

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

На правах рукописи

КАРДАШ ВИТА ПЕТРОВНА

УДК 616.831-005.2-036.12-039:575

**РОЛЬ КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В РАЗВИТИИ
ХРОНИЧЕСКИХ СУБДУРАЛЬНЫХ ГЕМАТОМ**

14.01.11 – нервные болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Донецк – 2022

Работа выполнена в Государственной образовательной организации высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», г. Донецк

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Статинова Елена Анатольевна
ГОО ВПО ДОННМУ ИМЕНИ М.ГОРЬКОГО МЗ ДНР
заведующая кафедрой неврологии, медицинской генетики

Официальные оппоненты: **Ефремов Валерий Вильяминович**
доктор медицинских наук, профессор кафедры нервных болезней и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет" МЗ РФ, г.Ростов-на-Дону

Дюба Динара Шамильевна
кандидат медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник ученого секретаря Института неотложной и восстановительной хирургии им.В.К.Гусака, МЗ ДНР, г.Донецк

Ведущая организация: Государственное учреждение Луганской Народной Республики «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки» МЗ ЛНР, г.Луганск

Защита состоится « » 2023 года в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д 01.026.06 при ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького» МЗ ДНР по адресу: 283003, г. Донецк, пр. Ильича, 16, морфологический корпус, электронный зал библиотеки, на базе ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького». Тел. факс: (062) 277-14-54, email: spec-sovet-01-026-06@dnmu.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького» по адресу: 283003, г. Донецк, пр. Ильича, 16 (<http://dnmu.ru/>).

Автореферат разослан « » _____ 20__ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 01.026.06

Коценко Ю.И.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Хроническая субдуральная гематома (ХСГ) является распространенным заболеванием в нейрохирургической и неврологической практике, наиболее частой причиной, которой является черепно-мозговая травма легкой и средней степени тяжести (Mehta V., et al., 2018; Лихтерман Л.Б., 2019; Jang K.M., 2020; Zhang J., 2021). Ежегодная заболеваемость ХСГ составляет 8,2-20,6 человек на 100 000 (Yang W., et al., 2017; Adam D., et al., 2018) и 58-80 на 100 000 населения среди лиц в возрасте 70 лет и старше (Yadav Y.R., et al., 2016; Bucher B. et al., 2019; Chang C. et al., 2020). В связи с ростом продолжительности жизни населения и увеличением распространенности атеросклероза, сахарного диабета, артериальной гипертензии, применения гемодиализа, антикоагулянтов и др. (Krupa M., et al., 2009; Karibe H., et al., 2011; Rauhala M., et al., 2019) ожидается двукратный прирост пациентов с ХСГ к 2030 году (Лобастов Д.К., Татаренко С.А., 2018). ХСГ выявляются как у пожилых лиц, так и в молодом, и среднем возрасте, а также у детей (Wright D., 2015; Wittschieber D. et al., 2019).

Патогенез ХСГ включает взаимосвязанные механизмы кровоизлияния и воспаления между твердой и паутинной оболочками, с образованием неомембран, реакциями ангиогенеза и фибринолиза, которые приводят к увеличению объема ХСГ и компрессии головного мозга (Edlmann E. et al., 2017; Holl D.C. et al., 2018).

Клинические проявления ХСГ характеризуются выраженным полиморфизмом и могут включать: очаговые мозговые и психические нарушения, менингеальный синдром, инсультоподобный синдром, эпилепсии, что затрудняет своевременность и точность диагностики ХСГ (Santarius T. et al., 2010; Kolias A.G. et al., 2014; Yadav Y.R. et al., 2016).

Основным методом лечения ХСГ и декомпрессии головного мозга является оперативное удаление и дренирование гематомы с помощью краниотомии или трепанации черепа (Lee K.S., 2019; Blaauw J. et al., 2020). Несмотря на постоянное совершенствование оперативных вмешательств и методов консервативного лечения, применение малоинвазивных методов лечения, рецидивы ХСГ регистрируют в 5–38 % случаев (Brennan P.M., 2017; Mahmood S.D., 2017). Факторами риска развития рецидивов ХСГ являются мужской пол, пожилой возраст, объем гематомы, рентгенологическая плотность, развитие дислокационного синдрома со смещением средней линии и др. (Iliescu I., et al., 2015; Adam D., et al., 2018). Особенную роль в возникновении, прогрессировании и рецидивировании ХСГ играют факторы, которые регулируют процессы воспаления и клеточной пролиферации неомембран, ангиогенеза и фибринолитической активности гематомы (Edlmann E. et al., 2017; Holl D.C. et al., 2018). Патогенетически обоснованное лечение с применением глюкокортикоидов, тромболитиков, статинов и др. имеет персонализированную направленность, связанную с торможением

