии, соответственно $22,9\pm0,3$ балла (95% ДИ 22,2-23,6 балла) и $26,3\pm0,3$ балла (95% ДИ 25,7-26,8 балла) (Таблица 5.4.)

При МРТ у пациентов с ХИМ III стадии не выявлено статистически значимых морфологических изменений головного мозга по сравнению с выявленными при II стадии заболевания (Таблица 5.5.). Обращает на себя внимание лишь увеличение количества случаев с расширением желудочков мозга и подбололочных пространств.

Таблица 5.4.

**Результаты нейрокогнитивного тестирования пациентов по шкале
MMSE при ХИМ III стадии (значения показателей в баллах)**

Показатели когнитивной функции	ХИМ (n=45)	
	$\bar{X} \pm SD$	Размах (Min – Max)
Ориентация	8,3±0,2	7,0-10,0
Память	4,2±0,0,2	3,0-5,0
Счетные операции	4,3±0,2	3,0-5,0
Перцептивно-гностичные функции	7,3±0,2	6,0-8,0
ОПКП	24,1±0,4	20,0-27,0

Таблица 5.5.

**Индикаторы морфологических изменений головного мозга при МРТ
исследовании у пациентов с II и III стадией ХИМ.**

Показатели	III стадия ХИМ (n=45)	II стадия ХИМ (n=37)
Очаговое поражение головного мозга сосудистого генеза	16 (35,6±7,1%)	7 (18,9±6,4%)
Множественные очаги поражения головного мозга	10 (22,2±6,2%)	11 (29,7±7,5%)
Наличие очагов предыдущих инсультов	7 (15,6±5,4%)	3 (8,1±4,5%)
Смещение срединных структур	11 (24,4±6,4%)	10 (27,0±7,3%)
Расширение желудочков мозга	15 (33,3±7,0%)	5 (13,5±5,6%)
Расширение подбололочных пространств	13 (28,9±6,8%) $p_{3-2}=0,037$	3 (8,1±4,5%)
Извитость экстракраниальных артерий	11 (24,4±6,4%)	4 (10,8±5,1%)

Примечания: p_{3-2} - достоверность различий частоты выявления признака при ХИМ III стадии по сравнению с таковой при ХИМ II стадии.

Результаты УЗД сосудов шеи и головы у пациентов с I–III стадиями ХИМ подтверждают, что фактором риска прогрессирования заболевания может быть перманентное снижение мозгового кровообращения, связанное с атеросклерозом (Таблица 5.6.). Так, частота выявления атеросклеротических изменений в стенке крупных сосудах при ХИМ III стадии в 6,2 раза больше, чем при ХИМ I стадии. Следствием этого может быть снижение скорости кровотока по экстракраниальным артериям при ХИМ III стадия по сравнению с I и II стадиями заболевания.

Таблица 5.6.

**Сравнительная характеристика результатов УЗД сканирования
сосудов шеи и головы у пациентов с ХИМ I–III ст.**

Показатели	ХИМ III ст. (n=45)	ХИМ II ст. (n=37)	ХИМ I ст. (n=27)
	Частота выявления признака		
Признаки стенозирующего атеросклероза	38 (84,4±5,4%) $p_{3-2}=0,023$ $p_{3-1}<0,001$	19 (51,4±8,2%)	7 (25,9±8,4%)
Утолщение комплекса интима-медиа (более 1,1 мм с частичной потерей дифференциации на слои) экстракраниальных сосудов	30 (66,7±7%)	22 (59,5±8,1%)	11 (40,7±9,5%)
Асимметрия кровотока в общей сонной артерии	9 (20,0±6%)	7 (18,9±6,4%)	2 (7,4±5,0%)
Асимметрия кровотока во внутренней сонной артерии	7 (15,6±5,4%)	3 (8,1±4,5%)	0
Асимметрия кровотока в позвоночной артерии	21 (46,7±7,4%)	19 (51,4±8,2%)	13 (48,1±9,6%)
Признаки нестабильности артериального давления	33 (73,3±6,6%) $p_{3-1}=0,024$	27 (73,0±7,3%)	9 (33,3±9,1%)
Нарушение скорости кровотока по экстракраниальным артериям	27 (60,0±7,3%) $p_{3-2}=0,040$ $p_{3-1}=0,027$	10 (27,0±7,3%)	6 (22,2±8,0%)

Примечания: сравнение показателей ХИМ III и II стадии (p_{3-2}), а также ХИМ III и I стадии (p_{3-1}).

Таблица 5.7.

Сравнительная характеристика частоты коморбидности ХИМ с патологией сердечно-сосудистой системы у пациентов

Коморбидная патология	ХИМ III ст. (n=45)		ХИМ II ст. (n=37)		ХИМ I ст. (n=27)	
	Абс	%	Абс	%	Абс	%
ИБС	21	46,7±7,4	4	10,8±5,1	3	12,0±6,5
АГ 1 ст	0	-	9	24,3±7,1	11	44,0±9,9
АГ 2 ст	32	71,1±6,8	24	64,9±7,8	12	48,0±10,0
АГ 3 ст.	13	31,1±6,9	4	10,8±5,1	2	8,0±5,4
Нарушения ритма сердца	9	20,0±6,0	3	8,1±4,5	2	8,0±5,4
СН IIА стадия	25	55,6±7,4	18	48,6±8,2	18	72,0±9,0
СН III стадия	11	24,4±6,4	10	27,0±7,3	7	28,0±9,0
Инфаркт миокарда в анамнезе	8	17,8±5,7	3	8,1±4,5	3	12,0±6,5
Инсульт в анамнезе	5	11,1±4,7	2	5,4±3,7	1	4,0±3,9
Остеохондроз шейного отдела позвоночника	27	60,0±7,3	20	54,1±8,2	18	72,0±9,0
Гипертрофия ЛЖ	17	37,8±7,2	14	37,8±8,0	10	40,0±9,8

У данного контингента больных прогрессирование от II к III стадии ХИМ не сопровождалось нарушением центральной гемодинамики (Таблица 5.8.). Исключение составляет фракция выброса левого желудочка, которая достоверно снижалась при ХИМ III стадии.

При III стадии ХИМ имело место увеличение СОЭ, прирост данного индикатора воспалительной реакции составил 30,5% (P=0,032) по сравнению с II стадией ХИМ. (Таблица 5.9.)

Таблица 5.8.

**Основные показатели центральной гемодинамики
у пациентов с ХИМ III стадии**

Показатель	ХИМ (n=45)	
	Me, %	Q _I – Q _{III}
СД, мм.рт. ст.	140,0±7,3	125,0-150,0
ДД, мм.рт. ст.	100,0±2,6	100,0-105,0
ЧСС, уд/мин	78,0±2,5	72,0-84,0
Фракция выброса ЛЖ (%)	64,0±3,6 $P_{3-2}=0,005$	50,0-72,0

Таблица 5.9.

**Сравнительная характеристика основных показателей крови
у пациентов с ХИМ III стадии**

Показатели	ХИМ III ст. (n=45)	
	$\bar{x} \pm SD$	Размах (Min – Max)
Тромбоциты, $\times 10^9$	311,0±11,9	234,0-286,0
MVP, fl	11,53±0,33* [●] $P_{3-2}<0,001$	9,0-14,0
Нб, г/л	175,3±12,6	114,0-333,0
Эритроциты, $\times 10^{12}$	4,37±0,09	3,82-5,07
СОЭ, мм/ч	23,1±1,8* [●] $P_{3-2}=0,032$	10,0-44,0
Лейкоциты, $\times 10^9$	10,1±0,6	4,3-12,5
ПЯ нейтрофилы, %	7,1±0,7* [●] $P_{3-2}=0,032$	2,0-12,0
СЯ нейтрофилы, %	65,0±2,1	44,0-81,0
Эозинофилы, %	2,83±0,38* [●] $P_{3-2}=0,020$	1,0-7,0
Моноциты, %	5,35±0,45	1,0-12,0
Лимфоциты, %	29,9±1,9	12,0-48,0

Примечание: [●] p_{3-2} — сравнение показателей при III и II стадиях ХИМ.

При III стадии ХИМ выявляли лейкоцитоз. Отмечался сдвиг лейкоцитарной формулы «влево» – содержание ПЯ-Нф повышалось в 2,4 раза ($P=0,032$) по сравнению с II стадией ХИМ. Таким образом, прогрессирование ХИМ могут сопровождаться усилением миелопоеза для поддержания воспалительной реакции. У пациентов с ХИМ III стадии выявлен более высокий уровень общего холестерина, ЛПНП и увеличение индекса атерогенности (Таблица 5.10.). Повышение содержания ЛПНП на 54,4% ($p<0,001$) и индекса атерогенности на 26% ($p<0,001$), относительно таковых при II стадии ХИМ, отражает увеличение количества пациентов с атеросклеротической формой при прогрессировании ХИМ.

Таблица 5.10.

**Индикаторы метаболизма белков и липидов у пациентов
с ХИМ III стадии**

Показатели	ХИМСД (n=45)	
	$\bar{X} \pm SD$	Min – Max
Мочевина, ммоль/л	7,44±0,56	3,93-17,22
Креатинин, мкмоль/л	90,5±4,4	68,0-134,0
Общий холестерин, ммоль/л	5,53±0,32	3,2-7,3
Триглицериды, ммоль/л	2,24±0,46	0,72-5,8
β-липопротеиды (ЛПНП, г/л)	5,45±0,19 $p_{3-2}<0,001$	4,8-6,8
Индекс атерогенности	4,9±0,1 $p_{3-2}<0,001$	4,3-5,9

Примечание: p_{3-2} сравнение показателей при III и II стадиях ХИМ.

5.2. Диагностические возможности анализа функциональной активности рецепторов тромбоцитов при ХИМ III стадии

Исследовательский вопрос - отличается ли активность пуриновых P2Y-рецепторов, AT₁-рецептора, α₂-адренорецептора, ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора на Тц у обследованных пациентов с III стадией ХИМ? По сути необходимо было выяснить – отличаются ли факторы риска ХИМ при различных стадиях заболевания. Проведенное исследование выявило гиперреактивность исследованных рецепторов; наиболее выраженный эффект воспроизводил АДФ (Таблица 5.11.).

Таблица 5.11.

Индукцированная АТц у пациентов с ХИМ III стадии

Агонист	Среднее значение АТц (%), $\bar{x} \pm SD$	Размах (Min – Max)	Левый (95% BI)	Правый (95% BI)
АДФ (5 мкМ)	76,3±1,0	58,0-86,0	73,4	78,3
Ан-2 (1,0 мкМ)	73,6±0,7 P _{АДФ} =0,025	65,0-85,0	77,2	75,0
Коллаген (1,0 мг/мл)	67,3±0,9 P _{Ан2} <0,001	53,0-77,0	65,6	69,1
ФАТ (150,0 мкМ)	66,6±1,0	54,0-86,0	64,6	68,7
Адреналин (5,0 мкМ)	63,1±0,7 P _{ФАТ} =0,005	53,0-71,0	61,7	64,4

Примечание. P – вероятность различий АТц относительно эффекта предыдущего агониста

Активность рецепторов Тц можно распределить следующим образом:
 активность P2Y-рецепторов > активности AT₁-рецептора > активности GP
 VI-рецептора= активности ФАТ-рецептора > активности α₂-адренорецептора.

Полученные результаты свидетельствуют, что в патогенезе III стадии ХИМ принимают участие те же факторы риска, что при II стадии заболевания.

Однако, если сопоставить кластер функциональной активности рецепторов, отражающий воздействие факторов риска, то обращают на себя внимание следующие факты: при III стадии ХИМ, максимальную реактивность воспроизводили P2Y-рецепторы и AT₁-рецептора, а минимальную – α_2 -адренорецептор; при ХИМ II стадии наиболее выраженный эффект был связан с активацией AT₁-рецептора и α_2 -адренорецептора. Существенное повышение активности P2Y-рецепторов у пациентов с III стадией ХИМ отражает усиливающееся нарушение мозгового кровотока а следовательно гипоксию\ишемию мозга.

Механизмы, ответственные за прогрессирование ХИМ, связаны с повышением активности P2Y-рецепторов на 20,3% (P<0,001, ФАТ-рецептора на 11,3% (P<0,001) и GP VI-рецептора на 15,4% (P<0,001 (Таблица 5.12.)

ХИМ являются усиливающиеся процессы дисрегуляции пуринаргической системы организма, в т.ч. пуринаргической системы мозга, увеличение тяжести системной воспалительной реакции, связанной с активацией лейкоцитов и выраженность ремоделирования стенки сосудов. Стоит отметить, что у больных с ХИМ III стадии отмечалось повышение количества ТЛА, что говорит о том, что основным механизмом прогрессирования ХИМ от II к III стадии является развитие нейровоспаления.

Таблица 5.12.

Различия индуцированной АТц (%) при прогрессировании ХИМ

Индуктор АТц	II стадия ХИМ (n=37)		III стадия ХИМ (n=45)	
	$\bar{x} \pm m$	Min–Max _I	$\bar{x} \pm m$	Min–Max _I
Адреналин (5,0 мкМ)	68,0±0,6	65,0-74,0	65,2±1,0	59,0-71,0
АДФ (5 мкМ)	58,1±0,7	54,0-63,0	69,9±1,5 P<0,001	58,0-79,0
Ан-2 (1,0 мкМ)	69,3±0,6	65,0-72,0	70,3±0,8	65,0-75,0
ФАТ (150,0 мкМ)	54,1±0,8	48,0-58,0	60,2±2,0 P<0,001	54,0-86,0
Коллаген (1,0 мг/мл)	51,9±0,8	47,0-57,0	59,9±0,8 P<0,001	56,0-63,0

Примечание. P – вероятность различий АТц при III и II стадиях ХИМ.

В этой связи значимыми факторами риска прогрессии от II к III стадии

Для выявления критического уровня повышения активности рецепторов Тц, отражающих переход от II к III стадии ХИМ был проведен анализ связи риска развития III стадии с 5 факторными признаками: активностью АТ₁-рецептора, P2Y-рецепторов, α₂-адренорецептора, ФАТ-рецептора, GP VI-рецептора. Наиболее информативными показателями по данным анализа ROC кривых оказалась активность трех рецепторов– P2Y-рецепторов, ФАТ- рецептора и GP VI-рецептора, стимуляция которых являлась фактором риска прогрессирования ХИМ (Рисунок 5.2.– 5.4.).

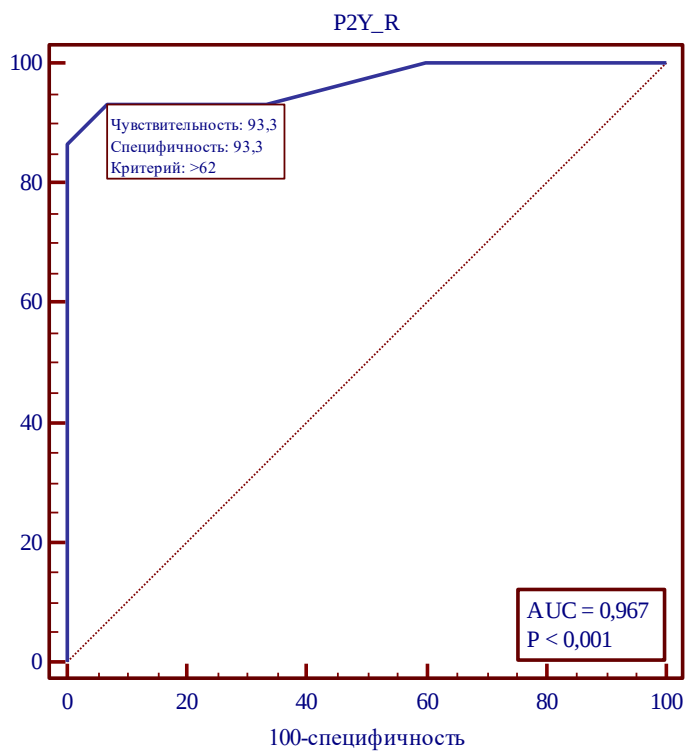


Рисунок 5.2. Кривая операционных характеристик (ROC) для определения риска III стадии ХИМ по активности P2Y-рецепторов

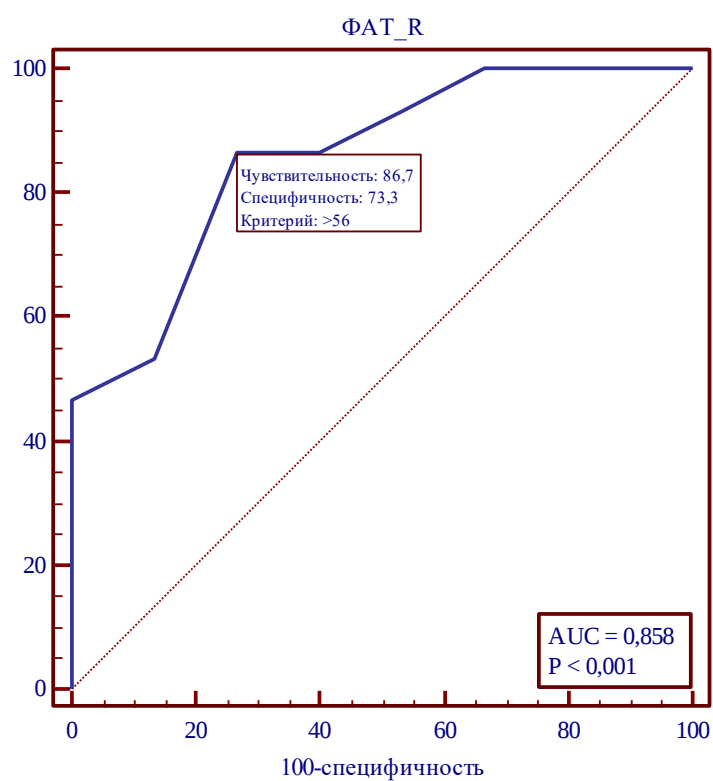


Рисунок 5.3. Кривые операционных характеристик (ROC) для определения риска III стадии ХИМ по активности ФАТ-рецептора

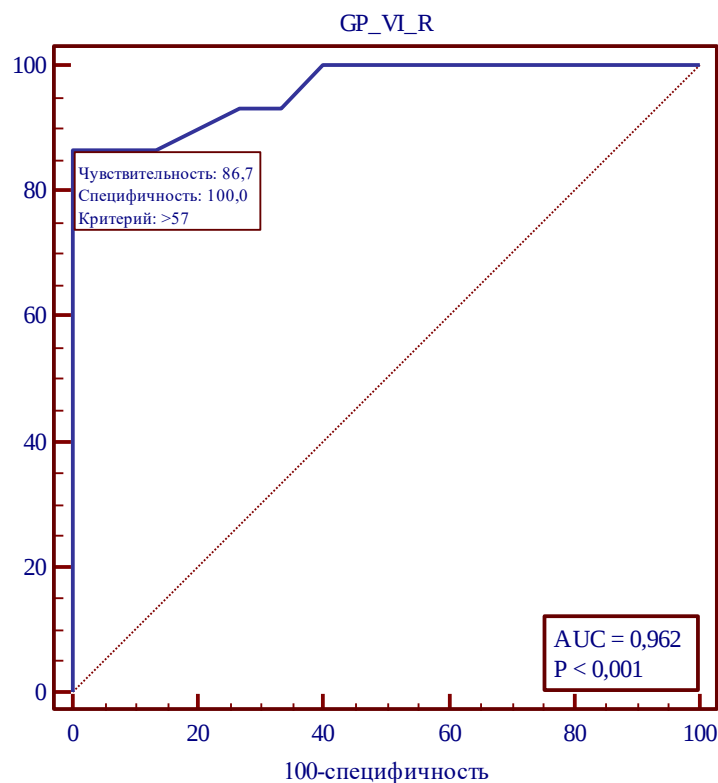


Рисунок 5.4. Кривые операционных характеристик (ROC) для определения риска III стадии ХИМ по активности GP VI-рецептора

При выборе оптимального порога принятия решения (по Youden Index) установлен критический порог активности P2Y-рецептора (P2Y-R crit) на уровне 62%. При значении показателя P2Y-R crit >62% у пациента имела место III стадия ХИМ, при значении показателя АДФcrit ≤62% – II стадия. Для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста составляет 93,3% (95% ДИ 68,1%-99,8%) и специфичность – 93,3% (95% ДИ 68,1%-99,8%). Площадь под кривой операционных характеристик AUC = 0,996 (95% ДИ 0,967 - 1,000) свидетельствует об очень сильной связи уровня показателя активности P2Y-рецептора с риском развития III стадии. Критический порог активности ФАТ-рецептора (ФАТcrit) находился на уровне 56%. При значении показателя ФАТcrit >56% у пациента имела место III стадия ХИМ, а при значении показателя ФАТcrit <56% – II стадия. Для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста

составляет 86,7% (95% ДИ 59,5%-98,3%) и специфичность – 73,3% (95% ДИ 44,9%-92,2%). Площадь под кривой операционных характеристик $AUC = 0,858$ (95% ДИ 0,682 – 0,958). Критический порог GP VI-рецептора (GP VI-Rcrit) составляет 57%. При значении показателя GP VI-R crit >57% у пациента имела место III стадия ХИМ, при значении показателя GP VI-R crit <57% – II стадия заболевания. Для выбранного порога чувствительность предлагаемого диагностического теста составляет 86,7% (95% ДИ 59,5%-98,3%) и специфичность – 100% (95% ДИ 78,2%-100,0%). Площадь под кривой операционных характеристик $AUC = 0,962$ (95% ДИ 0,821 – 0,999).