индуцирующего влияния провоспалительных цитокинов на клеточную пролиферацию неомембран и неоваскулогенез, лизисом тромбов, препятствующим активному дренированию полости гематомы (Pripp A.H. et al., 2014; Gong Z., et al., 2021; Wang D. et al., 2021). Течение ХСГ и развитие возможных рецидивов во многом зависит от концентрации провоспалительных цитокинов, васкулоэндотелиального фактора роста, ингибитора активатора плазминогена (PAI-1) (Li F. et al., 2017; Hanley D.F. et al., 2019; Mang O Y. et al., 2021). Полиморфизмы генов, которые отвечают за синтез регуляторных белков, возможно, являются одними из факторов, влияющих на ключевые звенья патогенеза ХСГ. Определение роли генетического полиморфизма *rs2010963* гена *VEGFA*, *rs1799768* гена *PAI-1*, *rs1800795* гена *IL6* в развитии ХСГ, значимость связей с клиническими проявлениями ХСГ и их практическом значении для прогноза заболевания в настоящее время изучено недостаточно и в доступной нам литературе отсутствует.

Определение клинико-неврологических, молекулярно-генетических факторов позволит выбирать оптимальные способы лечения, объем операции и режим послеоперационного наблюдения для каждого пациента индивидуально, что, в свою очередь, повысит эффективность и безопасность лечения больных с ХСГ.

Степень разработанности темы исследования.

Изучение развития и прогрессирования ХСГ является актуальной проблемой неврологии и нейрохирургии вследствие значительной распространенности, высокого риска развития рецидивов, затруднений в диагностике в начальной стадии ХСГ и выбора эффективного способа лечения для устранения компрессии головного мозга, обусловленной отеком и гипоксией. Данных по исследованию ассоциаций некоторых полиморфизмов генов, кодирующих белки системы регуляции ангиогенеза, фибринолиза, провоспалительной индукции, связанные с воспалительным ответом, с формированием ХСГ и развитием осложнений нами не найдено. Определение комплексных клинико-генетических критериев необходимо для разработки информативных диагностических и эффективных лечебно-профилактических мероприятий в практической неврологии и нейрохирургии. Исследование роли генетических факторов в развитии ХСГ представляется перспективным, поскольку позволяет выделить пациентов с высоким риском развития ХСГ для индивидуального лечения и предупреждения осложнений.

Связь с научными программами, планами, темами.

Диссертационная работа выполнена на кафедре неврологии, медицинской генетики и нейрохирургии ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М.ГОРЬКОГО и является фрагментом научно-исследовательской работы: «Индивидуальная (персонализированная) коррекция интенсивной терапии с помощью медицинской экспертной системы у пациентов с острой

и хронической церебральной недостаточностью различного генеза» (шифр работы УН 21.01.08). Диссертант выполнила фрагмент научно-исследовательской работы, посвященной изучению клинических проявлений ХСГ и их связи с генетическими полиморфизмами.

Тема диссертации и научный руководитель утверждены на заседании Ученого совета ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО, протокол №2 от 25.02.2021 г.

Цель исследования: повысить эффективность диагностики ХСГ на основании изучения клинических и генетических факторов риска развития и прогрессирования заболевания.

Задачи исследования:

1. Изучить особенности клинико-неврологических проявлений ХСГ до и после лечения.

2. Провести сопоставление клинико-неврологических особенностей у больных с ХСГ с рецидивным и безрецидивным течением.

3. Исследовать распределение аллелей и генотипов полиморфизмов *rs2010963* гена *VEGFA*, *rs1799768* гена *PAI-1*, *rs1800795* гена *IL6* у пациентов с ХСГ в зависимости от характера течения и рецидивирования.

4. Определить наличие ассоциации между полиморфизмами *rs2010963* гена *VEGFA*, *rs1799768* гена *PAI-1*, *rs1800795* гена *IL6* и риском развития и рецидивирования ХСГ.

5. Исследовать влияние полиморфизма *rs2010963* гена *VEGFA*, *rs1799768* гена *PAI-1*, *rs1800795* гена *IL6* на развитие и рецидивирование ХСГ в зависимости от состояния неврологического, нейropsychологического статуса пациентов, нейровизуализационных характеристик и содержания нейроспецифических биомаркеров.

6. Определить прогностические критерии риска развития ХСГ и ее рецидивов и разработать модель индивидуального прогнозирования.

Объект исследования: хроническая субдуральная гематома.

Предмет исследования: неврологические, нейropsychологические, нейровизуализационные, молекулярно-генетические, лабораторные показатели в оценке течения ХСГ.

Научная новизна полученных результатов.

Проведена оценка диагностической значимости неврологических, нейropsychологических и нейровизуализационных признаков, лабораторных биомаркеров и генетических маркеров течения ХСГ и развития рецидивов. патогенетических звеньев ХСГ – воспаления, ангиогенеза и фибринолиза.

Впервые были выявлены ассоциации изучаемых генетических полиморфных маркеров с особенностями течения ХСГ:

Впервые показаны взаимосвязанные изменения содержания в крови биомаркеров HIF-1 α , S100B с рецидивным и безрецидивным течением. Математически доказана роль HIF-1 α в формировании структурных

нарушений головного мозга: смещении срединной линии, расширении субарахноидальных щелей и распространении перифокального отека.

Впервые установлено, что у жителей Донбасского региона распределение аллелей изученных генов влияло на формирование ХСГ и развитие рецидивов. Показано, что наличие у пациентов минорной *C*-аллели *rs2010963* гена *VEGFA* и генотипа *GG* и *G*-аллели *rs1800795* гена *IL6* увеличивало шансы развития ХСГ. Вместе с тем, наличие предковой 5*G*-аллели *rs1799768* гена *PAI-1* и генотипа *GG* и *G*-аллели *rs1800795* гена *IL6* способствовало развитию рецидивов ХСГ.

Установлено, что наличие аллелей и генотипов исследуемых генетических полиморфизмов, связанных с риском развития ХСГ и осложнений в виде рецидивов, влияли на показатели когнитивных нарушений, тревожно-депрессивных расстройств, показатели неврологического статуса, нейровизуализационных данных, содержание в крови биомаркеров HIF-1 α , S100B определяли характер течения и послеоперационного периода ХСГ.

Рассчитаны вероятностные значения прогноза для формирования ХСГ и развития рецидивов в зависимости от наличия определенного генотипа.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Выявленные корреляции между полиморфизмами изучаемых генов *VEGFA*, *IL6*, *PAI-1* и клиническими проявлениями позволили определить новые потенциальные маркеры развития ХСГ и рецидивирующего течения в послеоперационном периоде. Полученные результаты об особенностях распределения частот аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов *VEGFA*, *IL6*, *PAI-1* у больных ХСГ дополняют фундаментальные сведения о генетических особенностях этого мультифакторного заболевания. Исследованные клиничко-генетические ассоциации, могут быть положены в основу персонифицированного диагностического алгоритма для выявления прогностических критериев предрасположенности к формированию ХСГ и развитию рецидивов для определения комплекса лечебно-профилактических мероприятий и тактики ведения пациентов.

Методология и методы исследования.

В основу методологии работы положен системный подход, направленный на анализ результатов исследования больных с ХСГ. Основу исследования составили изучение данных литературы, формирование групп больных с учетом критериев включения и исключения, обследование пациентов, оценка и интерпретация полученных данных. В работе использованы клиничко-неврологические, нейропсихологические, нейровизуализационные, молекулярно-генетические и статистические методы.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Исследования полиморфизмов *rs2010963* гена *VEGFA*, *rs1799768* гена *PAI-1* и *rs1800795* гена *IL6* у пациентов с ХСГ показало активное

участие комплексных механизмов воспаления, ангиогенеза и фибринолиза в патогенезе ХСГ.

2. Носительство С-аллели полиморфизма *rs2010963* гена *VEGFA*, кодирующего ген васкулоэндотелиального фактора роста, ассоциировано с развитием и прогрессированием ХСГ, выраженностью клинико-неврологических нарушений.

3. Носительство 5G-аллели *rs1799768* гена *PAI-1*, генотипа GG и G-аллели *rs1800795* гена *IL6* ассоциировано с развитием ХСГ и способствует развитию рецидивов ХСГ с более выраженной градацией неврологических расстройств.

4. Разработка моделей логистической регрессии, основанных на анализе комплекса клинико-генетических факторов, позволит определить и прогнозировать риск развития, характер течения и рецидивирования ХСГ.

Степень достоверности полученных данных.