Таким образом, проведенный анализ позволил установить критические уровни для трех рецепторов, стимуляция которых является фактором риска прогрессирования от II к III стадии ХИМ: для P2Y-рецепторов такой уровень составил 62% или более, для ФАТ-рецептора- 56% или более, для GP VI-рецептора- 57% или более.

5.3. Причино-следственные связи в патогенезе ХИМ III стадии

Анализ причинно-следственных связей выявил влияние гипергликемии на развитие III стадии ХИМ (Таблица 5.13.). Данный факт интересен тем, что СД традиционно считается фактором риска прогрессирования ХИМ, однако патогенетические механизмы данной коморбидности остаются мало изученными. Обращает на себя внимание наличие отрицательной корреляционной связи между гипергликемией и ОПКП ($r_{ГГ-ОПКП} = -0,414$; $p < 0,05$), что, вероятно, связано с нарушением функции ГАВА-ергических нейронов [286]. На связь гипергликемии на когнитивных нарушений указывают [280]. Нарушения памяти при гипергликемии связывают с нейровоспалением, активацией холинэстеразы и окислительного стресса, повышением экспрессии белков ERK (extracellular-signal-regulated kinase) и

GSK-3 β (glycogen synthase kinase-3 beta) [276]. В этой связи представляется оправданным назначение глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1) и его аналогов, которые не только эффективно снижают уровень глюкозы в крови, но и улучшают неврологические функции, восстанавливают когнитивных нарушений у пациентов с СД 2 типа.

У пациентов с III стадией ХИМ выявляется связь между гипергликемией и активностью РАС ($r_{\text{ГГ-АТ-Р}}=0,534$; $p<0,05$). Более того доказано, что активация РАС у пациентов с СД 2 типа является фактором риска когнитивных нарушений [270]. В этом контексте, вероятно, гипергликемия и активация ангиотензиновых АТ-рецепторов провоцируют эндотелиальную дисфункцию и индуцируют когнитивные нарушения. Причины этого явления при коморбидности СД с артериальной гипертензией или ХИМ связаны с изменением проницаемости ГЭБ вследствие ремоделирования/утолщения базальной мембраны сосудов, уменьшением удельной плотности капилляров, апоптозом перицитов [266].

Появление корреляционной связи между уровнем гипергликемии и активностью пуриновых Р2-рецепторов ($r_{\text{ГГ-АТ-АДФ}}=0,480$; $p<0,05$) у пациентов с III стадией ХИМ, вероятно, отражает наличие более выраженной гипоксии/ишемии в случае коморбидности цереброваскулярного заболевания с СД. [255] установили, что СД усугубляет церебральную ишемию за счет усиления воспалительных реакций. Подтверждением этой гипотезы может быть выявленная нами корреляционная связь между гипергликемией и активностью ФАТ-рецептора ($r_{\text{ГГ-АТ-ФАТ}}=0,575$; $p<0,05$) у пациентов с III стадией ХИМ. Установленная взаимосвязь свидетельствует об активации клеток крови и формировании ТЛА для рекрутирования лейкоцитов из сосудистого русла в нервную ткань. Следствием значимости воздействия стимулированных лейкоцитов на БМ капилляров при СД может быть корреляционная связь между гипергликемией и АТц-индуцированной коллагеном ($r_{\text{ГГ-АТ-коллаг}}=0,583$; $p<0,05$), по сути, отражающая возрастающую деградацию коллагена IV типа БМ и активностью GP VI-рецептора к

данному агонисту. Причем воздействие активированных лейкоцитов на коллаген связано с секрецией матриксных металлопротеиназ [251]. Факт ремоделирования стенки капилляров при гипергликемии и, как следствие, повышения проницаемости ГЭБ может рассматриваться как патогенетический механизм развития III стадии ХИМ.

К возможным причинам артериальной гипертензии при III стадии ХИМ можно отнести возраст ($r = 0,711$, $p < 0,05$) активацию РАС и САС (соответственно $r_{\text{АД-АТ}} = 0,800$, $p < 0,05$; и $r_{\text{АД-Адр}} = 0,732$, $p < 0,05$). В свою очередь, АД и возрастные изменения миокарда связаны с уменьшением ФВЛЖ, соответственно, $r = -0,450$ и $r = -0,458$ ($p < 0,05$). Таким образом, пожилой возраст и обусловленные таковым изменения сердечно-сосудистой системы остаются фактором риска развития III стадии ХИМ. Показано [233], что прогрессирование хронических церебрально-дигемических морфологических изменений в виде перивентрикулярного и подкоркового лейкоареоза коррелирует со степенью выраженности синдрома когнитивной дисфункции.

Таблица 5.13.

**Корреляционная матрица основных характеристик при ХИМ III стадии
и функциональной активности рецепторов Тц.**

Показатель	Гипер- гликемия	Возраст	АДс	ФВЛЖ	ОПКП	СОЭ	Лейко- цитоз	АТц- Ан-2	АТц- АДФ	АТц- адренал	АТц- ФАТ	АТц- Коллаг
Гипер- гликемия				-	-0,414			0,534	0,480		0,575	0,583
Возраст			0,711	-0,450	-0,371			0,622		0,555		
АДс		0,711		-0,458				0,800		0,732		
ФВЛЖ		-0,450	-0,458									
ОПКП	-0,414	-0,371							-0,487			
СОЭ								0,442		0,339	0,654	
Лейкоцит											0,733	0,808
АТ-Ан-2	0,534	0,622	0,800			0,442				0,589		
АТц-АДФ	0,480				-0,487					0,36	0,38	0,471
АТ-адрен		0,555	0,732			0,339		0,589	0,36		0,49	-0,66
АТ-ФАТ	0,575					0,654	0,733		0,38	0,49		0,808
АТ-коллаг	0,583						0,808		0,471	-0,66	0,808	

Примечания: приведены значения показателей ранговой корреляции Спирмена, которые имеют статистически значимую разницу от 0 ($p < 0,05$)

Значимая связь ОПКП и возраста остается стереотипной для всех стадий ХИМ ($r_{\text{ОПКП-возраст}} = -0,371$; $p < 0,05$) и, вероятно, связана с повышением концентрации внеклеточных пуринов при гипоксии\ишемии мозга. Подтверждением этого может быть сохранение отрицательной связи между ОПКП и АТ- индуцированной АДФ ($r_{\text{ОПКП-АТ-АДФ}} = -0,487$; $p < 0,05$).

Важным фактором риска развития III стадии ХИМ является появление у пациентов системной воспалительной реакции, отражением чего является повышение СОЭ и лейкоцитоза. Более того, доказано влияние хронической воспалительной реакции на когнитивные функции [263]. Считается, что хроническая церебральная гипоперфузия вызывает сложную временную экспрессию и активацию компонентов инфламмасомы и их последующих продуктов (IL-1 β и IL-18) в различных областях мозга, способствует активации путей апоптотической и пироптотической гибели клеток [113].

Лейкоцитоз и СОЭ считаются рутинными показателями наличия воспалительной реакции в организме, поэтому появление этих лабораторных индикаторов у пациентов с ХИМ представляет интерес с точки зрения установления возможных причин развития нейровоспаления.

Так, наличие корреляционной связи между СОЭ и активностью АТ₁-рецепторов к ангиотензину-2 подтверждает, что данный агонист является сильным провоспалительным медиатором эффект которого связан с увеличением проницаемости стенки капилляров, повышением экспрессии молекул адгезии для лейкоцитов на эндотелиальных клетках, хемоаттрактанта 1-типа для моноцитов (MCP-1), а также фактора некроза опухоли (ФНО- α ,) интерлейкина (IL) -6 и IL-8, которые являются мощными аттрактантами и активаторами нейтрофилов [198]. Стимуляция АТ₁-рецепторов может стимулировать пролиферацию и активацию лимфоцитов, продукцию АФК в лейкоцитах.

Значимая взаимосвязь активности ФАТ-рецептора с СОЭ и лейкоцитозом (соответственно, $r_{\text{ФАТ-СОЭ}} = 0,654$ и $r_{\text{ФАТ-Лц}} = 0,733$; $p < 0,05$) отражает роль лейкоцитов в реализации системной воспалительной реакции

(синтез белков плазмы острой фазы воспаления) и участие ФАТ в активации клеток крови.

В этом контексте наличие корреляционной связи высокой силы между количеством лейкоцитов и активностью GPVI рецептора к коллагену IV типа БМ сосудов ($r_{\text{Лц-АТ-коллаг}}=0,808$; $p<0,05$) отражает стереотипную реакцию активации лейкоцитов на этапе предшествующем их миграцию через стенку сосудов микроциркуляторного русла, которая направлена на ремоделирование БМ. Доказано, что повышенное рекрутирование нейтрофилов *in vivo* связано с изменением проницаемости БМ посткапиллярных венул связанной с увеличением деградации коллагена IV, снижением содержания ламинина и фибронектина [205]. В основе данного процесса лежит взаимодействие между перицитами и нейтрофилами, обеспечивающее повышение экспрессии ММП.

Чем интересны оказались выявленные взаимосвязи исследованных рецепторов, которые стимулируются агонистами, представляющими основные факторы патогенеза III стадии ХИМ?

Во-первых, выявленное повышение чувствительности ангиотензиновых АТ₁-рецепторов позволяет рассматривать активацию РАС в качестве фактора риска развития тяжелой формы ХИМ, поскольку повышение уровня Анг-2 сопровождается: нейровоспалением, вследствие пролиферации астроцитов и секреции ими провоспалительных медиаторов [211, 216]; ремоделированием ВКМ мозга и структур ГЭБ, что способствует прогрессированию когнитивных функций [220]; увеличением проницаемости стенки капилляров, связанной с деградацией белков БМ вследствие активации ММП-2 и ММП-9 [228] возрастанием парацеллюлярного транспорта биологически активных молекул (цитокинов, гормонов, медиаторов и т.п.) вследствие снижения экспрессии белков плотных соединений между эндотелиальными клетками (лит);

Во-вторых, установлено, что при III стадии ХИМ активация РАС в большей степени проявляется у лиц пожилого возраста ($r_{\text{Анг-В}}=0,622$; $p<0,05$).

В-третьих, при активации ангиотензиновых рецепторов возможно наличие гипергликемии ($r_{\text{Анг-B}} = 0,534$; $p < 0,05$), артериальной гипертензии ($r_{\text{Анг-АГ}} = 0,800$; $p < 0,05$) и системной воспалительной реакции ($r_{\text{Анг-СОЭ}} = 0,442$; $p < 0,05$), что позволяет прогнозировать относительные риски возможных осложнений у пациентов с III стадией ХИМ. Причем тяжесть развивающихся осложнений будет зависеть от взаимодействия AT_1 -рецептора и $\alpha 2$ -адренорецептора ($r_{\text{Анг-}\alpha 2\text{-AP}} = 0,589$; $p < 0,05$), что позволяет скорректировать медикаментозную терапию у данного контингента больных.

В нашем исследовании у пациентов с III стадией ХИМ выявлено повышение сенситивности пуриновых P2Y -рецепторов, что, вероятно, обусловлено возрастанием уровня внеклеточных нуклеотидов при гипоксии/ишемии мозга [175]. В этой связи, активация P2Y -рецепторов может быть фактором риска развития тяжелой формы ХИМ, поскольку сопровождается повышением внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} , следствием чего может быть нарушение функционирования глиальных и нейрональных модулей ЦНС, а также – повышение экспрессии генов микроглии, связанных с продукцией провоспалительных цитокинов (ИЛ- 1β , ИЛ-6 и ФНО- α [229].

Активация P2Y -рецепторов в большей степени проявляется при гипергликемии ($r_{\text{P2Y-ГГ}} = 0,480$; $p < 0,05$), а, значит, при наличии коморбидности с СД повышается риск развития гипоксии/ишемии мозга, что может быть связано с эндотелиальной дисфункцией. Наличие корреляционных связей сенситивности изученных рецепторов позволяет прийти к заключению, что при III стадии ХИМ в случае стимуляции P2Y -рецепторов можно ожидать активации $\alpha 2$ -адренорецептора ($r_{\text{P2Y-}\alpha\text{AP}} = 0,360$; $p < 0,05$), ФАТ-рецептора ($r_{\text{P2Y-ФАТ}} = 0,380$; $p < 0,05$) и GP VI -рецептора ($r_{\text{P2Y-ГГ}} = 0,471$; $p < 0,05$) на клетках мишенях. Как следствие взаимодействия P2Y -рецепторов и $\alpha 2$ -адренорецептора на гладкомышечных клетках сосудов возможно усиление вазоконстрикции и прогрессирование нарушения мозгового кровообращения; тогда как такое взаимодействие на клетках глии – будет влиять на функцию микроглии и астроцитов [258]. Взаимодействие P2Y -рецепторов и ФАТ-

рецепторов на Тц может не только провоцировать тромбогенез, но и способствовать внутриклеточной регенерации в структурах мозга вследствие усиления секреции PDGF; синергизм эффектов данных рецепторов на моноцитах увеличивает рекрутирование моноцитов в мозг, усиливает высвобождение ими MRF-1 для поддержания нейровоспаления [245]. Потенцирование эффектов стимуляции P2Y-рецепторов и GP VI-рецептором на микроглии мозга также будет способствовать прогрессированию нейровоспаления и ремоделированию ВКМ [242].

Повышение чувствительности $\alpha 2$ -адренорецепторов у пациентов с III стадией ХИМ позволяет утверждать, что активация САС может быть фактором риска развития цереброваскулярной патологии, поскольку повышение уровня адреналина сопровождается: сокращением гладких миоцитов в стенке сосудов, а следовательно, эпизодическая стресс-реакция будет провоцировать вазоконстрикцию и нарушение мозгового кровообращения (лит.); активацией лейкоцитов и секрецией ими MMP, что вызывает ремоделирование стенки сосудов и повышение проницаемости ГЭБ (лит.); ко-активацией $\alpha 2$ - и $\beta 2$ -адренорецепторов на моноцитах с последующим их рекрутированием в ЦНС (лит.); реактивным глиозом (лит.); повышением экспрессии нейротрофического фактора (BDNF) на астроцитах (лит.); изменением количества и состава тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов, обеспечивающих реализацию нейровоспаления (лит.); активацией астроцитов, клеток микроглии и секрецией ими провоспалительных цитокинов (ФАТ, ИЛ-6, ФНО- α), а также повышением экспрессии адгезивных молекул ICAM-1 и VCAM-1, что предопределяет снижение когнитивных функций (лит.).

Во-вторых, риск активации САС в большей степени более характерен для лиц пожилого возраста ($r_{\alpha AP-B} = 0,555$; $p < 0,05$). В-третьих, при активации $\alpha 2$ -адренорецепторов возможно наличие артериальной гипертензии ($r_{\alpha AP-AГ} = 0,732$; $p < 0,05$) и системной воспалительной реакции ($r_{\alpha ap-COЭ} = 0,339$; $p < 0,05$), что позволяет прогнозировать относительные риски этих осложнений у

пациентов с III стадией ХИМ. В-четвертых, тяжесть данных осложнений будет зависеть от взаимодействия $\alpha 2$ -адренорецептора с AT_1 -рецептора ($r_{\alpha 2-AP-AT} = 0,589$; $p < 0,05$), $P2Y$ -рецепторами ($r_{\alpha 2-AP-P2Y} = 0,360$; $p < 0,05$) и ФАТ-рецептором ($r_{\alpha 2-AP-ФАТ} = 0,490$; $p < 0,05$). Важным представляется наличие отрицательной корреляционной связи между активностью $\alpha 2$ -адренорецептора с $GP VI$ рецептора ($r_{\alpha 2-AP-AT} = -0,660$; $p < 0,05$), поскольку такое взаимодействие может отражать включение компенсаторной реакции, ограничивающей функционирование адренергических синапсов нейронов и глиии путем ремоделирования ВКМ мозга; такая возможность обсуждается в литературе [259].

Гиперреактивность ФАТ-рецепторов в определенной степени связана с гипергликемией ($r_{ФАТ-ГГ} = 0,575$; $p < 0,05$), что отражает развитие с системной воспалительной реакции у пациентов с СД, функциональное обеспечение которой связано с аутокринной стимуляцией лейкоцитов, прежде всего Нф. Подтверждением данного утверждения может быть наличие корреляционной связи между активностью ФАТ-рецептора, СОЭ ($r_{ФАТ-СОЭ} = 0,654$; $p < 0,05$) и количеством лейкоцитов ($r_{ФАТ-Лц} = 0,733$; $p < 0,05$). Появление корреляционной связи средней и высокой силы между основными индикаторами воспалительной реакции у пациентов с III стадией ХИМ свидетельствует о включении стереотипных механизмов связанных с синтезом белков острой фазы воспаления, увеличением количества лейкоцитов и их рекрутированием в ткани. Таким образом, наличие коморбидности ХИМ с СД повышает риск развития системной воспалительной реакции и нейровоспаления в мозге.