Достоверность результатов, изложенных в диссертационной работе, основывается на использовании современных методов исследований, достаточном объеме материала, использовании методов адекватных поставленным задачам и применении современных методов статистического анализа. Все исследования выполнены на метрологически проверенном оборудовании. Положения, изложенные в диссертации, построены на достаточно изученных данных многоцентровых исследований, которые дополнены результатами проведенного анализа ассоциации генетических маркеров, участвующих в ключевых патогенетических звеньях ХСГ.

Апробация результатов исследований.

Основные положения диссертационной работы представлены на научных форумах: IV Международном медицинском форуме Донбасса «Наука побеждать болезнь» (Донецк, 12-13 ноября 2020 г.); V Международном медицинском форуме Донбасса «Наука побеждать болезнь» (Донецк, 11-12 ноября 2021 г.); XIX–XX Всероссийской научно-практической конференции «Поленовские чтения» (Санкт-Петербург, 31 марта -2 апреля 2021 г.); IV Инновационном Петербургском медицинском форуме, (Санкт-Петербург, 27-29 мая 2021 г.).

Материалы диссертации заслушаны, обговорены и рекомендованы к представлению в Диссертационный совет Д 01.026.06 на апробационном семинаре по нервным болезням ГОО ВПО ДОННМУ ИМ.М.ГОРЬКОГО, протокол №.1 от 02.06.2022 г.

Личный вклад соискателя.

Диссертация является самостоятельным научным трудом соискателя. В соавторстве с научным руководителем определено методологическое построение работы. Диссертантом самостоятельно проведен информационный и патентный поиски, анализ научной литературы по исследуемой проблеме. Соискатель самостоятельно осуществила подбор и распределение больных в группы, провела клинико-неврологическое

обследование и нейропсихологическое тестирование пациентов, анализ нейровизуализационных данных.

Молекулярно-генетические и лабораторно-диагностические исследования выполнялись в Центральной научно-исследовательской лаборатории ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО.

Формулировка основных научных положений и выводов диссертации выполнены соискателем совместно с научными руководителями. В научных работах, опубликованных по материалам диссертации в соавторстве, соискателю принадлежала ведущая роль в формулировании цели, задач, статистической обработке и анализе результатов. Диссертантом не были заимствованы результаты и идеи соавторов публикаций.

Внедрение в практику. Результаты проведенного исследования внедрены в практическую деятельность неврологических отделений №1, №2 Донецкого территориального медицинского объединения г. Донецка МЗ ДНР, неврологического отделения Клинической Рудничной больницы МЗ ДНР г. Макеевки, неврологического отделения ГБ №2 МЗ ДНР г. Горловки, научно-исследовательскую работу кафедры нейрохирургии, неврологии и медицинской генетики ГОО ВПО ДОННМУ ИМ.М. ГОРЬКОГО.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 13 работ в научных изданиях, рекомендуемых ВАК ДНР – 5, ВАК ЛНР – 1 и 7 тезисов.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 202 страницах печатного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, двух глав собственных исследований, анализа и обсуждения результатов исследования, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы. Список литературы включает 289 источников, в том числе 18 отечественных и 271 иностранных авторов. Диссертация содержит 59 таблиц и иллюстрирована 18 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования.

В исследование включены 246 пациентов с диагнозом ХСГ. Среди больных было 197 (80,08 %) мужчин и 49 (19,92 %) женщин в возрасте от 19 до 75 лет, которым выполняли операции с наложением 2-х фрезевых отверстий и дренированием полости ХСГ. Пациенты были разделены на 2 группы: I группа – 184 человека с безрецидивным и II группа – 62 человека с рецидивирующим течением ХСГ. В обеих группах выделяли период А, в котором обследовали больных при поступлении в стационар до операции по поводу ХСГ и период Б, в котором наблюдение проводилось после операции: в I группе через 120 дней после операции, во II группе – при развитии клинических признаков рецидива ХСГ в течение 4-х месяцев после операции. При первичном обращении больных легкую ЧМТ диагностировали у 110 (59,8 %) человек I группы и 38 (61,3 %) II группы, ЧМТ средней тяжести – у 74 (40,2 %) больных I и у 24 (38,7 %) больных II группы, что было сопоставимо при межгрупповом сравнении ($p=0,803$).

Медиана возраста больных с ХСГ 57(50-65) лет и I группы 55(48-61) лет не отличались от медианы возраста лиц контрольной группы 57(50-64) ($p>0,05$), что позволило считать их сопоставимыми для сравнения. Медианные значения возраста больных II группы 66(59-70) лет были достоверно выше, чем в I и контрольной группах, что указывало на развитие рецидивов ХСГ у лиц старшего возраста ($p<0,001$). Гендерный состав пациентов с ХСГ и контрольной группы с соотношением мужчины/женщины – 4:1 статистически не различался ($p>0,05$).

Локализация ХСГ характеризовалась распространением на одну и несколько долей. Количественное распределение пациентов по локализации ХСГ между I и II группами не имело достоверных различий ($p=0,417$), что указывало на однородность распространения ХСГ у больных с наличием и отсутствием рецидивов.

Анализ различий медианных значений объемов гематом у больных I и II групп показал, что медианы объемов во II группе 130(92-169) мл, превышали значения в I группе 117(83-156) мл, но не являлись достоверными ($p=0,051$). Объемы ХСГ во II группе при выявлении рецидивов составляли 168(134-219) мл, что достоверно выше, чем в период при первичном обращении ($p<0,001$).

Скорость развития ХСГ, учитываемая от момента травмы до выполнения операции, была несколько, но недостоверно ($p=0,751$) выше в II группе 49(34-65) сут по сравнению с I группой 50(32-67) сут. Развитие рецидивов ХСГ диагностировали на 59(45-69) сутки после операции, сравнение скорости развития ХСГ и скорости рецидивирования ХСГ во II группе не имело достоверных различий ($p=0,066$).

Контрольная группа включала 65 человек, перенесших ЧМТ в легкой форме без развития ХСГ, сопоставимых по возрасту и полу с пациентами основной группы.

Больным проводили клинико-неврологические, нейропсихологические, нейрорадиологические, лабораторные, молекулярно-генетические исследования. Оценку неврологического статуса выполняли с применением шкалы MGS (Markwalder's grading scale) (Markwalder, 1982) и NOS-TBI (Neurological Outcome Scale for Traumatic Brain Injury). Степень выраженности когнитивного дефицита оценивали по Монреальской шкале когнитивной оценки (MoCA) (Nasreddine Z., 2005). Уровень тревожности и депрессии исследовали по шкале HADS. Компьютерную томографию (КТ) проводили с помощью аппарата «Philips Brilliance» (Philips, Нидерланды), магнитно-резонансную томографию (МРТ) с помощью – «Ingenia» 1.5 T (Philips Нидерланды). С помощью КТ и МРТ головного мозга оценивали объем, локализацию, структуру и плотность ХСГ, смещение срединных структур мозга, сдавление желудочков, состояние субарахноидальных пространств, наличие перифокального отека в зоне, окружающей гематому.

В плазме крови исследовали содержание маркеров HIF-1 α и S100B. Анализ выполняли с использованием иммуноферментных тест-систем ELISA Kit for Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha и ELISA Kit for S100 Calcium Binding Protein B (Cloud-Clone Corp., США) с количественным измерением на планшетном ридере «Multiscan EX» Thermo Electron Corp. (Финляндия). В группу контроля составили 42 здоровых человека.

Анализ генетических полиморфизмов *rs2010963* гена VEGFA (C634G; генная локализация 6p21.1), *rs1799768* гена PAI-1 (-675 5G/4G; генная локализация 7q21.3-q22), *rs1800795* гена IL6 (C-174G; генная локализация 7p15.3) проводили методом полимеразной цепной реакции с аллель-специфическими праймерами и электрофоретической детекцией продуктов амплификации. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов цельной венозной крови с использованием набора реактивов «ДНК-экспресс-кровь» НПФ «Литех» (РФ). ПЦР проводили в амплификаторе «Терцик МС-2» (ДНК-Технология). В качестве реагентов для амплификации использовали тест-системы «SNP-экспресс»: «VEGFA - C634G», «PAI-1 -675 5G/4G» и «IL6 - C-174G» (НПФ «Литех», РФ). Электрофоретическую разгонку продуктов амплификации проводили в 3 % агарозном геле от источника постоянного тока «Эльф-4» (ООО «ДНК-Технология», РФ). Для окрашивания фрагментов ДНК применяли 1 % раствор бромистого этидия. Детекцию фрагментов ДНК осуществляли в проходящем ультрафиолетовом свете при длине волны 312 нм в трансиллюминаторе «TFX-20 M» («Vilber Lourmat», Франция).