Повышение уровня ФАТ в нервной ткани мозга и спинномозговой жидкости может быть фактором риска развития III стадией ХИМ, поскольку стимуляция соответствующих рецепторов на клетках-мишенях может сопровождаться: модуляцией функционирования синапсов ЦНС и усилением когнитивных нарушений у пациентов; активацией астроцитов и микроглии, поддерживающих нейровоспаление [134] ; увеличением проницаемости эндотелия и ГЭБ [183]; возрастанием парацеллюлярного пути транспорта

веществ из сосудистого русла, поскольку снижается экспрессия ZO-1- белка и увеличивается количество F-актиновых филаментов в эндотелиальных клетках [54]. Тяжесть патологических процессов в мозге, сопряженных с активацией ФАТ-рецептора, будет зависеть от а) взаимодействия ФАТ-рецептора с пуринаргическими P2Y-рецепторами ($r_{\text{ФАТ-P2Y}} = 0,380$; $p < 0,05$), которые индуцируют проагрегантный статус Тц и нарушение микроциркуляции мозга [52], а также – секрецию MRF-1 (microglial response factor), потенцирующего эффекты разных факторов патогенеза воспаления [90]. От взаимодействия ФАТ-рецептора и $\alpha 2$ -адренорецептора ($r_{\text{ФАТ-}\alpha 2\text{-AP}} = 0,490$; $p < 0,05$) можно ожидать усиление реактивности клеток крови принимающих участие в обеспечении нейровоспаления, в т.ч. моноцитов-микроглии [88], а следовательно при активации САС возрастает риск усиления нейровоспаления. Наличие корреляционной связи высокой силы между активностью ФАТ-рецептора и GP VI-рецептора ($r_{\text{ФАТ-GP VI}} = 0,380$; $p < 0,05$) свидетельствует о появлении ключевого звена патогенеза III стадии ХИМ – ремоделирования ВКМ; связанного с потенцированием активации микроглии; следствие, этого патологического процессов может быть нарушение функционирования синапсов и ГЭБ. (Таблица 5.14.)

Увеличение реактивности GP VI-рецептора к растворимому коллагену IV типа у пациентов с III стадией ХИМ при гипергликемии ($r_{\text{GP-VI-ГГ}} = 0,583$; $p < 0,05$), отражает частный случай разрушения рыхлой волокнистой соединительной ткани при развитии в ней воспалительной реакции. Усиление деградации коллагена БМ сосудов у пациентов с СД связано с секрецией ММР активированными лейкоцитами ($r_{\text{GP-VI-Лц}} = 0,808$; $p < 0,05$), сопровождается эндотелиальной дисфункцией и повышением проницаемости ГЭБ (Таблица 5.15.). Таким образом, гиперреактивность GP VI-рецептора может быть чувствительным индикатором развития сосудистой деменции при коморбидности ХИМ и СД. Тяжесть сосудистых нарушений в мозге при активации GP VI-рецептора у пациентов с III стадией ХИМ будет зависеть от сопряженности внутриклеточных сигнальных путей связанных с

пуринергическими P2Y-рецепторами ($r_{\text{GP-VI-P2Y}} = 0,471$; $p < 0,05$) на клетках мишенях. Данное взаимодействие рецепторов на микроглии может обеспечить поддержание нейровоспаления и ремоделирование ВКМ мозга [87], на астроцитах одновременная стимуляция GP VI-рецептора и P2Y-рецепторов будет способствовать миелинизации нервных волокон [76]. От синергизма стимуляции GP-VI-рецептора и ФАТ-рецептора ($r_{\text{GP-VI-ФАТ}} = 0,808$; $p < 0,05$) также можно ожидать поддержание активности микроглии [93].

Отрицательная корреляционная связь между активностью GP VI рецептора и $\alpha 2$ -адренорецептора, как уже отмечалось, отражает защитный характер ремоделирования ВКМ связанный с модулированием адренергических синапсов нейронов и глии.

Таким образом, ведущим механизмом патогенеза III стадии ХИМ является развитие нейровоспаления и ремоделирование ВКМ, которые развиваются на фоне сохраняющейся активации РАС и САС и прогрессирующей ишемии мозга (Таблица 5.16.). Возникающая при этом стимуляция и взаимодействие ангиотензинового AT_1 -рецепторов, $\alpha 2$ -адренорецепторов, пуриновых P2Y-рецепторов, ФАТ-рецептора и GP VI-рецептора на клетках-мишенях может сопровождаться стереотипными реакциями в головном и спинном мозге. Такой тип реакций направлен на активацию астроцитов и микроглии, следствием чего является нарушение функционирования синапсов ЦНС, продукция провоспалительных цитокинов, увеличение проницаемости эндотелия и ГЭБ, что, в итоге, предопределяет снижение когнитивных функций пациента.

Таблица 5.14.

Биологические эффекты GP-VI -рецепторов и возможные взаимодействия



Таблица 5.15.

Биологические эффекты ФАТ-рецепторов и возможные взаимодействия

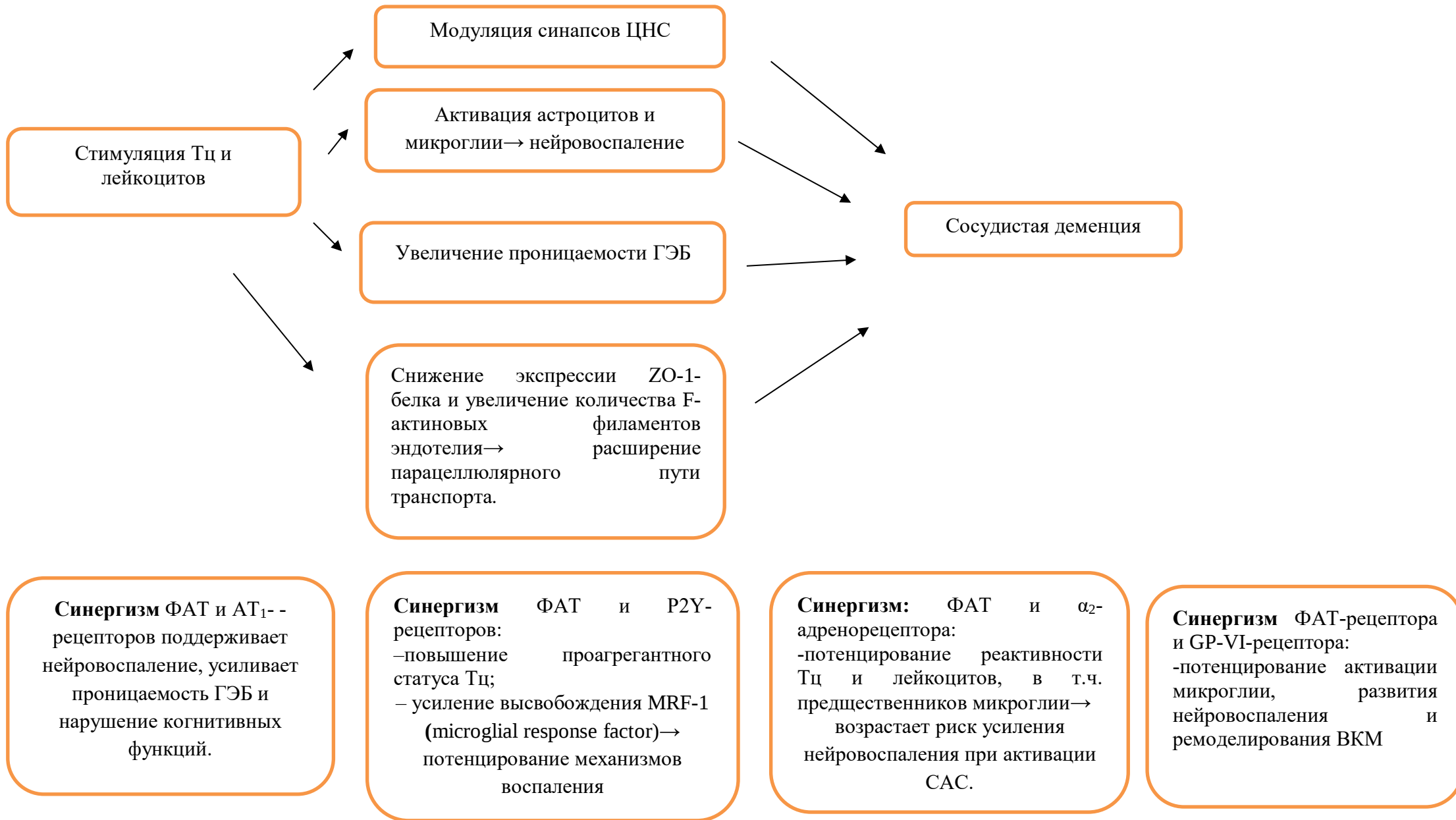
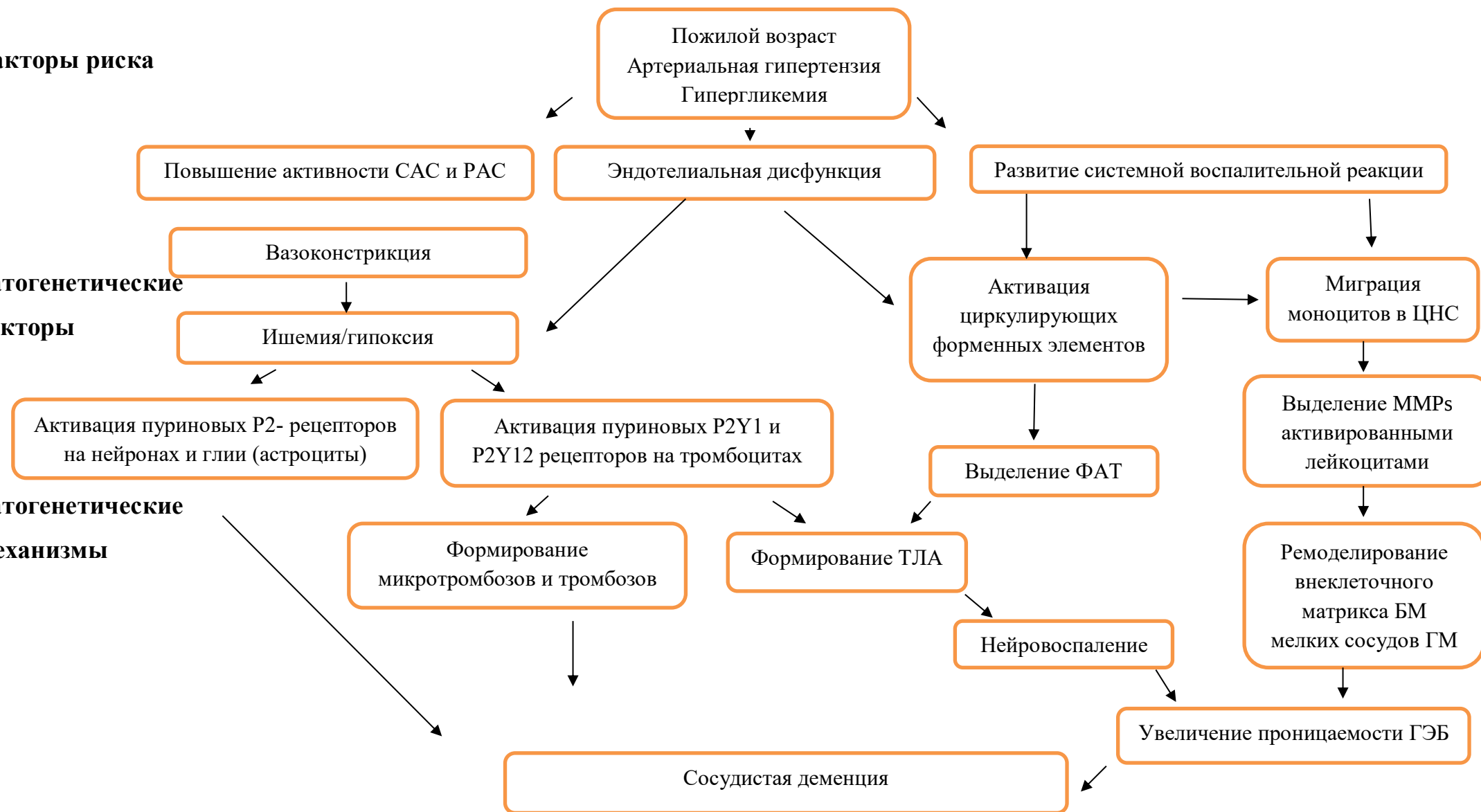


Таблица 5.16.

Схема патогенеза III стадии ХИМ

Факторы риска

Патогенетические
факторыПатогенетические
механизмы

АНАЛИЗ И ОБОБЩЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Традиционно предикторами ХИМ считаются артериальная гипертензия, сахарный диабет, ожирение, курение, системная воспалительная реакция, возраст и пол пациента [53, 121, 52]. Необходимо было выяснить – какие патогенетические механизмы лежат в основе действия каждого конкретного фактора риска? Ответить на данный вопрос возможно, если проанализировать функциональную активность рецепторов на клетках-мишенях, поскольку их экспрессия и стимуляция обусловлены действием основных факторов риска. Важной задачей было оценить значимость взаимосвязей рецепторов при прогрессировании ХИМ.

По результатам клинико-инструментального обследования пациентов у 27 пациентов установлена I стадия ХИМ, из которых было 8 (29,6%) мужчин, средний возраст которых составлял $49,0 \pm 3,4$ лет (ДИ 40-57) и 19 (70,3%) женщин в возрасте $53,6 \pm 1,3$ лет (ДИ 50-56 лет).

Наиболее частыми жалобами были головная боль, расстройство сна, снижение фона настроения и головокружение. При неврологическом обследовании у больных часто проявлялись нарушения черепной иннервации в виде асимметрии носогубных складок, анизокории, слабости конвергенции и легкой девиации языка. Батарея тестов лобной дисфункции выявила незначительное снижение общей психической активности, эпизодической памяти, интеллектуальной гибкости. Тестирование нейрокогнитивных функций по краткой шкале MMSE на момент госпитализации пациентов не выявило нарушений - общий показатель когнитивной производительности (ОПКП) находился в пределах $28,0 \pm 0,5$ балла (95% ДИ 26,0-29,0 балла).

Недостаточная информативность показателей, позволяющих оценивать тяжесть и прогрессирование ХИМ, явилась основанием для разработки новых диагностических технологий.

Проведенный анализ активности рецепторов Тц (кластера активности рецепторов) при всех стадиях ХИМ позволил уточнить факторы риска и патогенетические механизмы прогрессирования заболевания. У 27 пациентов с I стадией ХИМ выявлена гиперреактивность α_2 -адренорецептора, АТ₁-рецептора и нормореактивность GPVI-рецептора, ФАТ-рецептора, P2Y-рецепторов, что отражает участие САС и РАС в развитии I стадии ХИМ.

Полученные результаты свидетельствовали о наличии адренергического фенотипа Тц у пациентов с I стадией ХИМ. При этом гиперреактивность α_2 -адренорецептора может трактоваться как компенсаторный нейропротекторный механизм.

В результате анализа многофакторных логистических моделей регрессии были установлены три признака сильно связанных с развитием I стадии ХИМ. Это возраст пациента, активность АТ₁ – рецептора и α_2 -адренорецептора.

В процессе анализа причинно-следственных связей патогенеза ХИМ I стадии было установлено, что фактором риска развития I стадии ХИМ является возраст пациента. О чем свидетельствуют корреляционные связи с такими показателями как гиперсенситивность α_2 -адренорецептора и АТ₁-рецептора, уровень тревожности, значения оценки памяти.

Немаловажным является фактор риска такой как АГ. В литературе имеется достаточное количество данных подтверждающих влияние АГ на функцию головного мозга [115, 267].

Механизмы атрофии головного мозга, вызванной гипертонией, остаются неясными, но (а) хроническая гипоперфузия, приводящая к потере нейронов, (б) ретроградная нейродегенерация из-за деафферентации из-за поражений в других областях мозга или (с) сосудистый окислительный стресс и воспаление, приводящее к нейроваскулярной трофической недостаточности, являются потенциальными способствующими факторами. Наиболее распространенными поражениями головного мозга, связанными с артериальной гипертензией, являются поражения белого вещества, особенно

в лобной коре, которые проявляются в виде областей гиперинтенсивности на T2-взвешенной МРТ. АГ считается основной причиной заболевания белого вещества, но механизмы до конца не выяснены. Церебральная гипоксия/ишемия из-за стеноза или окклюзии сосудов, питающих белое вещество, которые особенно восприимчивы к влиянию гипертензии, считается основной причиной [231]. В поддержку этой гипотезы сообщалось о снижении мозгового кровотока в нормально выглядящем белом веществе и экспрессии маркеров гипоксии. Другие исследования не подтвердили эту точку зрения [65, 78] и предположили, что гипоперфузия является не причиной, а следствием поражения белого вещества [156]. Воспаление, активация металлопротеаз и повышенная проницаемость ГЭБ в белом веществе могут привести к сдвигу воды и локальному отеку, приводящему к компрессии и окклюзии микрососудов [193]. Также была установлена связь между здоровьем сосудов и поддержанием, и восстановлением белого вещества олигодендроцитами. Популяция олигодендроцитов, ассоциированных специфически с церебральными кровеносными сосудами, была [177] идентифицирована, и для пролиферации и выживания олигодендроцитов необходимы факторы роста сосудов.

Немаловажным является выяснение механизмов снижения тревожности у пациентов с I стадией ХИМ. Морфометрический анализ аксодендритных синапсов показал, что с возрастом уменьшается пресинаптическая площадь и количество синапсов, однако в ядре миндалевидного тела увеличивалось количество митохондрий в пресинаптической части. Структурные основы данного компенсаторного механизма, направленные на поддержание энергообеспечения синаптической передачи при возрастных изменениях мозга, еще предстоит осмыслить, однако усиление процессов энергообразования в митохондриях мозга может оказаться перспективной мишенью для терапевтического вмешательства на этой стадии жизни у пациентов с ХИМ 1 стадии. Была выявлена корреляция между индикатором памяти и общим показателем когнитивной производительности, которые

оценивали в баллах при нейрокогнитивном тестировании пациентов по краткой шкале MMSE, и активностью $\alpha 2$ -адренорецептора. Данная взаимосвязь, вероятно, отражает нейропротекторную роль $\alpha 2$ -адренорецептора при церебральной ишемии [73] и объясняет отсутствие значимых нарушений вербальной памяти, ориентации, счетных операций и функций гнозиса у пациентов с ХИМ I стадии.