Для статистической обработки полученных данных использовали программы «MedStat» и Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA). Характер распределения количественных переменных отличался от нормального. Поэтому математическая обработка данных осуществлялась с применением непараметрических методов. Для описательной статистики использовали определение медианы (Me), первого и третьего квартилей (Q1; Q3). Для сравнения двух независимых выборок использовали ранговый критерий Манна-Уитни (U), двух связанных – критерий Вилкоксона (T). Множественное сравнение независимых выборок выполняли с помощью рангового дисперсионного анализа Крускала-Уоллиса (H). Для сравнения межгрупповых распределений частотных характеристик категориальных переменных использовали критерий χ^2 Пирсона в модификации Йетса. Для оценки степени и характера взаимосвязи между выборками рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (ρ) и уровень достоверности его различий с нулевой гипотезой. Достоверность различий в распределении частот генотипов и аллелей при сравнении групп «случай-контроль» оценивали с помощью анализа таблиц сопряженности (3 $\times$ 2 и 2 $\times$ 2, соответственно) по критерию χ^2 . Степень ассоциации генотипов и аллелей с заболеванием и развитием рецидивов определяли по величине отношения шансов – ОШ. Статистическую достоверность повышения риска подтверждала величина ОШ более 1, при условии, что она попадала в 95 %

доверительный интервал (95 % ДИ). Соответственно, на значимость снижения риска указывала величина ОШ менее 1.

Математические модели прогноза вероятности развития ХСГ и рецидивирования разрабатывали с использованием технологии многофакторной логистической регрессии. Отбор предикторов осуществляли по методу максимального правдоподобия, при этом категориальные переменные были предварительно индексированы в непрерывные значения. Эффективность предикторов оценивали на основе статистики Вальда (Wald) и интервальным методом по совпадению с 95 % ДИ с расчетом вероятности отличий от нулевой гипотезы.

Оценку операционных свойств моделей осуществляли на основе анализа ROC-диаграмм. Путем сравнения фактических данных и прогнозируемых результатов рассчитывали показатели чувствительности, специфичности и точности регрессионных моделей

Результаты исследования и их обсуждение.

У больных с ХСГ с помощью шкалы МоСА были выявлены следующие категории когнитивной функции: отсутствие КН – 26-30 баллов, умеренные (преддементные) когнитивные нарушения (УКН) – 22-25 баллов и деменция легкой степени выраженности (ДЛСВ) (19-21 балл), которые представлены на рисунке 1

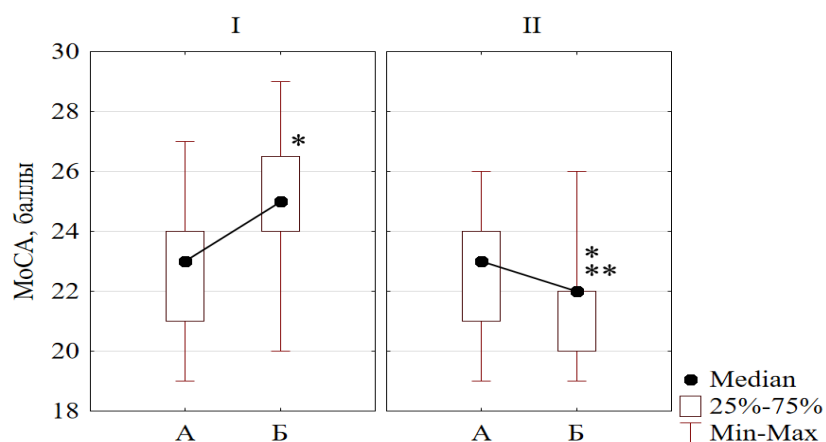


Рисунок 1 – Результаты МоСА-теста (баллы) у пациентов с ХСГ.

Примечания: * – достоверность внутригрупповых различий ($p < 0,01$);

** – достоверность межгрупповых различий ($p < 0,001$).

Анализ распределения больных с ХСГ в зависимости от степени КН показал, что у большей части больных – 65,76 % I группы до операции (период А) обнаружены УКН, соответствующие 22-25 баллам, у 27,17 % установлена ДЛСВ и у 7,07 % КН отсутствовали. В I группе в периоде Б установлено достоверное уменьшение числа пациентов с ДЛСВ в 7 раз и УКН в 1,4 раза, количество больных с отсутствием КН увеличивалось в 7 раз ($p < 0,001$). Во II группе сравнение количества больных в периоде А и Б по категориям КН характеризовалось увеличением пациентов с ДЛСВ в 1,76, уменьшением пациентов с УКН в 1,3 раза и с отсутствием КН в 4 раза

($p=0,034$), свидетельствуя о более выраженных когнитивных расстройствах, при рецидивировании ХСГ.