Были выявлены связи возраста с рядом индикаторов гомеостаза у данного контингента больных. Так, выявлена связь между: (а) возрастом и систолическим АД; (б) возрастом и гиперсенситивностью $\alpha 2$ -адренорецептора и AT1-рецептора; (в) возрастом пациентов и уровнем личной тревожности, значениями оценки памяти, что согласуется с имеющиеся в литературе данными о наличии возрастных нейропсихологических и когнитивных нарушений [88]; (г) возрастом и количеством лейкоцитов, что свидетельствует о предрасположенности пожилых пациентов к развитию системной воспалительной реакции [156]. Таким образом, если судить по критериям нейропсихологического и когнитивного тестирования, то фактором риска развития ХИМ I стадии могут быть возрастные изменения метаболизма мозга (например, связанные с повышением возраста пациента на каждые 10 лет). Данные изменения могут быть обусловлены активацией PAC и SAC, увеличением количества и активности лейкоцитов способных секретировать цитокины модулирующие активность нейронов и глии.

Оценивая биологические эффекты стимуляции $\alpha 2$ -адренорецепторов на гладких миоцитах мы пришли к выводу, что при активации данных рецепторов наблюдается следующая последовательность событий: сокращение гладких миоцитов $\rightarrow$ вазоконстрикция $\rightarrow$ нарушение микроциркуляции. Что касемо активации данных рецепторов на глии – модуляция функции микроглии и астроцитов.

Что касемо биологических эффектов AT1-рецепторов было устанавлено, что при активации AT1-рецепторов усиливается папацеллюлярный

транспорт связанный со снижением экспрессии белков плотных соединений между эндотелиальными клетками. Усиливает высвобождение симпатических нейромедиаторов в ЦНС. В частности, облегчается высвобождение вазопрессина, дофамина и норадреналина. Снижает ГАМК и усиливает высвобождение глутамата.

Что касемо эффектов самого ангиотензина II, он вырабатываемый в головном мозге, оказывает множество нервных эффектов. Он активирует поведенческие эффекты путем избирательной активации подтипов рецепторов ANG II в разных местах. Он регулирует симпатическую активность и барорефлексы и способствует нейрогенной гипертензии. Новые результаты указывают на то, что РАС головного мозга участвует в гораздо более широком спектре нейронных эффектов.

ХИМ II стадии диагностирована у 37 пациентов, $9,5 \pm 2,1$ лет (ДИ 65,1-73,9). При исследовании неврологического статуса наиболее часто выявлялись поражения черепно-мозговых нервов (слабость конвергенции, асимметрия лица и глазных щелей) и нарушения в рефлекторной сфере (повышение сухожильных рефлексов, патологические стопные признаки), дискоординаторные расстройства. Прогрессирование ХИМ от I к II стадии проявлялось снижением памяти и раздражительностью, увеличением частоты нарушений в координаторной деятельности (неустойчивость в позе Ромберга, дискоординация при выполнении пальце-носовой пробы), гипокинезией, ригидностью и тремором, а также нарушением чувствительности

У пациентов с ХИМ II стадии гиперреактивность рецепторов Тц воспроизводили адреналин, Ан-2 и АДФ. Для ФАТ-рецептора и GP VI-рецептора была характерна нормореактивность. Кластер активности рецепторов Тц представлен следующим образом: активность α_2 -адренорецептора = активности AT_1 -рецептора > активности P2Y-рецепторов = активности ФАТ-рецептора > активности GP VI-рецептора. Спирмена, которые имеют статистически значимую разницу от 0 ($p < 0,05$).

Было определено, что фактором риска появления когнитивных нарушений у пациентов с II стадией ХИМ является нарушение пуринового метаболизма в головном мозге, возникающее при эпизодическом или перманентном снижении мозгового кровообращения. Вероятно, при прогрессировании заболевания мы сталкиваемся со следующей последовательностью причинно-следственных связей: повышение уровня аденозин-5'-трифосфат (АТФ) → активация пуриновых рецепторов на нейронах, глиальных клетках и эндотелии сосудов → нарушение когнитивной функции пациента. Причиной увеличения внеклеточного содержания нуклеотидов (АТФ, АДФ, аденозин) может быть (а) нарастающая ишемия мозга [173], (б) повышение функциональной активности Тц, секретирующих пуриновые нуклеотиды.

Более ранние исследования показали, что в ответ на гипоксию аденозин вырабатывается внутриклеточно и высвобождается в окружающую среду, откуда он запускает различные действия посредством активации рецепторов [213]. Растущее количество данных свидетельствует о том, что пуриновые нуклеотиды и нуклеозиды могут действовать как трофические факторы как в центральной, так и в периферической нервной системе и участвуют в регуляции развития и пластичности нервной системы [173]. Сообщалось, что аденозин действует как мощный эндогенный нейропротектор во время индуцированной ишемией энергетической недостаточности, снижая метаболизм нейронов и увеличивая мозговой кровоток, а также играя различные роли в качестве внутри- и межклеточного мессенджера [213, 266].

Артериальная гипертензия рассматривается как фактор риска когнитивных нарушений [172], роль РАС в развитии этой патологии продолжает изучаться [106]. В экспериментальных исследованиях установлено, что снижение пространственного обучения и памяти у крыс происходит на фоне повышения уровня Ан-2 в крови, коре головного мозга и гиппокампе [109]. Salmani H. et al. [211] показали, что блокада АТ₁ рецептора улучшала способность к обучению и память, уменьшала тревожное

поведение. Gupta V. et al [98] считают, что достигнутый эффект связан с сохранением дыхательной функции митохондрий, ингибированием окислительного стресса, снижением апоптоза нейронов и ограничением нейровоспаления.

Если сопоставить активность рецепторов у пациентов с I и II стадией ХИМ, то можно прийти к заключению, что стереотипными механизмами развития ХИМ являлись активация САС и РАС, поскольку сохранялась гиперреактивность α_2 -адренорецептора и АТ₁-рецептора. Фактором прогрессии ХИМ выступало усиление нарушения мозгового кровообращения, отражением чего было повышение активности P2Y-рецепторов ($P < 0,001$) относительно таковой при ХИМ I стадии. При выборе оптимального порога принятия решения (по Youden Index) установлен критический порог АДФ-индуцированной АТц (АДФcrit) на уровне 54%. При значении показателя АДФcrit $> 54\%$ у пациента имела место 2-я стадия ХИМ, а при значении АДФcrit $< 54\%$ – I стадия заболевания.

У пациентов с III стадией ХИМ (45 пациентов) наиболее характерным проявлением заболевания было стойкое мнестико-интеллектуальное снижение, которое проявлялось значительным снижением памяти, концентрации внимания, трудностями обобщения, абстрагирования и переключения. Нейрокогнитивное тестирование по краткой шкале MMSE у пациентов с ХИМ III стадии выявило нарушения по сравнению с таковыми при II стадии заболевания. При МРТ у пациентов с III стадией ХИМ не выявлено значимых морфологических изменений мозга по сравнению с таковыми при II стадии. Результаты дуплексного сканирования сосудов шеи и головы подтверждают данные [10], что причиной прогрессирования ХИМ может быть хроническое снижение мозгового кровообращения, связанное с атеросклерозом.

Обращает на себя внимание выявленный лейкоцитоз. Отмечался сдвиг лейкоцитарной формулы «влево» – содержание ПЯ-Нф повышалось в 2,4 раза ($P = 0,032$) по сравнению с II стадией ХИМ. Таким образом,

прогрессирование ХИМ могут сопровождаться усилением миелинотрофика для поддержания воспалительной реакции. Известно, что нейровоспаление непосредственно и систематически способствует рекрутированию периферических воспалительных клеток и увеличению проницаемости ГЭБ при ЦВП [13, 45, 78]. Системное воспаление также влияет на память, зависящую от гиппокампа [163, 245]. Активация микроглии вызывает их пролиферацию при нейровоспалительных состояниях [32, 78]. Кроме того, астроциты, нейроны, перициты головного мозга, Т-клетки и тучные клетки также играют важную роль в механизмах воспаления головного мозга. Исследования показали, что периферическое воспаление усугубляет нейровоспаление и нейродегенерацию в головном мозге, включая область черного вещества. Исследования на животных показали, что системное воспаление активирует микроглию в головном мозге и высвобождает медиаторы воспаления [118].

Выявленные биологические эффекты активности P2Y-рецепторов показывают увеличение внутриклеточной концентрации Ca в микроглии. Что в свою очередь приводит к изменению функционирования модулей в ЦНС и экспрессия генов микроглии, связанных с продукцией провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α).

У больных с III стадией ХИМ выявленное повышение ($p < 0,001$) уровня общего холестерина, ЛПНП и индекса атерогенности может сопровождаться эндотелиальной дисфункцией, вазоконстрикцией и дисфункцией Тц [7, 215]. Эффекты существенно усиливаются при декомпенсации углеводного обмена за счет активации полиолового пути окисления глюкозы, накопления конечных продуктов гликолиза, активации синтеза свободных радикалов, снижения синтеза NO [112]. Установлено, что у пациентов с ХИМ все исследованные агонисты воспроизводили гиперреактивность рецепторов Тц. Кластер активности рецепторов Тц можно представить следующим образом: активность АТ₁-рецептора = активности P2Y-рецепторов > активности α_2 -адренорецептора > активности ФАТ-рецептора = активности GP VI-

рецептора. Механизмы, ответственные за прогрессирование ХИМ, связаны с повышением активности P2Y-рецепторов ($P < 0,001$), ФАТ-рецептора ($P < 0,001$) и GP VI-рецептора ($P < 0,001$). Следовательно, факторами риска прогрессии от II к III стадии ХИМ являются усиливающиеся процессы дисрегуляции пуринергической системы организма, в т.ч. пуринергической системы мозга, увеличение тяжести системной воспалительной реакции, связанной с активацией лейкоцитов и выраженность ремоделирования стенки сосудов.

Наиболее информативными показателями по данным анализа ROC кривых оказалась активность трех рецепторов – P2Y-рецепторов, ФАТ- и GP VI-рецепторов, стимуляция которых являлась фактором риска прогрессирования ХИМ

В литературе представлены публикации, описывающие этиологию и патогенез хронической ишемии мозга (ХИМ) [25, 200]. Тем не менее, до настоящего времени не удалось создать эффективные математические модели прогнозирования риска прогрессирования ХИМ, что сдерживает раннюю диагностику и эффективную профилактику данного заболевания. Поскольку разработка моделей традиционно основывается на данных клинико-лабораторного и нейровизуализационного исследования, то низкая диагностическая значимость моделей свидетельствует, прежде всего, об отсутствии информативных показателей, отражающих кинетику метаболических процессов в структурах мозга при ХИМ. Приходится констатировать, что недостаточное знание молекулярных механизмов патогенеза ХИМ сдерживает разработку математических моделей оценки риска прогрессирования ЦВЗ. Перспективным подходом к решению существующей задачи может оказаться исследование *in vitro* реактивности рецепторов на гуморальные факторы, связанные с факторами риска и участвующие в патогенезе ЦВЗ. В частности, при ХИМ доказано участие пуринергической, адренергической и ренин-ангиотензиновой систем (РАС) мозга, нейровоспаления и ремоделирования внеклеточного матрикса мозга

(ВКМ) в регуляции функциональной активности клеток крови, эндотелия сосудов, нейронов и глиальных клеток [49, 180]. В этой связи логично *предположить* наличие взаимосвязи между активностью рецепторов Тц (как следствие системного влияния гуморальных факторов) и прогрессированием ХИМ; в случае подтверждения гипотезы открывается возможность прогнозирования тяжелой стадии заболевания.

Проведенный анализ показал, что активность АТ₁-рецепторов положительно коррелирует со стадией ХИМ и функциональным состоянием Р2У-пуриновых, ФАТ- и GP-VI рецепторов. Наличие корреляции между активностью АТ₁-рецепторов и Р2У-рецептора представляет особый интерес, поскольку у лиц пожилого возраста отмечается: (а) димеризация АТ₁- и Р2У-рецепторов, которая обеспечивает стойкую АГ при активации РАС; (б) ремоделирование сосудистой стенки, связанное с эффектами Ан-2 [233]. Данный факт объясняет, почему возраст может быть фактором риска АГ. Активация РАС является фактором риска повышения проницаемости стенки сосудов микроциркуляторного русла, что связано со снижением экспрессии белков плотных соединений между эндотелиальными клетками и разрушением коллагена IV типа в БМ посредством MMP [188, 183]. Выявленная связь АТ₁-рецептора и GP-IV-рецептора к коллагену подтверждает участие РАС в ремоделировании ВКМ при ХИМ [147]. Также доказано, что Ан-2 стимулирует пролиферацию астроцитов [182] и секрецию клетками глии нейровоспалительных медиаторов [180]. Взаимодействие Ан-2 и ТФР-β1 в астроцитах сопровождается повышением синтеза молекул ВКМ [182]. Поскольку СД является фактором риска нейровоспаления [180,141], то гиперактивация АТ₁-рецепторов может вызывать распространение воспалительной реакции в мозге. Взаимодействие АТ₁- и ФАТ-рецепторов может способствовать прогрессированию ХИМ, поскольку возможны: (а) паракринная стимуляция Тц и лейкоцитов, обеспечивающая формирование ТЛА для поддержания нейровоспалительной реакции; (б) активация микроглии вследствие потенцирования эффектов внутриклеточной

сигнализации связанной с Gq-белком [245, 180]; результатом такого взаимодействия может быть усиление высвобождения MRF-1 (microglial response factor) с помощью Ca^{2+} зависимого механизма [238]; (в) увеличение проницаемости ГЭБ и нарушение когнитивных функций [276, 282, 49].

Если сравнить силу корреляционной связи P2Y-рецептора, то такая в равной степени проявляется в отношении взаимодействия с AT_1 -рецептором, GP-VI рецептором, ФАТ-рецептором и α_2 - адренорецептором.

Пуринергическая сигнальная система организма контролирует воспалительные реакции в нервной системе [39]. Высвобождение цитокинов, активация и миграция микроглии, а также изменение функции астроглии, являются ключевыми механизмами нейровоспалительного ответа. Значимость активации пуриновых P2Y-рецепторов (P2Y_1 и P2Y_{12}) в патогенезе ХИМ определяется участием в функционировании различных глиальных и нейрональных модулей нервной системы, реализации межклеточного взаимодействия между микроглией и астроцитами [197], обеспечении микроглиального фагоцитоза [265], экспрессии генов микроглии [153].

Как уже отмечалось, взаимодействие AT_1 - и P2Y-рецепторов может способствовать развитию АГ, которая, сама по себе, является фактором риска развития и прогрессирования ХИМ [144]. В тоже время общность внутриклеточных сигнальных систем каждого из рецепторов, может воспроизводить нарушение микроциркуляции мозга и развитие нейровоспаления [59]. Малоизученными остаются эффекты активации PAC на фоне предсуществующей гипоксии/ишемии мозга. Silpanisong J. et al. [220] установили, что гипоксия может вызывать функциональное и структурное ремоделирование сосудистой стенки вследствие изменения экспрессии ядерных транскрипционных факторов, активности тирозинкиназных рецепторов (VEGF, PDGF, ангиопоэтины), а также – модуляции механизмов связанных с действием трансформирующего фактора роста (TGF), оксида азота (NO), эндотелина, ангиотензина-2, катехоламинов

и пуринов. В этой связи можно предположить, что синергизм активации P2Y- и АТ₁-рецепторов является одним из патогенетических механизмов, лежащих в основе риска прогрессирования ХИМ. Выявленная корреляция между активностью P2Y-рецепторов и GP-VI рецепторов к коллагену, вероятно, отражает ремоделирование ВКМ при активации P2Y-рецепторов микроглии [290]. Эффект связан с хемотаксисом микроглии и направленным ростом ее отростков [181] при активации P2Y-рецепторов.

Наличие связи между активностью P2Y-рецепторов и ФАТ-рецептора представляет интерес, поскольку обеспечивает поддержание хронического нейровоспаления активированными Тц, которые секретируют PDGF (Platelet-derived growth factor); последний вызывает усиленную инфильтрацию моноцитов в мозг, экспрессирующих соответствующий рецептор (PDGFR- β) [269]. В свою очередь, макрофаги (микроглия) мозга выделяют провоспалительные факторы (ИЛ-1 β , ФНО- α), что усиливает активацию астроцитов и нейтрофильную инфильтрацию. В этом контексте, взаимодействие P2Y-рецепторов и ФАТ-рецептора отражает: (а) функционирование механизма рекрутирования клеток крови для обеспечения воспалительной реакции; (б) формирование в циркулирующей крови ТЛА, посредством паракринных механизмов стимуляции клеток крови [227, 120]; (в) тромбогенез и геморрагическую трансформацию инсульта связанную с ремоделированием стенки сосудов, поскольку совместное действие гипоксии (образование внеклеточного пула АТФ, АДФ), активация Тц, лейкоцитов, эндотелия и перицитов, а также микроглии (синтез ФАТ) вызывают деградацию белков ВКМ [274, 239]; (г) восстановление функциональной активности гипореактивных тромбоцитов на фоне антиагрегантной терапии у пациентов с ХИМ. Что касается возможных механизмов потенцирования проагрегантного действия АДФ при блокаде синтеза ТхА₂, то можно предположить функционирование альтернативных ТхА₂-независимых путей агрегации тромбоцитов. Поскольку АТФ и ФАТ усиливают высвобождение MRF-1 (microglial response factor) из микроглии с помощью Ca²⁺ зависимого

механизма [239], то это предполагает потенцирование эффектов стимуляции P2Y- и ФАТ-рецепторов, Результатом такого взаимодействия может быть как прогрессирование нейровоспаления, так и нарушение сигнализации в системе нейрон-глия. Подтверждением этой гипотезы может быть дисрегуляция микроглии при болезни Альцгеймера, при этом ФАТ вызывал снижение поступления Ca^{2+} , а АТФ – его повышение [168].

На синергизм сигнальных путей при активации P2Y-рецепторов и α_2 -адренорецепторов при ишемии мозга впервые обратили внимание [139]. Причины этого феномена имеет смысл искать в следующих установленных фактах: во-первых, существует двойной контроль сосудистого тонуса посредством АТФ, который высвобождается: (а) из периваскулярных симпатических терминалей как котрансммиттер с норадреналином, при этом вазоконстрикция развивается вследствие стимуляции P2X1-рецептора; (б) из эндотелия в ответ на изменения кровотока или гипоксии; при этом АТФ действует на P2X и P2Y-рецепторы эндотелиальных клеток, синтезирующих NO и гиперполяризующий фактор (endothelium-derived hyperpolarizing factor), что сопровождается вазодилатацией [51]. Во-вторых, катехоламины участвуют в ремоделировании стенки сосудов посредством стимуляции α -адренорецепторов [249].