Анализ внутригрупповых различий результатов МоСА-теста между периодами наблюдения показал значимое улучшение когнитивных функций у пациентов I группы между периодами А и Б с 23 (21-24) баллов до 25 (24-26) баллов ($p<0,001$), во II группе КН прогрессировали – суммарный балл МоСА-теста снижался с 23 (21-24) баллов в периоде А до 22 (20-22) баллов в периоде Б ($p=0,001$), что было связано с рецидивирующим течением ХСГ. Достоверные различия ($p<0,001$) МоСА-теста у пациентов I и II групп в периоде Б свидетельствовали о более выраженном когнитивном дефиците при рецидивах ХСГ. Среди наиболее чувствительных категорий МоСА-теста были установлены значимые ($p<0,001$) нарушения зрительно-конструктивных навыков, памяти, внимания, речи, способности к абстрагированию.

Неврологические обследования больных I и II групп в периоде А выявили нарушения в 2 (1-2) балла по шкале MSG ($p=0,829$) (рис.2).

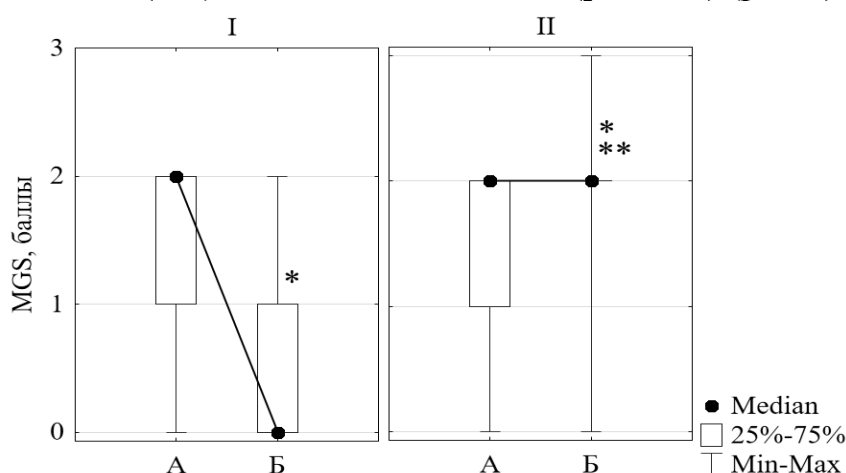


Рисунок 2 – Результаты оценивания по шкале MSG у пациентов ХСГ.

Примечания: * – достоверность внутригрупповых различий ($p<0,001$); ** – достоверность межгрупповых различий ($p<0,001$).

В I группе в периоде Б степень неврологического дефицита снизилась до 0(0-1) баллов по шкале MSG ($p<0,001$), во II группе при развитии рецидивов регистрировали 2(2-2) балла ($p<0,001$). При внутригрупповых сравнениях показателей шкалы MSG были установлены значимые различия между А и Б периодами. В I группе 5-ти кратное увеличение числа пациентов с отсутствием неврологического дефицита и 10-ти кратное снижение числа больных с 2 баллами ($p<0,001$) свидетельствовали о восстановлении неврологических нарушений. Во II группе количество больных с 2 и 3 баллами по шкале MSG достоверно увеличивалось ($p=0,012$), что свидетельствовало о нарастании нейродефицита при рецидивировании ХСГ.

Исследование неврологического состояния пациентов с помощью шкалы NOS-TBI было продиктовано особенностями течения ХСГ, которое

характеризуется значительной вариабельностью клинической картины. Диапазон балльной оценки по шкале NOS-TBI составил от 0 до 8 баллов: в I группе – 0-6, во II группе – 1-8 баллов. Наиболее частыми неврологическими нарушениями являлись: заторможенность при ответе на вопросы, нарушение слуха (28,26 %), обоняния (3,63 %), парез мимической мускулатуры (24,46-27,72 %), нарушение двигательной (20,65-27,72 %) и чувствительной функции в нижних конечностях (15,76-21,74 %), гемипарезы (16,86-23,91 %), атаксия, афазия, дизартрия. Различия в распределении больных между периодами в I группе ($p<0,001$) с увеличением в 18 раз числа пациентов без неврологических нарушений свидетельствовали об эффективности лечения ХСГ. Во II группе в периоде Б снижалось число больных с минимумом неврологических нарушений, но увеличилось – с 5-6 баллами. Состояние 4,84 % и 3,23 % больных было оценено в 7 и 8 баллов, которые отсутствовали до операции, что указывало на более тяжелое состояние больных обусловившее достоверное нарастание ($p=0,031$) неврологического дефицита при рецидивах ХСГ.