Таким образом, повышение экспрессии α -адренорецепторов и возможность взаимодействия с сигнальными путями, связанными с P2Y рецепторами, может усиливать нарушение мозгового кровообращения, что особенно значимо у лиц пожилого возраста. Данный факт объясняет – почему активация САС является фактором риска прогрессирования ХИМ у данного контингента больных. В-третьих, активация P2X- и P2Y-пуринорецепторов приводит к повышению концентрации Ca^{2+} в микроглии [111]; поскольку адреналин посредством α_2 -адренорецепторов также увеличивает внутриклеточное содержание Ca^{2+} то, вероятно, различные функции микроглии (например, продукция цитокинов, фагоцитоз) могут модулироваться САС. Взаимодействие пуринергических рецепторов и

адренорецепторов представляется актуальным в связи с присутствием двух факторов риска – нарушения мозгового кровообращения (гипоксия/ишемия мозга) и активации САС. В четвертых, установлено, что α - и β -адренергические рецепторы экспрессируются на микроглии [230]. Активация адренорецепторов при остром или хроническом стрессе сопровождается участием микроглии в нейровоспалительных реакциях; эффект связан с высвобождением ИЛ-1 β из микроглии и последующим рекрутированием моноцитов в мозг [258, 116].

ВЫВОДЫ

В диссертации проведен анализ функциональной активности рецепторов тромбоцитов у пациентов при прогрессировании ХИМ и достигнуто современное решение актуальной научной задачи в области патологической физиологии – установить факторы риска и ведущие патогенетические механизмы неврологических и нейрокогнитивных нарушений при хроническом нарушении мозгового кровообращения.

1. Возрастные изменения метаболизма мозга, связанные с активацией РАС и САС являются факторами риска развития I стадии ХИМ, подтверждением чего является построенная многофакторная логистическая модель ($AUC = 0,901$; 95% ДИ 0,723- 0,982). Одновременное повышение активности ангиотензинового AT_1 -рецептора и α_2 -адренорецептора провоцирует нарушение микроциркуляции и модулирует нейромедиаторный обмен в нейронах и глии мозга, что проявляется развитием личностной тревожности у данного контингента больных.

2. Ключевым патогенетическим фактором прогрессирования от I к II стадии ХИМ является прирост реактивности AT_1 -рецептора на фоне сохранения гиперреактивности α_2 -адренорецептора, что усиливает гипоксию и ишемию мозга; как следствие нарушается пуриновый метаболизм и возникает гиперреактивность $P2Y$ -рецепторов на тромбоцитах. Молекулярные механизмы, инициированные данными рецепторами в клетках-мишенях, являются основой развития личностной тревожности и когнитивных нарушений у пациентов с II стадией ХИМ.

3. Анализ построенных однофакторных моделей логистической регрессии подтвердил, что фактором риска развития II стадии ХИМ является нарушение пуринового метаболизма мозга, отражением чего может быть критический уровень АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов. При значении показателя (АДФcrit) $>54\%$ у пациента имела место ХИМ II стадия, а при значении АДФcrit $<54\%$ – I стадия заболевания. Для выбранного порога

чувствительность предлагаемого диагностического теста составляет 93,3% (95% ДИ 68,1%-99,8%) и специфичность – 60% (95% ДИ 26,2%-87,8%). Площадь под кривой операционных характеристик $AUC = 0,830$ (95% ДИ 0,627 – 0,949).

4. Факторами риска III стадии ХИМ являются пожилой возраст, гипергликемия, артериальная гипертензия и снижение фракции выброса левого желудочка (ФВЛЖ), влияние которых на развитие вестибуло-атактического, паркинсонического и псевдобульбарного синдромов, психоэмоциональных и нейрокогнитивных нарушений связано с гиперреактивностью пуриновых P2Y-рецепторов, AT_1 -рецептора, α_2 -адренорецептора, ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора на Тц.

5. Значимыми факторами риска прогрессии от II к III стадии ХИМ являются усиливающиеся процессы дисрегуляции пуринергической системы организма, увеличение тяжести системной воспалительной реакции связанной с активацией лейкоцитов и выраженность ремоделирования стенки сосудов, отражением чего было повышением активности P2Y-рецепторов на 20,3% ($P < 0,001$), ФАТ-рецептора на 11,3% ($P < 0,001$) и GP VI-рецептора на 15,4% ($P < 0,001$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для повышения эффективности диагностики стадий ХИМ помимо общепринятых клинико-неврологических, клинико-инструментальных методов обследования пациентов целесообразно определять функциональную активность и взаимодействие рецепторов тромбоцитов.

2. У пациентов с ХИМ исследование функциональной активности ангиотензинового AT_1 -рецептора, пуриновых $P2Y$ - ($P2Y_1$ и $P2Y_{12}$) рецепторов, рецептора к фактору активации тромбоцитов (ФАТ-рецептора), гликопротеинового рецептора к коллагену (GPVI-рецептор) и α_2 -адренорецептора позволяет анализировать механизмы дисфункции тромбоцитов, предопределяющие нарушение микроциркуляции, тромбогенез, развитие системной воспалительной реакции и рекрутирование лейкоцитов в ЦНС.

3. Выявленные показатели активности и взаимодействия рецепторов тромбоцитов могут быть использованы как диагностические критерии прогрессирования ХИМ, что позволит корректировать медикаментозную терапию с учетом значимости воздействия патогенетических факторов на развитие заболевания.

4. Предикторами развития ХИМ являются активность ангиотензинового AT_1 -рецептора, пуриновых $P2Y$ - ($P2Y_1$ и $P2Y_{12}$) рецепторов и α_2 -адренорецептора. Разработанная трехфакторная модель логистической регрессии позволяет прогнозировать риск развития III стадии в 95,2% (чувствительность теста 95% ДИ 83,8%-99,4%) случаев ХИМ, при этом специфичность теста составляет 100% (95% ДИ 94,2%-100%). Использование данной модели позволяет проводить отбор группы пациентов с высоким риском тяжелого течения заболевания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баринов ЭФ, Сулаева ОН, Гнилорыбов АМ. Тромбоциты. Донецк; 2012. 324 с.
2. Васенина Е., Левин О. Когнитивные нарушения у пациентов с сахарным диабетом 2 типа. Эффективная фармакотерапия. 2016;26:40-7.
3. Гацких ИВ, Петрова ММ, Веселова ОФ, Шалда ТП, Наркевич АН, Брикман ИН. Анализ когнитивного статуса у пациентов с сахарным диабетом 2 типа. Сахарный диабет. 2017; 20(6):434-40.
4. Гур'янов ВГ, Лях ЮЄ, Парій ВД, Короткий ОВ, Чалий ОВ., Чалий КО. Посібник з біостатистики. Аналіз результатів медичних досліджень у пакеті EZR (R-statistics): навч. посібник. Київ: Вістка; 2018. 208 с.
5. Жулев, НМ. Кандыба ДВ, Жулев СН. Синдром позвоночной артерии: рук-во для врачей. СПб:Сударыня; 2001.224с.
6. Захаров ВВ, Локшина АБ. Когнитивные нарушения при дисциркуляторной энцефалопатии. Рус. мед. журнал. 2009;17(20):1325-9.
7. Захаров ВВ, Вахнина НВ, Громова ДО. Когнитивные нарушения и метаболический синдром Доктор.Ру. 2016;4(121):14-21.
8. Наказ МОЗ України від 17.08.2007 № 487 "Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю „Неврологія". Клінічний протокол надання медичної допомоги хворим дисциркуляторну енцефалопатію: Сайт законодавства України. Режим доступу: [http: // www. moz. gov. ua /ua/ portal/dn_20070817_487.html](http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20070817_487.html)
9. Ковальчук ВВ, Баранцевич ЕР. Хроническая ишемия головного мозга. современные представления об этиопатогенезе, диагностике и терапии. Эффективная фармакотерапия. 2017;19:26-33.

10. Кравченко МА, Варакин ЮЯ, Гнедовская ЕВ, Андреева ОС. Факторы риска, цереброваскулярная и кардиальная патология, выявляемые при скрининге открытой популяции Здравоохранение Таджикистана. 2015;1 (324):14-20.
11. Левин ОС, Юнищенко НА. Диагностика и лечение когнитивных нарушений при дисциркуляторной энцефалопатии. Consiliummedicum. 2007;8:47–53.
12. Левин ОС. Когнитивные нарушения при сахарном диабете и метаболическом синдроме. Современная терапия в психиатрии и неврологии. 2015;4:18-25.
13. Анисимова АВ, Колесникова ТИ, Юцкова ЕВ. Нейропротективная терапия при лечении хронической цереброваскулярной патологии, влияние на гемореологические и морфоденситометрические показатели крови. Журнал неврол. психиатр. 2014;114(10):72-80.
14. Самойлова ЮГ, Ротканк МА, Жукова НГ, Матвеева МВ, Толмачев ИВ, Кудлай ДА. Маркеры когнитивных нарушений и вариабельность гликемии у пациентов с сахарным диабетом 1-го типа. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2018;118(4):48-51.
15. Соловьева ЭЮ, Чипова ДТ, Баранова ОА, Чеканов АВ, Казаринов КД, Тлапшокова ЛБ, и др. Воспаление как фактор риска при прогрессировании ишемии мозга и сахарном диабете второго типа. Медицинский алфавит. 2017;2 (317). С. 32-5.
16. Суслина ЗА, Гераскина ЛА, Фонякин АВ. Артериальная гипертония, сосудистая патология мозга и антигипертензивное лечение. М.: Научный центр неврологии РАМН, 2006. 200с.
17. Трусова НА, Левина НО, Левин ОС. Дисциркуляторная энцефалопатия - letzte wiese отечественной ангионеврологии. Современная терапия в психиатрии и неврологии. 2016. № 2. С. 11-17.

18. Успенская ЮА, Комлева ЮК, Пожиленкова ЕА, Салмин ВВ, Лопатина ОЛ, Фурсов АА, и др. Лиганды RAGE-белков: роль в межклеточной коммуникации и патогенезе воспаления. Вестник Российской академии медицинских наук. 2015;70(6):694-703.
19. Яхно НН, Чазова ИЕ, Парфенов ВА, Пустовитова ТС. Когнитивные расстройства у пациентов с артериальной гипертензией. Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2008; 4:19–23.
20. Abbracchio MP, Verderio C. Pathophysiological roles of P2 receptors in glial cells. Novartis Found Symp. 2006; 276:91-103.
21. Abrahamson EE, Ikonovic MD. Brain injury-induced dysfunction of the blood brain barrier as a risk for dementia. Exp Neurol. 2020; 328:113257.
22. Aburawi EH, Al Hamad S, Yasin J, Almekhai LA, Souid AK. Dyslipidemia, subclinical inflammation, hepatic cholestasis and endothelial dysfunction in schoolchildren with excess fat: A study from the United Arab Emirates. PLoS ONE. 2019;14(1):e0210316.
23. Akdoğan M, Ustundag-Budak Y, Huysal K. The association of hematologic inflammatory markers with atherogenic index in type 2 diabetic retinopathy patients. Clin Ophthalmol. 2016; 10:1797-801.
24. Alarayed NA, Graham BR, Prichard BN, Smith CC. The potentiation of adrenaline-induced in vitro platelet aggregation by ADP, collagen and serotonin and its inhibition by naftopidil and doxazosin in normal human subjects. Br J clin Pharmac. 1995;39: 369-74.
25. Al-Rubeaan K, Al-Hussain F, Youssef AM, Subhani SN, Al-Sharqawi AH, Ibrahim HM. Ischemic Stroke and Its Risk Factors in a Registry-Based Large Cross-Sectional Diabetic Cohort in a Country Facing a Diabetes Epidemic. J Diabetes Res. 2016;2016:4132589
26. Amidzic A, Tiro N. Kinking of Bilateral Internal Carotid Arteries as Cause of Cognitive Dysfunction Med Arch. 2020;74(1):58-60.

27. Andrews GD, Lavin A. Methylphenidate increases cortical excitability via activation of alpha-2 noradrenergic receptors. *Neuropsychopharmacology*. 2006; 31 (3):594-601.
28. Arcambal A, Tailé J, Rondeau P, Viranaïcken W, Meilhac O, Gonthier MP. Hyperglycemia modulates redox, inflammatory and vasoactive markers through specific signaling pathways in cerebral endothelial cells: Insights on insulin protective action. *Free Radic Biol Med*. 2019;130:59-70.
29. Arthur JF, Shen Y, Chen Y, Qiao J, Ni R, Lu Y. et.al.Exacerbation of glycoprotein VI-dependent platelet responses in a rhesus monkey model of Type diabetes. *J Diabetes Res*. 2013; 2013:370212.
30. Arthur JF, Jandeleit-Dahm K, Andrews RK. Platelet Hyperreactivity in Diabetes: Focus on GPVI Signaling-Are Useful Drugs Already Available? *Diabetes*. 2017;66(1):7-13.
31. Avolio A, Kim MO, Adji A, Gangoda S, Avadhanam B, Tan I, et al. Cerebral Haemodynamics: Effects of Systemic Arterial Pulsatile Function and Hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2018;20(3):20.
32. Azarpazhooh MR, Hachinski V. Vascular Cognitive Impairment: A Preventable Component of Dementia *Handb Clin Neurol*. 2019;167:377-91.
- 33 Babik B, Peták F, Agócs S, Blaskovics I, Alács E, Bodó K. Diabetes mellitus: endothelial dysfunction and changes in hemostasis. *Orv Hetil*. 2018;159(33):1335-1345.
34. Badimon L, Suades R, Arderiu G, Peña E, Chiva-Blanch G, Padró T. Microvesicles in Atherosclerosis and Angiogenesis: From Bench to Bedside and Reverse. *Front Cardiovasc Med*. 2017;4:77.
35. Balestrieri ML, Servillo L, Esposito A, D'Onofrio N, Giovane A, Casale R, et.al. Poor glycaemic control in type diabetes patients reduces endothelial progenitor cell number by influencing SIRT 1 signalling via platelet-activating factor receptor activation. *Diabetologia*. 2013; 56(1):162-72.

36. Banks WA. A Spectrum of Topics for 2019: Advances in Neuroinflammation, Oxidative Stress, Obesity, Diabetes Mellitus, Cardiovascular Disease, Autism, Exosomes, and Central Nervous System Diseases. *Curr Pharm Des.* 2020; 26(1):1-5.
37. Barinov EF. Activity of α_2 -adrenergic and PAF receptors of platelets as risk factor of acute pyelonephritis during urolithiasis in elderly women. *Adv Gerontol.* 2018; 31(5):711-6.
38. Bazan NG, Allan G. Platelet-activating factor in the modulation of excitatory amino acid neurotransmitter release and of gene expression. *J Lipid Mediat Cell Signal.* 1996;14(1-3):321-30.
39. Beamer E, Gölöncsér F, Horváth G, Bekő K, Otrokocsi L, Koványi B. Purinergic mechanisms in neuroinflammation: An update from molecules to behavior. *Neuropharmacology.* 2016;104:94-104.
40. Benedictus MR, van Harten AC, Leeuwis AE, Koene T, Scheltens P, Barkhof F, et al. White Matter Hyperintensities Relate to Clinical Progression in Subjective Cognitive Decline. *Stroke.* 2015;46(9):2661-4.
41. Berger M, Murdoch DM, Staats JS, Chan C, Thomas JP, Garrigues GE, et.al. Flow Cytometry Characterization of Cerebrospinal Fluid Monocytes in Patients With Postoperative Cognitive Dysfunction: A Pilot Study. *Anesth Analg.* 2019;129(5):e150-e154.
42. Biancardi VC, Stern JE. Compromised blood-brain barrier permeability: novel mechanism by which circulating angiotensin II signals to sympathoexcitatory centres during hypertension *J Physiol.* 2016; 594(6):1591-600.
43. Biessels GJ, Despa F. Cognitive decline and dementia in diabetes mellitus: mechanisms and clinical implications. *Nat Rev Endocrinol.* 2018;14(10):591-604.
44. Bijak M, Saluk J, Ponczek MB, Nowak P, Wachowicz B. [The synthesis of proteins in unnucleated blood platelets]. *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2013;67:672-9.

45. Black PH. The inflammatory consequences of psychologic stress: relationship to insulin resistance, obesity, atherosclerosis and diabetes mellitus, type II. *Med Hypotheses*. 2006;67(4):879-91.
46. Boccardi V, Paolacci L, Remondini D, Giampieri E, Poli G, Curti N, et.al. Cognitive Decline and Alzheimer's Disease in Old Age: A Sex-Specific Cytokine Signature. *J Alzheimers Dis*. 2019;72(3):911-8.
47. Bonaventura A, Liberale L, Montecucco F. Aspirin in primary prevention for patients with diabetes: Still a matter of debate. *Eur J Clin Invest*. 2018; 48(10):e13001.
48. Bora NS, Matta B, Lyzogubov VV, Bora PS. Relationship between the complement system, risk factors and prediction models in age-related macular degeneration. *Mol Immunol*. 2015; 63(2):176-83.
49. Brailoiu E, Barlow CL, Ramirez SH, Abood ME, Brailoiu GC. Effects of platelet-activating factor on brain microvascular endothelial cells. *Neuroscience*. 2018; 377:105-13.
50. Buch A, Kaur S, Nair R , Jain A. Platelet Volume Indices as Predictive Biomarkers for Diabetic Complications in Type 2 Diabetic Patients *J Lab Physicians*. 2017; 9(2):84-8.
51. Burnstock G. Purinergic Signaling in the Cardiovascular System. *Circ Res*. 2017;120(1):207-28.
52. Cai Y, Wang C, Di W, Li W, Liu J, Zhou S. Correlation between blood glucose variability and the risk of death in patients with severe acute stroke. *Rev Neurol (Paris)*. 2020: pii: S0035-3787(19)30916-6.
53. Cai Z, He W, Zhuang FJ, Chen Y. The role of high high-sensitivity C-reactive protein levels at admission on poor prognosis after acute ischemic stroke. *Int J Neurosci*. 2019;129(5):423-9.

54. Cao XL, Du J, Zhang Y, Yan JT, Hu XM. Hyperlipidemia exacerbates cerebral injury through oxidative stress, inflammation and neuronal apoptosis in MCAO/reperfusion rats. *Exp Brain Res*. 2015;233(10):2753-65.
55. Caraci F, Merlo S, Drago F, Caruso G, Parenti C, Sortino MA. Rescue of Noradrenergic System as a Novel Pharmacological Strategy in the Treatment of Chronic Pain: Focus on Microglia Activation. *Front Pharmacol*. 2019; 10:1024.
56. Carbone F, Bonaventura A , Montecucco F. Neutrophil-Related Oxidants Drive Heart and Brain Remodeling After Ischemia/Reperfusion Injury. *Front Physiol*. 2020; 10:1587.
57. Carrizzo A, Izzo C, Oliveti M, Alfano A, Virtuoso N, Capunzo M, et al. The Main Determinants of Diabetes Mellitus Vascular Complications: Endothelial Dysfunction and Platelet Hyperaggregation. *Int J Mol Sci*. 2018; 19(10):E2968.
58. Cha MC, Purslow PP. Epinephrine-induced MMP expression is different between skeletal fibroblasts and myoblasts. *Cell Biochem Funct*. 2011;29(7):603-9.
59. Chen HL, Jia WJ, Li HE, Han H, Li F, Zhang XL, et al. Scutellarin Exerts Anti-Inflammatory Effects in Activated Microglia/Brain Macrophage in Cerebral Ischemia and in Activated BV-2 Microglia Through Regulation of MAPKs Signaling Pathway. *Neuromolecular Med*. 2019 Dec 2.
60. Chiu PS, Lai SC. Matrix metalloproteinase-9 leads to blood-brain barrier leakage in mice with eosinophilic meningoencephalitis caused by *Angiostrongylus cantonensis*. *Acta Trop*. 2014;140:141-50.
61. Clark JC , Kavanagh DM, Watson S, Pike JA, Andrews RK, Gardiner E. et al. Adenosine and Forskolin Inhibit Platelet Aggregation by Collagen but Not the Proximal Signalling Events *Thromb Haemost* . 2019;119(7):1124-1137.
62. Cortez-Espinosa N, Mayoral LP, Perez-Campos E, Cabrera Fuentes HA, Mayoral EP, Martínez-Cruz R, et al. Platelets and Platelet-Derived Microvesicles as Immune Effectors in Type 2 Diabetes. *Curr Vasc Pharmacol*. 2017 ;15(3):207-17.

63. Coutts SB, Moreau F, Asdaghi N, Boulanger JM, Camden MC, Campbell BCV, et.al. Rate and Prognosis of Brain Ischemia in Patients With Lower-Risk Transient or Persistent Minor Neurologic Events. *JAMA Neurol.* 2019 Sep 23.
64. Cryer PE. Hypoglycemia-associated autonomic failure in diabetes. *Handb Clin Neurol.* 2013;117:295-307.
65. Cserép C, Pósfai B, Lénárt N, Fekete R, László ZI, Lele Z, et.al. Microglia monitor and protect neuronal function through specialized somatic purinergic junctions. *Science.* 2020; 367(6477):528-37.
66. Cui W, Fu W, Lin Y, Zhang T, Zhou R, Zhang T. Application of Nanomaterials in Neurodegenerative. *Diseases Curr Stem Cell Res Ther.* 2020 Mar 25.
67. Custodio-Chablé SJ, Lezama RA, Reyes-Maldonado E. Platelet activation as a trigger factor for inflammation and atherosclerosis. *Cir Cir.* 2020;88(2):233-43.
68. Dai Z, Jiao Y, Fan Q, Qi A, Xiao L, Li J. Homocysteine, interleukin-1 β , and Fasting Blood Glucose Levels as Prognostic Markers for Diabetes Mellitus Complicated With Cerebral Infarction and Correlated With Carotid Intima-Media Thickness. *Exp Ther Med.* 2020; 19(2):1167-74.
69. Dambisya YM, Lee TL, Hussaini IM. Effects of the platelet-activating factor receptor antagonist WEB 2086 on whole blood coagulation and fibrinolysis in a thromboelastography assay. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 1995; 6(8):733-7
70. Daulatzai MA. Cerebral hypoperfusion and glucose hypometabolism: Key pathophysiological modulators promote neurodegeneration, cognitive impairment, and Alzheimer's disease. *J Neurosci Res.* 2017; 95(4):943-72.
71. de la Cruz-Ares S, Cardelo MP, Gutiérrez-Mariscal FM, Torres-Peña JD, García-Rios A, Katsiki N, et al. Endothelial Dysfunction and Advanced Glycation End Products in Patients with Newly Diagnosed Versus Established Diabetes: From the CORDIOPREV Study. *Nutrients.* 2020;12(1):E238.

72. Dénes A, Humphreys N, Lane TE, Grecis R, Rothwell N. Chronic systemic infection exacerbates ischemic brain damage via a CCL 5 (regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted)-mediated proinflammatory response in mice. *J Neurosci*. 2010; 30(30):10086-95.
73. Deppermann C. Platelets and vascular integrity. *Platelets*. 2018; 29(6):549-55.
74. Díaz-Cabiale Z, Parrado C, Fuxe K, Agnati L, Narváez JA. Receptor-receptor interactions in central cardiovascular regulation. Focus on neuropeptide/alpha(2)-adrenoreceptor interactions in the nucleus tractus solitarius. *J Neural Transm (Vienna)*. 2007;114(1):115-25.
75. Ding Y, Liu Y, Yan Q, Fritsche LG, Cook RJ, Clemons T, et.al. Bivariate Analysis of Age-Related Macular Degeneration Progression Using Genetic Risk Scores. *Genetics*. 2017; 206(1):119-33.
76. Donath MY, Meier DT , Böni-Schnetzler M. Inflammation in the Pathophysiology and Therapy of Cardiometabolic Disease. *Endocr Rev*. 2019; 40(4):1080-91.
77. Don-Doncow N, Vanherle L, Zhang Y, Meissner A. T-Cell Accumulation in the Hypertensive Brain: A Role for Sphingosine-1-Phosphate-Mediated Chemotaxis. *Int J Mol Sci*. 2019;20(3):E537.
78. Dong YF, Kataoka K, Toyama K, Sueta D, Koibuchi N, Yamamoto E, et.al. Attenuation of brain damage and cognitive impairment by direct renin inhibition in mice with chronic cerebral hypoperfusion. *Hypertension*. 2011; 58(4):635-42.
79. Dukhinova M, Kuznetsova I, Kopeikina E, Veniaminova E, Yung AWY, Veremeyko T, et al. Platelets mediate protective neuroinflammation and promote neuronal plasticity at the site of neuronal injury. *Brain Behav Immun*. 2018; 74:7-27.
80. Dziedzic A, Bijak M. Interactions between platelets and leukocytes in pathogenesis of multiple sclerosis. *Adv Clin Exp Med*. 2019; 28(2):277-85.

81. Dziedzic T. Systemic inflammation as a therapeutic target in acute ischemic stroke. *Expert Rev Neurother.* 2015;15(5):523-31.
82. Dzyubenko E, Manrique-Castano D, Kleinschnitz C, Faissner A, Hermann DM. Role of immune responses for extracellular matrix remodeling in the ischemic brain. *Ther Adv Neurol Disord.* 2018; 11:1756286418818092.
83. El Haouari M. Platelet Oxidative Stress and its Relationship with Cardiovascular Diseases in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *Curr Med Chem.* 2019; 26(22):4145-65.
84. Enkvist MO, Hämäläinen H, Jansson CC, Kukkonen JP, Hautala R. et al. Coupling of astroglial alpha 2 -adrenoreceptors to second messenger pathways. *J Neurochem.* 1996; 66(6):2394-401.
85. Finamore F, Reny JL, Malacarne S, Fontana P, Sanchez JC. A high glucose level is associated with decreased aspirin-mediated acetylation of platelet cyclooxygenase (COX)-1 at serine 529: A pilot study. *J Proteomics.* 2018 Sep 18. pii: S1874-3919(18)30348-8.
86. Fliegert R, Heeren J, Koch-Nolte F, Nikolaev VO, Lohr C, Meier C. Adenine nucleotides as paracrine mediators and intracellular second messengers in immunity and inflammation. *Biochem Soc Trans.* 2019; 47(1):329-37.
87. Franke H, Illes P. Nucleotide signaling in astrogliosis. *Neurosci Lett.* 2014; 565:14-22.
88. Frik J, Merl-Pham J, Plesnila N, Mattugini N, Kjell J, Kraska J, et al. Cross-talk between monocyte invasion and astrocyte proliferation regulates scarring in brain injury. *EMBO Rep.* 2018; 19(5). pii: e45294.
89. Fumagalli M, Lecca D, Abbracchio MP. CNS remyelination as a novel reparative approach to neurodegenerative diseases: The roles of purinergic signaling and the P2Y-like receptor GPR17. *Neuropharmacology.* 2016;104:82-93.

90. Galinsky R, Lear CA , Dean JM , Wassink G , Dhillon SK , Fraser M , et al. Complex interactions between hypoxia-ischemia and inflammation in preterm brain injury. *Dev Med Child Neurol*. 2018; 60(2):126-33.
91. Ganbaatar B, Fukuda D, Salim HM, Nishimoto S, Tanaka K, Higashikuni Y, et al. Ticagrelor, a P2Y₁₂ antagonist, attenuates vascular dysfunction and inhibits atherogenesis in apolipoprotein-E-deficient mice. *Atherosclerosis*. 2018; 275:124-32.
92. Gao J, Sun Z , Xiao Z, Du Q, Niu X, Wang G, et al. Dexmedetomidine modulates neuroinflammation and improves outcome via alpha -adrenergic receptor signaling after rat spinal cord injury. *Br J Anaesth*. 2019; 123(6):827-38.
93. Gao V, Suzuki A, Magistretti PJ et al. Astrocytic β 2-adrenergic receptors mediate hippocampal long-term memory consolidation . *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113 (30):8526-31.
94. Gidday JM , Gasche YG, Copin JC, Shah AR, Perez RS, Shapiro SD, et al. Leukocyte-derived matrix metalloproteinase-9 mediates blood-brain barrier breakdown and is proinflammatory after transient focal cerebral ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005; 289(2):H558-68.
95. Giles JA, Greenhalgh AD, Denes A, Nieswandt B, Coutts G, McColl BW, et al. Neutrophil infiltration to the brain is platelet-dependent, and is reversed by blockade of platelet GPIIb/IIIa. *Immunology*. 2018;154(2):322-8.
96. Gómez-Choco M, García-Sánchez SM, Font MA, Mengual JJ, Blanch P, Castellanos P, et. al. Biomarkers Levels and Brachial and Central Blood Pressure During the Subacute Phase of Lacunar Stroke and Other Ischemic Stroke Subtypes *J Hum Hypertens*. 2020;34(5):404-10.
97. Guo S, Som AT, Arai K, Lo EH. Effects of angiotensin-II on brain endothelial cell permeability via PPAR α regulation of para- and trans-cellular pathways. *Brain Res*. 2019; 1722:146353.

98. Gupta V, Dhull DK, Joshi J et al. Neuroprotective potential of azilsartan against cerebral ischemic injury: Possible involvement of mitochondrial mechanisms. *Neurochem Int.* 2019; 1(32):104604.
99. Gurnik S, Devraj K, Macas J, Yamaji M, Starke J, Scholz A, et al. Angiopoietin-2-induced blood-brain barrier compromise and increased stroke size are rescued by VE-PTP-dependent restoration of Tie2 signaling. *Acta Neuropathol.* 2016 May; 131(5):753-73.
100. Hammond JW, Lu SM , Gelbard HA . Platelet Activating Factor Enhances Synaptic Vesicle Exocytosis Via PKC, Elevated Intracellular Calcium, and Modulation of Synapsin Dynamics and Phosphorylation. *Front Cell Neurosci.* 2016; 9:505.
101. Harris NA, Isaac AT, Günther A. et al. Dorsal BNST α 2A-Adrenergic Receptors Produce HCN-Dependent Excitatory Actions That Initiate Anxiogenic Behaviors . *J Neurosci.* 2018; 38 (42): 8922-42.
102. Harrison P, Mackie I, Mumford A. British. Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. *British Journal of Haematology.* 2011; 155 (1): 30–44.
103. Hee Yu J, Han K, Park S, Cho H, Young Lee D, Kim J W, Seo J A, Kim S G, Baik S H, et. al. Incidence and Risk Factors for Dementia in Type 2 Diabetes Mellitus: A Nationwide Population-Based Study in Korea *Diabetes Metab J.* 2020; 44(1):113-24.
104. Heesterbeek TJ, de Jong EK, Acar IE, Groenewoud JMM, Liefers B, Sánchez CI, et.al. Genetic risk score has added value over initial clinical grading stage in predicting disease progression in age-related macular degeneration. *Sci Rep.* 2019; 9(1):6611.
105. Hernández MD, González-Castro V, Ghandour DT, Wang X, Doubal F, Maniega SM, et. al. On the Computational Assessment of White Matter Hyperintensity Progression: Difficulties in Method Selection and Bias Field

Correction Performance on Images With Significant White Matter Pathology. *Neuroradiology*. 2016;58(5):475-85.

106. Higaki A, Mogi M, Iwanami J. Beneficial Effect of Mas Receptor Deficiency on Vascular Cognitive Impairment in the Presence of Angiotensin II Type 2 Receptor . *J Am Heart Assoc*. 2018; 7(3). pii: e008121.

107. Hong P, Gu RN, Li FX, Xiong XX, Liang WB ,You ZJ, et.al. NLRP 3 inflammasome as a potential treatment in ischemic stroke concomitant with diabetes. *J Neuroinflammation*. 2019; 16(1):121

108. Hu L, Chang L, Zhang Y, Zhai L , Zhang S, Qi Z, et al. Platelets Express Activated P2Y₁₂ Receptor in Patients With Diabetes Mellitus. *Circulation*. 2017; 136(9):817-33.

109. Huang X, Lu G, Li G. Dynamic Changes in the Renin-Angiotensin-Aldosterone System and the Beneficial Effects of Renin-Angiotensin-Aldosterone Inhibitors on Spatial Learning and Memory in a Rat Model of Chronic Cerebral Ischemia . *Front Neurosci*. 2017;11: 359.

110. Iadecola C, Gottesman R . Neurovascular and Cognitive Dysfunction in Hypertension *Circ Res*. 2019 Mar 29;124(7):1025-44.

111. Illes P, Nieber K, Fröhlich R, Nörenberg W. P₂ purinoceptors and pyrimidinoceptors of catecholamine-producing cells and immunocytes. *Ciba Found Symp*. 1996; 198:110-25.

112. Ishida K , Taguchi K, Matsumoto T, Kobayashi T. Activated Platelets From Diabetic Rats Cause Endothelial Dysfunction by Decreasing Akt/endothelial NO Synthase Signaling Pathway *PLoS One*. 2014;9(7):e102310.

113. Italiano JE, Battinelli EM. Selective sorting of alpha-granule proteins. *J Thromb Haemost*. 2009;7 Suppl 1:173-6.

114. Jampathong N, Laopaiboon M, Rattanakanokchai S, Pattanittum P. Prognostic models for complete recovery in ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *BMC Neurol*. 2018; 18(1):26.

115. Jeon SW, Kim YK. Neuroinflammation and cytokine abnormality in major depression: Cause or consequence in that illness? *World J Psychiatry*. 2016; 6(3):283-93.
116. Johnson JD, Barnard DF, Kulp AC, Mehta DM . Neuroendocrine Regulation of Brain Cytokines After Psychological Stress. *J Endocr Soc*. 2019; 3(7):1302-20.
117. Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software ‘EZR’ for medical statistics. *Bone Marrow Transplant*. 2013; 48:452–58.
118. Kangussu LM, Marzano LAS, Souza CF, Dantas CC, Miranda AS, Simões E. The Renin-Angiotensin System and the Cerebrovascular Diseases: Experimental and Clinical Evidence. *Protein Pept Lett*. 2019 Dec 17.
119. Kauw F, Takx RAP, de Jong HWAM, Velthuis BK , Kappelle LJ , Dankbaar JW . Clinical and Imaging Predictors of Recurrent Ischemic Stroke: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cerebrovasc Dis*. 2018; 45(5-6):279-87.
120. Keating FK, Schneider DJ. The influence of platelet activating factor on the effects of platelet agonists and antiplatelet agents in vitro. *J Thromb Thrombolysis*. 2009; 28(1):38-45.
121. Khanevski AN, Bjerkreim AT, Novotny V, Naess H, Thomassen L, Logallo N, et al. Recurrent Ischemic Stroke: Incidence, Predictors, and Impact on Mortality. *Acta Neurol Scand* .2019;140(1):3-8.
122. Khelif Y, Toutain J, Quittet MS, Chantepie S, Laffray X, Valable S , et.al. A heparan sulfate-based matrix therapy reduces brain damage and enhances functional recovery following stroke. *Theranostics*. 2018; 8(21):5814-27.
123. Khoshnam SE, Winlow W, Farzaneh M, Farbood Y, Moghaddam HF. Pathogenic mechanisms following ischemic stroke. *Neurol Sci*. 2017;38(7):1167-86.
124. Kim DH, Grodstein F, Newman AB, Chaves PH, Odden MC, Klein R, et al. Microvascular and Macrovascular Abnormalities and Cognitive and Physical

Function in Older Adults: Cardiovascular Health Study. *J Am Geriatr Soc.* 2015; 63(9):1886-93.

125. Kim SH, Lee JY, Kim DH, Ham JH, Song YK, Lim EJ, et. al. Factors related to the initial stroke severity of posterior circulation ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis.* 2013; 36(1):62-8.

126. Kim YG, Park DG, Moon SY, Jeon JY, Kim HJ, Kim DJ. et. al. Hypoglycemia and Dementia Risk in Older Patients With Type 2 Diabetes Mellitus: A Propensity-Score Matched Analysis of a Population-Based Cohort. *Study Diabetes Metab J.* 2020;44(1):125-33.

127. Kinoshita M, Nasu-Tada K, Fujishita K, Sato K, Koizumi S. Secretion of matrix metalloproteinase-9 from astrocytes by inhibition of tonic P2Y₁₄-receptor-mediated signal(s). *Cell Mol Neurobiol.* 2013; 33(1):47-58.

128. Kitzman PH, Sutton KM, Wolfe M, Bellamy L, Dobbs MR. The Prevalence of Multiple Comorbidities in Stroke Survivors in Rural Appalachia and the Clinical Care Implications. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2019; 28(11):104358.

129. Klochihina OA, Stakhovskaya LV, Polunina EA, Strakhov OA, Klochihina MM. Epidemiology and Prognosis of the Level of Morbidity and Mortality From Stroke in Different Age Groups According to the Territorial-Population Register. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 2019; 119(8. Vyp. 2):5-12.

130. Koppel I, Jaanson K, Klasche A, Tuvikene J, Tiirik T, Pärn A. Dopamine cross-reacts with adrenoreceptors in cortical astrocytes to induce BDNF expression, CREB signaling and morphological transformation. *Glia.* 2018; 66(1):206-16.

131. Korniluk A, Koper-Lenkiewicz OM, Kamińska J, Kemonia H, Dymicka-Piekarska V. Mean Platelet Volume (MPV): New Perspectives for an Old Marker in the Course and Prognosis of Inflammatory Conditions. *Mediators Inflamm.* 2019; 2019:9213074.

132. Kostov K, Blazhev A. Use of Glycated Hemoglobin (A1c) as a Biomarker for Vascular Risk in Type 2 Diabetes: Its Relationship with Matrix Metalloproteinases-2, -9 and the Metabolism of Collagen IV and Elastin. *Medicina (Kaunas)*. 2020;56(5):E231.
133. Kraakman MJ, Lee MK, Al-SA, Dragoljevic D, Tessa J B, Emilie M, et.al. Neutrophil-derived S100 Calcium-Binding Proteins A8/A9 Promote Reticulated Thrombocytosis and Atherogenesis in Diabetes *Clin Invest*. 2017;127(6):2133-47.
134. Krishnaswamy VR, Benbenishty A, Blinder P, Sagi I. Demystifying the extracellular matrix and its proteolytic remodeling in the brain: structural and functional insights. *Cell Mol Life Sci*. 2019;76(16):3229-48.
135. Kuriyama N, Mizuno T, Yasuike H, Matsuno H, Kawashita E, Tamura A, et al. CD62-mediated activation of platelets in cerebral white matter lesions in patients with cognitive decline. *Arch Gerontol Geriatr*. 2016;62:118-24.
136. Kurzepa J, Kurzepa J, Golab P, Czerska S, Bielewicz J. The significance of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 in the ischemic stroke. *Int J Neurosci*. 2014; 124(10):707-16.
137. Labus J, Wöltje K, Stolte KN, Häckel S, Kim KS, Hildmann A. IL-1 β promotes transendothelial migration of PBMCs by upregulation of the FN/ α 5 β 1 signalling pathway in immortalised human brain microvascular endothelial cells. *Exp Cell Res*. 2018; 373(1-2):99-111.
138. LaGamma EF, Kirtok N, Chan O, Nankova BB. Partial blockade of nicotinic acetylcholine receptors improves the counterregulatory response to hypoglycemia in recurrently hypoglycemic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2014; 307(7):E580-8.
139. Lahiri P, Chaudhuri U, Chattopadhyay A, Chakraborty P, Mandal D, Dasgupta AK. Structural insights in platelet receptor synergism-antiplatelet therapy in post-ischemic cerebrovascular events *Blood Cells Mol Dis*. 2005; 34(3):248-56.

140. Lattanzi S, Di Napoli M, Ricci S, Divani AA. Matrix Metalloproteinases in Acute Intracerebral Hemorrhage. *Neurotherapeutics*. 2020 Jan 23.
141. Lenart L, Balogh DB, Lenart N, Barczy A, Hosszu A, Farkas T, et al. Novel therapeutic potential of angiotensin receptor 1 blockade in a rat model of diabetes-associated depression parallels altered BDNF signaling. *Diabetologia*. 2019; 62(8):1501-13.
142. Li Q, Yang Y, Reis C, Tao T, Li W, Li X, et al. Cerebral Small Vessel Disease. *Cell Transplant*. 2018; 27(12):1711-22.
143. Li S, Shi B, Huang K, Wang Y. Different intracellular signalling sensitivity and cell behaviour of porcine insulin with aging. *Peptides*. 2020;127:170278.
144. Li X, Wang L, Xi Y, Deng X, Xue Q, Li X. Relationship between geriatric frailty and cognitive dysfunction in the elderly. *Wei Sheng Yan Jiu*. 2019;48(5):785-92.
145. Li Y, Samuvel DJ, Sundararaj KP, Lopes-Virella MF, Huang Y. IL-6 and high glucose synergistically upregulate MMP-1 expression by U937 mononuclear phagocytes via ERK1/2 and JNK pathways and c-Jun. *J Cell Biochem*. 2010; 110(1):248-59.
146. Li Y, Zeng KW, Wang XM. Cerebral microangiopathy of diabetes. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2017; 42(12):2247-53.
147. Li Z, Mo N, Li L, Cao Y, Wang W, Liang Y, et al. Surgery-Induced Hippocampal Angiotensin II Elevation Causes Blood-Brain Barrier Disruption via MMP/TIMP in Aged Rats. *Front Cell Neurosci*. 2016; 10:105.
148. Liang S, Zhang J, Zhang Q, Li L, Zhang Y, Jin T, et al. Longitudinal tracing of white matter integrity on diffusion tensor imaging in the chronic cerebral ischemia and acute cerebral ischemia. *Brain Res Bull*. 2020;154:135-41.
150. Liebetrau M, Burggraf D, Wunderlich N, Jäger G, Linz W, Hamann GF. ACE inhibition reduces activity of the plasminogen/plasmin and MMP systems in

the brain of spontaneous hypertensive stroke-prone rats. *Neurosci Lett.* 2005; 376(3):205-9.

151 Lindahl M, Saarma M, Lindholm P. Unconventional neurotrophic factors CDNF and MANF: Structure, physiological functions and therapeutic potential. *Neurobiol Dis.* 2017 01; 97(Pt B):90-102.

152. Liu C, Ge HM, Liu BH, Dong R, Shan K, Chen X , et.al. Targeting pericyte-endothelial cell crosstalk by circular RNA-cPWWP A inhibition aggravates diabetes-induced microvascular dysfunction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019; 116(15):7455-64.

153. Liu PW, Yue MX , Zhou R , Niu J , Huang DJ , Xu T , et al. P2Y12 and P2Y13 receptors involved in ADPβs induced the release of IL-1β, IL-6 and TNF-α from cultured dorsal horn microglia. *J Pain Res.* 2017; 10:1755-67.

154. Liverani E, Mondrinos MJ, Sun S, Kunapuli SP, Kilpatrick LE. Role of Protein Kinase C-delta in regulating platelet activation and platelet-leukocyte interaction during sepsis. *PLoS ONE.* 2018;13(4):e0195379.

155. Lou N, Takano T, Pei Y, Xavier AL, Goldman SA, Nedergaard M. Purinergic receptor P2RY12-dependent microglial closure of the injured blood-brain barrier. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016; 113(4):1074-9.

156. Lu J, Xu F, Zhang J. Inhibition of angiotensin II-induced cerebrovascular smooth muscle cell proliferation by LRRC8A downregulation through suppressing PI3K/AKT activation. *Hum Cell.* 2019;32(3):316-25.

157. Lubrano V, Balzan S. Consolidated and emerging inflammatory markers in coronary artery disease. *World J Exp Med.* 2015;5(1):21-32.

158. Ludvigsen TP, Olsen LH, Pedersen HD, Christoffersen BØ , Jensen LJ . Hyperglycemia-induced transcriptional regulation of ROCK1 and TGM2 expression is involved in small artery remodeling in obese diabetic Göttingen Minipigs. *Clin Sci (Lond).* 2019; 133(24):2499-516.

159. Magalhães TNC, Weiler M, Teixeira CVL, Hayata T, Moraes AS, Boldrini VO, et. al. Systemic Inflammation and Multimodal Biomarkers in Amnestic Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. *Mol Neurobiol.* 2018; 55(7):5689-97.
160. Maiocchi S, Alwis I, Wu MCL, Yuan Y, Jackson SP. Thromboinflammatory Functions of Platelets in Ischemia-Reperfusion Injury and Its Dysregulation in Diabetes. *Semin Thromb Hemost.* 2018; 44(2):102-13.
161. Malik A, Morya RK, Saha S, Singh PK, Bhadada S, Rana S. Oxidative stress and inflammatory markers in type diabetic patients. *Eur J Clin Invest.* 2020 Apr 16:e13238.
162. Mamo Y, Bekele F ,Nigussie T, Zewudie A. Determinants of poor glycemic control among adult patients with type diabetes mellitus in Jimma University Medical Center, Jimma zone, south west Ethiopia: a case control study. *BMC Endocr Disord.* 2019; 19(1):91.
163. Martín-Cordero L, García JJ, Hinchado MD, Ortega E. The interleukin-6 and noradrenaline mediated inflammation-stress feedback mechanism is dysregulated in metabolic syndrome: effect of exercise. *Cardiovasc Diabetol.* 2011 May 20;10:42.
164. Masi S, Uliana M, Virdis A. Angiotensin II and vascular damage in hypertension: Role of oxidative stress and sympathetic activation. *Vascul Pharmacol.* 2019;115:13-7.
165. Masrur S, Cox M, Bhatt DL, Smith EE, Ellrodt G, Fonarow GC. Association of Acute and Chronic Hyperglycemia With Acute Ischemic Stroke Outcomes Post-Thrombolysis: Findings From Get With The Guidelines-Stroke. *J Am Heart Assoc.* 2015; 4(10):e002193.
166. Mather M, Clewett D, Sakaki M. et al. Norepinephrine ignites local hotspots of neuronal excitation: How arousal amplifies selectivity in perception and memory. *Behav Brain Sci.* 2016; 39:e200.

167. McGrath JC. Localization of α -adrenoceptors: JR Vane Medal Lecture. *Br J Pharmacol*. 2015;172(5):1179-94.
168. McLarnon JG, Choi HB, Lue LF, Walker DG, Kim SU. Perturbations in calcium-mediated signal transduction in microglia from Alzheimer's disease patients. *J Neurosci Res*. 2005; 81(3):426-35.
169. McMaster WG, Kirabo A, Madhur MS, Harrison DG. Inflammation, immunity, and hypertensive end-organ damage. *Circ Res*. 2015; 116(6):1022-33.
170. Miras-Portugal MT, Queipo MJ, Gil-Redondo JC, Ortega F, Gómez-Villafuertes R. P2 receptor interaction and signalling cascades in neuroprotection. *Brain Res Bull*. 2019; 151:74-83.
171. Moore SF, Williams CM, Brown E, Blair TA, Harper MT, Coward RJ, et al. Loss of the insulin receptor in murine megakaryocytes/platelets causes thrombocytosis and alterations in IGF signalling. *Cardiovasc Res*. 2015 Jul 1; 107(1):9-19.
172. Mukerjee S, Gao H, Xu J. ACE2 and ADAM17 Interaction Regulates the Activity of Presympathetic Neurons. *Hypertension*. 2019; 74 (5): 1181-91.
173. Nagy Z, Wynne K, von Kriegsheim A, Gambaryan S, Smolenski A. Cyclic Nucleotide-dependent Protein Kinases Target ARHGAP17 and ARHGEF6 Complexes in Platelets. *J Biol Chem*. 2015; 290(50):29974-83.
174. Neary JT, Kang Y, Shi YF, Tran MD, Wanner IB. P receptor signalling, proliferation of astrocytes, and expression of molecules involved in cell-cell interactions. *Novartis Found Symp*. 2006; 276:131-43.
175. Nedeljkovic N. Complex regulation of ecto-5'-nucleotidase/CD73 and A2AR-mediated adenosine signaling at neurovascular unit: A link between acute and chronic neuroinflammation. *Pharmacol Res*. 2019; 144:99-115.
176. Nguyen PV, Connor SA. Noradrenergic Regulation of Hippocampus-Dependent Memory. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*. 2019; 19 (3): 187-96.

177. Nguyen V, Tiemann D, Park E, Salehi A. Alpha-2 Agonists. *Anesthesiol Clin*. 2017; 35 (2): 233-45.
178. Nikolakopoulou AM, Zhao Z, Montagne A, Zlokovic BV. Regional early and progressive loss of brain pericytes but not vascular smooth muscle cells in adult mice with disrupted platelet-derived growth factor receptor- β signaling. *PLoS ONE*. 2017; 12(4):e0176225.
179. Nurden AT. Clinical significance of altered collagen-receptor functioning in platelets with emphasis on glycoprotein VI. *Blood Rev*. 2019 11; 38:100592.
180. O'Connor AT, Clark MA. Angiotensin II induces cyclooxygenase 2 expression in rat astrocytes via the angiotensin type 1 receptor. *Neuropeptides*. 2019; 77:101958.
181. Ohsawa K, Irino Y, Sanagi T, Nakamura Y, Suzuki E, Inoue K. P2Y₁₂ receptor-mediated integrin- β 1 activation regulates microglial process extension induced by ATP. *Glia*. 2010; 58(7):790-801.
182. Ongali B, Nicolakakis N, Tong XK, Lecrux C, Imboden H, Hamel E. Transforming growth factor- β 1 induces cerebrovascular dysfunction and astrogliosis through angiotensin II type 1 receptor-mediated signaling pathways. *Can J Physiol Pharmacol*. 2018; 96(5):527-34.
183. O'Reilly PJ, Ding Q, Akthar S, Cai G, Genschmer KR, Patel DF, et al. Angiotensin-converting enzyme defines matrikine-regulated inflammation and fibrosis. *JCI Insight*. 2017; 2(22): pii: 91923.
184. Pai PY, Muo CH, Sung FC, Ho HC, Lee YT. Angiotensin receptor blockers (ARB) outperform angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors on ischemic stroke prevention in patients with hypertension and diabetes - A real-world population study in Taiwan. *Int J Cardiol*. 2016; 215:114.
185. Pasi M, Rocha E, Samore W, Frosch MP, Viswanathan A, Singhal AB. Premature vascular disease in young adult stroke: a pathology-based case series. *J Neurol*. 2020;267(4):1063-9.

186. Paterson GG, Young JM, Willson JA, Graham CJ, Dru RC, Lee EW, et al. Hypoxia Modulates Platelet Purinergic Signalling Pathways. *Thromb Haemost.* 2020;120(2):253-61.
187. Pedragosa J, Salas-Perdomo A, Gallizioli M, Cugota R, Miró-Mur F, Briansó F, et al. CNS-border associated macrophages respond to acute ischemic stroke attracting granulocytes and promoting vascular leakage. *Acta Neuropathol Commun.* 2018; 6(1):76.
188. Pelisch N, Hosomi N, Mori H, Masaki T, Nishiyama A. RAS inhibition attenuates cognitive impairment by reducing blood- brain barrier permeability in hypertensive subjects. *Curr Hypertens Rev.* 2013; 9(2):93-8.
189. Pendlebury ST, Poole D, Burgess A, Duerden J, Rothwell PM. APOE-ε4 Genotype and Dementia Before and After Transient Ischemic Attack and Stroke: Population-Based Cohort Study. *Stroke.* 2020;51(3):751-8.
190. Pennings GJ, Yong AS, Wong C, Al-Tamimi M, Gardiner EE, Andrews RK. Circulating levels of soluble EMMPRIN (CD147) correlate with levels of soluble glycoprotein VI in human plasma. *Platelets.* 2014 ;25(8):639-42.
191. Pereira ADS, de Oliveira LS, Lopes TF, Baldissarelli J, Palma TV, Soares MSP. et al. Effect of gallic acid on purinergic signaling in lymphocytes, platelets, and serum of diabetic rats. *Biomed Pharmacother.* 2018 May;101:30-6.
192. Peterson TS, Camden JM, Wang Y, Seye CI, Wood WG, Sun GY, et al. P2Y2 nucleotide receptor-mediated responses in brain cells. *Mol Neurobiol.* 2010; 41(2-3):356-66.
193. Pisters R, Lane DA, Marin F, Camm AJ, Lip GY. Stroke and thromboembolism in atrial fibrillation. *Circ J.* 2012; 76(10):2289-304.
194. Prasad S, Sajja RK, Naik P, Cucullo L. Diabetes Mellitus and Blood-Brain Barrier Dysfunction: An Overview. *J Pharmacovigil.* 2014; 2(2):125.
195. Prager P, Hollborn M, Steffen A, Wiedemann P, Kohen L, Bringmann A. P2Y1 receptor signaling contributes to high salt-induced priming of the NLRP3

inflammasome in retinal pigment epithelial cells. *PLoS One*. 2016; 11(10):e0165653.

196. Purkayastha S, Saxena A, Eubank WL, Hoxha B, Raven PB. α 1-adrenergic receptor control of the cerebral vasculature in humans at rest and during exercise. *Exp Physiol*. 2013; 98(2):451-61.

197. Quintas C, Vale N, Gonçalves J, Queiroz G. Microglia P2Y₁₃ Receptors Prevent Astrocyte Proliferation Mediated by P2Y₁ Receptors. *Front Pharmacol*. 2018; 9:418.

198. Radziwon-Balicka A, Ramer C, Moncada de la Rosa C, Zielnik-Drabik B, Jurasz P. Angiostatin inhibits endothelial MMP-2 and MMP-14 expression: a hypoxia specific mechanism of action. *Vascul Pharmacol*. 2013; 58(4):280-91.

199. Ramalingam L, Menikdiwela K, LeMieux M, Dufour JM, Kaur G, Kalupahana N, et.al. The renin angiotensin system, oxidative stress and mitochondrial function in obesity and insulin resistance. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2017; 1863(5):110614.

200. Rao VTS, Fuh SC, Karamchandani JR, Woulfe MJM, Munoz DG, Ellezam B, et. al. Astrocytes in the Pathogenesis of Multiple Sclerosis: An In Situ MicroRNA Study. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2019 ;78(12):1130-46.

201. Rassler B, Marx G, Schierle K, Zimmer HG. Catecholamines can induce pulmonary remodeling in rats. *Cell Physiol Biochem*. 2012;30(5):1134-47.

202. Riching AS, Major JL, Londono P, Bagchi RA. The Brain-Heart Axis: Alzheimer's, Diabetes, and Hypertension. *ACS Pharmacol Transl Sci*. 2019; 3(1):21-8.

203. Rizk H, Allam M, Hegazy A, Khalil H, Helmy H, Hashem HS, et al. Predictors of poor cerebral collaterals and cerebrovascular reserve in patients with chronic total carotid occlusion. *Int J Neurosci*. 2019; 129(5):455-60.

204. Rochfort KD, Cummins PM. The Blood-Brain Barrier Endothelium: A Target for Pro-Inflammatory Cytokines *Biochem Soc Trans* . 2015; 43(4):702-6.

205. Rosenberg GA. Extracellular matrix inflammation in vascular cognitive impairment and dementia. *Clin Sci (Lond)*. 2017; 131(6):425-37.
206. Rudziak P, Ellis CG, Kowalewska PM . Role and Molecular Mechanisms of Pericytes in Regulation of Leukocyte Diapedesis in Inflamed Tissues. *Mediators Inflamm*. 2019; 2019:4123605.
207. Rusak T, Misztal T, Rusak M, Branska-Januszewska J, Tomasiak M. Involvement of hyperglycemia in the development of platelet procoagulant response: the role of aldose reductase and platelet swelling. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2017;28(6):443-51.
208. Şahan MH, Asal N, Bayar Muluk N, Inal M, Doğan A. Critical Stenosis of the Internal Carotid Artery: Variability in Vertebral Artery Diameters and Areas of Cerebral Chronic Infarction in Computed Tomography. *J Craniofac Surg*. 2019; 30(5):e388-e392.
209. Salati U, Leong S, Donnellan J, Kok HK, Buckley O, Torreggiani W. Out of Hours Emergency Computed Tomography Brain Studies: Comparison of Standard Megapixel Diagnostic Workstation . *Can Assoc Radiol J*. 2015; 66(4):363-7.
210. Saliu JA, Oboh G, Omojokun OS, João B T, Maria RS, Jessie G, et al. Effect of Dietary Supplementation of Padauk (*Pterocarpus Soyauxii*) Leaf on High Fat Diet/Streptozotocin Induced Diabetes in Rats' Brain and Platelets *Biomed Pharmacother*. 2016; 84:1194-201.
211. Salmani H, Hosseini M, Baghcheghi Y. et al. Losartan modulates brain inflammation and improves mood disorders and memory impairment induced by innate immune activation: The role of PPAR- γ activation. *Cytokine*. 2020; 125:154860.
212. Santilli F, Simeone P, Liani R, Davì G. Platelets and diabetes mellitus. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2015 Jul;120:28-39.

213. Santilli F, Marchisio M, Lanuti P, Boccatonda A, Miscia S, Davì G. Microparticles as New Markers of Cardiovascular Risk in Diabetes and Beyond *Thromb Haemost.* 2016; 116(2):220-34.
214. Satoh A, Imai SI, Guarente L. The Brain, Sirtuins, and Ageing *Nat Rev Neurosci.* 2017; 18(6):362-74.
215. Schiattarella GG, Carrizzo A, Ilardi F, Damato A, Ambrosio M, Madonna M, et. al. Rac1 Modulates Endothelial Function and Platelet Aggregation in Diabetes Mellitus. *J Am Heart Assoc.* 2018; 7(8). pii: e007322.
216. Shahid R. Risk factors and subtypes of ischemic stroke in young patients: an observational study from a teaching hospital in Saudi Arabia. *Funct Neurol.* 2019; 34(2):79-84.
217. Shilpi K, Potekar RM. A Study of Platelet Indices in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2018; 34(1):115-20.
218. Shimoura CG , Andrade MA , Toney GM . Central AT1 Receptor Signaling by Circulating Angiotensin II is Permissive to Acute Intermittent Hypoxia-Induced Sympathetic Neuroplasticity. *J Appl Physiol.* 2020 Apr 2.
219. Silambarasan M, Tan JR, Karolina DS, Armugam A, Kaur C, Jeyaseelan K. MicroRNAs in Hyperglycemia Induced Endothelial Cell Dysfunction. *Int J Mol Sci.* 20167; 17(4):518.
220. Silpanisong J, Pearce WJ. Vasotrophic regulation of age-dependent hypoxic cerebrovascular remodeling. *Curr Vasc Pharmacol.* 2013; 11(5):544-63.
221. Soma P, Swanepoel AC, du Plooy JN, Mqoco T, Pretorius E. Flow Cytometric Analysis of Platelets Type 2 Diabetes Mellitus Reveals 'Angry' Platelets. *Cardiovasc Diabetol.* 2016; 15:52.
222. Sotnikov I, Veremeyko T, Starossom SC, Barteneva N, Weiner HL, Ponomarev ED. Platelets recognize brain-specific glycolipid structures, respond to neurovascular damage and promote neuroinflammation. *PLoS ONE.* 2013; 8(3):e58979.

223. Speidl WS, Toller WG, Kaun C, Weiss TW, Pfaffenberger S, Kastl SP, et al. Catecholamines potentiate LPS-induced expression of MMP-1 and MMP-9 in human monocytes and in the human monocytic cell line U97: possible implications for peri-operative plaque instability. *FASEB J.* 2004; 18(3):603-5.
224. SPRINT MIND Investigators for the SPRINT Research Group, Williamson JD, Pajewski NM, Auchus AP, Bryan RN, Chelune G, et. al. Effect of Intensive vs Standard Blood Pressure Control on Probable Dementia:A Randomized Clinical Trial *JAMA.* 2019; 321(6):553-61.
225. Staals J, Booth T, Morris Z, Bastin ME, Gow AJ, Corley J, et al. Total MRI load of cerebral small vessel disease and cognitive ability in older people. *Neurobiol Aging.* 2015; 36(10):2806-11.
226. Straznicky NE, Grima MT, Lambert EA, Sari CI, Eikelis N, Nestel PJ, et al. Arterial norepinephrine concentration is inversely and independently associated with insulin clearance in obese individuals with metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015; 100(4):1544-50.
227. Sturk A, Asyee GM, Schaap MC, van Maanen M, ten Cate JW. Synergistic effects of platelet-activating factor and other platelet agonists in human platelet aggregation and release: the role of ADP and products of the cyclooxygenase pathway. *Thromb Res.* 1985; 40(3):359-72.
228. Su EJ, Cao C, Fredriksson L, Nilsson I, Stefanitsch C, Stevenson TK, et al. Microglial-mediated PDGF-CC activation increases cerebrovascular permeability during ischemic stroke. *Acta Neuropathol.* 2017; 134(4):585-604.
229. Sud R, Spengler RN, Nader ND, Ignatowski TA. Antinociception occurs with a reversal in alpha 2-adrenoceptor regulation of TNF production by peripheral monocytes/macrophages from pro- to anti-inflammatory. *Eur J Pharmacol.* 2008; 588(2-3):217-31.
230. Sugama S, Takenouchi T, Hashimoto M, Ohata H, Takenaka Y, Kakinuma Y. Stress-induced microglial activation occurs through β -adrenergic receptor:

noradrenaline as a key neurotransmitter in microglial activation. *J Neuroinflammation*. 2019; 16(1):266.

231. Summers L, Kangwantas K, Rodriguez-Grande B, Denes A, Penny J, Kielty C, et al. Activation of brain endothelial cells by interleukin-1 is regulated by the extracellular matrix after acute brain injury. *Mol Cell Neurosci*. 2013 Nov;57:93-103.

232. Sunami E, Nomura K, Nishiyama Y, Katayama Y. Effects of Candesartan Cilexetil Compared with Amlodipine on Serum Asymmetric Dimethylarginine Levels in the Chronic Stage of Cerebral Infarction: A Preliminary Study. *J Nippon Med Sch*. 2016; 83(6):272-6.

233. Sunggip C , Nishimura A , Shimoda K , Numaga-Tomita T , Tsuda M , Nishida M. Purinergic P2Y6 receptors: A new therapeutic target of age-dependent hypertension. *Pharmacol Res*. 2017;120:51-9.

234. Suurväli J, Boudinot P, Kanellopoulos J, Rüütel Boudinot S. P2X4: A fast and sensitive purinergic receptor. *Biomed J*. 2017;40(5):245-56.

235. Suzuki T, Kohyama K, Moriyama K, Ozaki M, Hasegawa S, Ueno T, et.al. Extracellular ADP augments microglial inflammasome and NF- κ B activation via the P2Y12 receptor. *Eur J Immunol*. 2020;50(2):205-19.

236. Tai SH, Chen HY, Lee EJ, Chen TY, Lin HW, Hung YC, et al. Melatonin inhibits postischemic matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) activation via dual modulation of plasminogen/plasmin system and endogenous MMP inhibitor in mice subjected to transient focal cerebral ischemia. *J Pineal Res*. 2010;49(4):332-41.

237. Tamaki S, Yamada T, Morita T, Furukawa Y, Kawasaki M, Kikuchi T, et al. Impact of adjunctive tolvaptan on sympathetic activity in acute heart failure with preserved ejection fraction. *ESC Heart Fail*. 2020; (7)3:933-37.

238. Tanaka S, Koike T. Selective inflammatory stimulations enhance release of microglial response factor (MRF)-1 from cultured microglia. *Glia*. 2002;40(3):360-71.
239. Thomsen MS, Routhe LJ, Moos T. The vascular basement membrane in the healthy and pathological brain. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2017;37(10):3300-17.
240. Tian J, Lei XX, Xuan L, Tang JB, Cheng B. The effects of aging, diabetes mellitus, and antiplatelet drugs on growth factors and anti-aging proteins in platelet-rich plasma. *Platelets*. 2019;30(6):773-92.
241. Timaru CM, Stefan C, Iliescu DA, De Simone A, Batras M. Matrix regenerative therapy. *Rom J Ophthalmol*. 2017 Jan-Mar;61(1):2-10.
242. Tokarz A, Szuścik I, Kuśnierz-Cabala B, Kapusta M, Konkolewska M, Żurkowski A, et al. Extracellular Vesicles Participate in the Transport of Cytokines and Angiogenic Factors in Diabetic Patients With Ocular Complications. *Folia Med Cracov*. 2015;55(4):35-48.
243. Toledo C, Andrade DC, Díaz HS , Inestrosa NC, Del Rio R. Neurocognitive Disorders in Heart Failure: Novel Pathophysiological Mechanisms Underpinning Memory Loss and Learning Impairment. *Mol Neurobiol*. 2019;56(12):8035-51.
244. Toth P, Tarantini S, Csiszar A, Ungvari Z. Functional vascular contributions to cognitive impairment and dementia: mechanisms and consequences of cerebral autoregulatory dysfunction, endothelial impairment, and neurovascular uncoupling in aging. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2017 Jan 1;312(1):H1-H20.
245. Tran TV, Park SJ, Shin EJ, Tran HQ , Jeong JH, Jang CG, et.al.. Blockade of platelet-activating factor receptor attenuates abnormal behaviors induced by phencyclidine in mice through down-regulation of NF- κ B. *Brain Res Bull*. 2018;137:71-8.
246. Udvardy M, Posan E, Harsfalvi J, Rak K. Possible role for platelet insulin receptors in modulating platelet function in health and diabetes mellitus. *Platelets*. 1993;4(5):287-8.

247. Ueno M, Chiba Y, Murakami R, Matsumoto K, Kawauchi M, Fujihara R. Blood-brain barrier and blood-cerebrospinal fluid barrier in normal and pathological conditions. *Brain Tumor Pathol.* 2016 Apr;33(2):89-96.
248. Vassilopoulou S, Korompoki E, Tountopoulou A, Mitsikostas DD, Manios E, Georgiopoulos G, et.al. Lateralization of Insular Ischemic Stroke is Not Associated With Any Stroke Clinical Outcomes: The Athens Stroke Registry. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2020;29(2):104529.
249. Vinci MC, Bellik L, Filippi S, Ledda F, Parenti A. Trophic effects induced by alpha D-adrenoceptors on endothelial cells are potentiated by hypoxia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;293(4):H2140-7.
250. Vucicevic J, Nikolic K, Dobričić V, Agbaba D. Prediction of blood-brain barrier permeation of α -adrenergic and imidazoline receptor ligands using PAMPA technique and quantitative-structure permeability relationship analysis. *Eur J Pharm Sci.* 2015;68:94-105.
251. Wang B, Yee Aw T, Stokes KY. N-acetylcysteine attenuates systemic platelet activation and cerebral vessel thrombosis indiabetes. *Redox Biol.* 2018 Apr;14:218-28.
252. Wang F, Li D, Wang L, Zhu J, Zhao M, Lei P. Mild Hypertension Protects the Elderly From Cognitive Impairment: A 7-year Retrospective Cohort Study *Psychogeriatrics* . 2020 Jan 23.
253. Wang J, Deng Y, Zou X, Luo H, Jose PA, Fu C, Yang J, Zeng C. Long-term low salt diet increases blood pressure by activation of the renin-angiotensin and sympathetic nervous systems. *Clin Exp Hypertens.* 2018;18:1-8.
254. Wang Q, Reps JM, Kostka KF, Ryan PB, Zou Y, Voss EA, et al. Development and validation of a prognostic model predicting symptomatic hemorrhagic transformation in acute ischemic stroke at scale in the OHDSI network. *PLoS One.* 2020;15(1):e0226718.

255. Wang S, Wang J, Zhao A, Li J. SIRT1 activation inhibits hyperglycemia-induced apoptosis by reducing oxidative stress and mitochondrial dysfunction in human endothelial cells. *Mol Med Rep.* 2017 Sep;16(3):3331-8.
256. Wang Y, Zhang JH, Sheng J, Shao A. Immunoreactive Cells After Cerebral Ischemia. *Front Immunol.* 2019;10:2781.
257. Westein E, Hoefer T, Calkin AC. Thrombosis in diabetes: a shear flow effect. *Clin Sci.* 2017 Jun 15;131(12):1245-60.
258. Wohleb ES , McKim DB , Sheridan JF, Godbout JP. Monocyte trafficking to the brain with stress and inflammation: a novel axis of immune-to-brain communication that influences mood and behavior. *Front Neurosci.* 2015;8:447.
259. Wright JW, Harding JW. Contributions of matrix metalloproteinases to neural plasticity, habituation, associative learning and drug addiction. *Neural Plast.* 2009;2009:579382.
260. Wright JW, Harding JW. Contributions by the Brain Renin-Angiotensin System to Memory, Cognition, and Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.* 2019;67(2):469-80.
261. Wu T, Jia Z , Dong S , Han B , Zhang R , Liang Y, et.al. Panax notoginseng Saponins Ameliorate Leukocyte Adherence and Cerebrovascular Endothelial Barrier Breakdown upon Ischemia-Reperfusion in Mice. *J Vasc Res.* 2019;56(1):1-10.
262. Xiao X, Yang C, Qu SL, Shao YD, Zhou CY, Chao R, et al. S100 proteins in atherosclerosis. *Clin Chim Acta.* 2020 Mar;502:293-304.
263. Xie Y, Wang Y, Ding H , Guo M , Wang X , Dong Q. Highly glycosylated CD147 promotes hemorrhagic transformation after rt-PA treatment in diabetes: a novel therapeutic target. *J Neuroinflammation.* 2019;16(1):72.
264. Xin JZ, Wu JM, Hu GM, Gu HJ, Feng YN, Wang SX, et al. α 1-AR overactivation induces cardiac inflammation through NLRP3 inflammasome activation. *Acta Pharmacol Sin.* 2020 Mar;41(3):311-8.

265. Xu Y, Hu W, Liu Y, Xu P , Li Z , Wu R, et al. P2Y6 Receptor-Mediated Microglial Phagocytosis in Radiation-Induced Brain Injury. *Mol Neurobiol.* 2016;53(6):3552-64.
266. Yamazaki Y, Kanekiyo T. Blood-Brain Barrier Dysfunction and the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci.* 2017 Sep 13;18(9):E1965.
267. Yang C, Hawkins KE, Doré S, Candelario-Jalil E. Neuroinflammatory mechanisms of blood-brain barrier damage in ischemic stroke. *Am J Physiol, Cell Physiol.* 2019 02 1;316(2):C135-153.
268. Yang EV, Sood AK, Chen M, Li Y, Eubank TD, Marsh CB, et. al. Norepinephrine up-regulates the expression of vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinase (MMP)-2, and MMP-9 in nasopharyngeal carcinoma tumor cells. *Cancer Res.* 2006;66(21):10357-64.
269. Yang P, Manaenko A , Xu F, Miao L, Wang G, Hu X, et al. Role of PDGF-D and PDGFR- β in neuroinflammation in experimental ICH mice model. *Exp Neurol.* 2016;283(Pt A):157-64.
270. Yang Q, Guo M, Wang X, Zhao Y, Zhao Q, Ding H, et al. Ischemic preconditioning with a ketogenic diet improves brain ischemic tolerance through increased extracellular adenosine levels and hypoxia-inducible factors. *Brain Res.* 2017;1667:11-8.
271. Yang T, Sun Y , Lu Z , Leak RK , Zhang F. The impact of cerebrovascular aging on vascular cognitive impairment and dementia. *Ageing Res Rev.* 2017;34:15-29.
272. Yang X, Lou Y, Liu G, Wang X, Qian Y, Ding J, et.al. Microglia P2Y6 receptor is related to Parkinson's disease through neuroinflammatory process. *J Neuroinflammation.* 2017;14(1):38.
273. Yang Y, Ma L, Wang C, Song M, Li C, Chen M, Zhou J, Mei C. Matrix metalloproteinase-7 in platelet-activated macrophages accounts for cardiac remodeling in uremic mice. *Basic Res Cardiol.* 2020 ;115(3):30.

274. Yang Y, Rosenberg GA. Matrix metalloproteinases as therapeutic targets for stroke. *Brain Res.* 2015;1623:30-8.
275. Ye ZY, Xing HY, Wang B, Liu M, Lv PY. DL--n-butylphthalide protects the blood-brain barrier against ischemia/hypoxia injury via upregulation of tight junction proteins. *Chin Med J (Engl).* 2019;132(11):1344-53.
276. Yin X , Zhou L, Han F, Han J, Zhang Y, Sun Z, et. al. Beta-adrenoceptor Activation by Norepinephrine Enhances Lipopolysaccharide-induced Matrix Metalloproteinase-9 Expression Through the ERK/JNK-c-Fos Pathway in Human THP-1 Cells. *J Atheroscler Thromb.* 2017;24(1):55-67.
277. Yin XJ, Chen ZY, Zhu XN, Hu JJ. Loss of PAFR prevents neuroinflammation and brain dysfunction after traumatic brain injury. *Sci Rep.* 2017;7:40614.
278. Yoshida H, Imaizumi T, Tanji K, Sakaki H, Metoki N, Sato Y, et al. Interleukin-1beta enhances the angiotensin-induced expression of plasminogen activator inhibitor-1 through angiotensin receptor upregulation in human astrocytes. *Brain Res.* 2006;1073-1074:38-47.
279. Yu W, Jianhong L, Weili W, Peng S, Zhongyang S. Effects of CyPA signal pathway in myocardial tissue after cardiopulmonary resuscitation in rat. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue.* 2015;27(12):965-9.
280. Zhang L, Cai QY, Lin S, Jia BB, Ye RZ , Wang H, et.al. Prevention of systemic inflammation and neuroprotective effects of Qingda granules against angiotensin II-mediated hypertension. *Pak J Pharm Sci.* 2020;33(1(Spec)):469-79.
281. Zhang PA, Sun Q, Li YC, Weng RX , Wu R , Zhang HH , Xu GY . Overexpression of Purinergic P2X4 Receptors in Hippocampus Rescues Memory Impairment in Rats with Type 2 Diabetes. *Neurosci Bull.* 2020 Mar 20.
282. Zhang Q, Zhang J, Yan Y, Zhang P, Zhang W, Xia R . Proinflammatory cytokines correlate with early exercise attenuating anxiety-like behavior after cerebral ischemia. *Brain Behav.* 2017;7(11):e00854.

283. Zhang W, Carreño FR, Cunningham JT. Chronic sustained hypoxia enhances both evoked EPSCs and norepinephrine inhibition of glutamatergic afferent inputs in the nucleus of the solitary tract . *J Neurosci*. 2009;29 (10): 3093-102.
284. Zhang X , Hartung JE , Bortsov AV , Kim S , O'Buckley SC , Kozlowski J, et.al. Sustained stimulation of β 2- and β 3-adrenergic receptors leads to persistent functional pain and neuroinflammation. *Brain Behav Immun*. 2018;73:520-32.
285. Zhang Y, Yang P, Gu B, Wang J. Comparison of the Diagnostic Values of Neutrophil, Neutrophil to Lymphocyte Ratio, and Platelet to Lymphocyte Ratio in Distinguishing Spontaneous Subarachnoid Hemorrhage from Nontraumatic Acute Headache. *Clin Lab*. 2019;65(10).
286. Zhao H, Shu L, Huang W, Wang W, Song G .Difference Analysis Of Related Factors In Macrovascular And Microvascular Complications In Chinese Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. A Case-Control Study Protocol *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2019 Oct 21;12:2193-200.
287. Zhao N, Ren Y , Yamazaki Y , Qiao W , Li F , Felton LM, et.al. Alzheimer's Risk Factors Age, APOE Genotype, and Sex Drive Distinct Molecular Pathways. *Neuron*. 2020 Mar 18. pii: S0896-6273(20)30185-9.
288. Zhao SC, Ma LS, Chu ZH, Xu H, Wu WQ, Liu F. Regulation of microglial activation in stroke. *Acta Pharmacol Sin*. 2017 Apr;38(4):445-58.
289. Zuccarini M, Carluccio M, Ziberi S, Giuliani P, Buccella S, Conti C, et al. Does the purinergic system affect extracellular matrix functions in the central nervous system? *J Biol Regul Homeost Agents*. 2018;32(6):1349-53.
290. Zukowska P, Kutryb-Zajac B, Toczek M, Smolenski RT, Slominska EM . The role of ecto-5'-nucleotidase in endothelial dysfunction and vascular pathologies. *Pharmacol Rep*. 2015;67(4):675-81.