В I группе отмечали достоверное уменьшение с 3(2-4) до 0(0-2) баллов ($p<0,001$). II группе при развитии рецидивов ХСГ наблюдали значимое ухудшение неврологического состояния до 4(3-5) баллов ($p<0,001$) (рис.3).

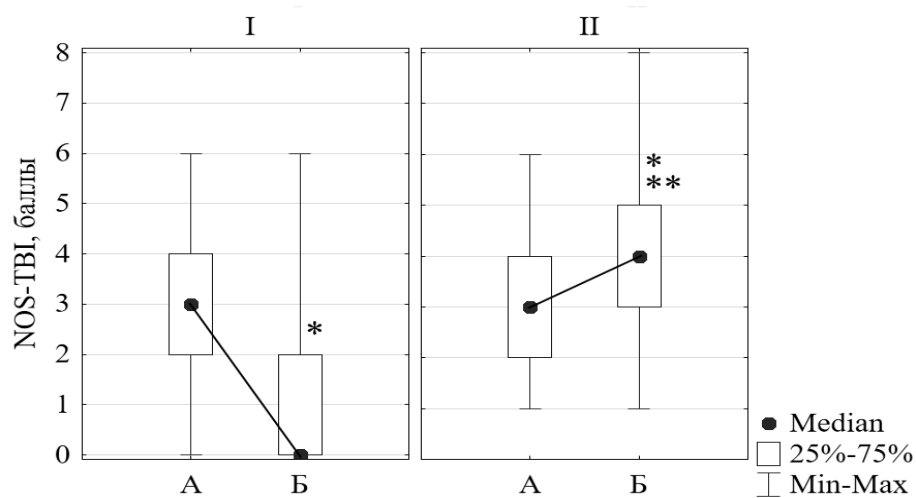


Рисунок 3 – Результаты оценивания по шкале NOS-TBI у пациентов с ХСГ.

Примечания: * – достоверность внутригрупповых различий ($p<0,001$);

** – достоверность межгрупповых различий ($p<0,001$).

Для оценки диагностической значимости шкал MSG и NOS-TBI и их сравнения между собой был проведен логистический однофакторный регрессионный анализ влияния результатов тестирования на рецидивирование ХСГ. Использование критериев шкалы MSG обнаруживало случаи рецидивирующего течения ХСГ с чувствительностью 62,50%, специфичностью 82,03% и точностью 78,86% (ОШ=7,61; 95%ДИ 3,66–15,83), применение шкалы NOS-TBI, позволяло выявить наличие рецидивов гематомы с чувствительностью 80,60%, специфичностью 95,54% и общей точностью 91,46% (ОШ=88,79; 95% ДИ 34,95–225,57). Сравнительный

анализ показал более высокую диагностическую значимость шкалы NOS-TBI, что вероятнее всего связано с большим количеством регистрируемых неврологических расстройств, отражающих нарушения черепно-мозговых нервов, двигательной функции, чувствительности и координаторной системы мозга.

Далее определяли концентрацию маркеров повреждения нервной ткани S100B и HIF-1 α при ХСГ для оценки степени повреждения гематоэнцефалического барьера и патологических изменений нейронов и нейроглиальных структур. Были установлены значения критических концентраций в крови пациентов ХСГ маркеров HIF-1 α и S100B для прогнозирования риска развития рецидивов ХСГ. Установлено, что рецидивирование ХСГ возможно при содержании в крови HIF1 α более 460,97 пг/мл с точностью прогноза 97,15 % (ОШ=1074,0; 95 % ДИ 203,0-5680,9, а также при концентрации S100B более 100,65 нг/мл с точностью прогноза 77,64 % (ОШ=10,2; 95 % ДИ 5,2-19,7).

Нейровизуализационные исследования головного мозга при ХСГ позволяют дать точную и достоверную информацию о локализации, объеме и структуре гематомы, влиянии гематомы на прилежащие структуры мозга. У больных I и II групп были выявлены гипо-, изо-, гетеро- и гиперденсивные гематомы. Сравнение результатов исследования между периодами в I группе выявило достоверные различия в распределении пациентов ($p < 0,001$): в периоде Б у 85,87 % больных признаки ХСГ отсутствовали, количество больных с гиподенсивными гематомами уменьшилось в 7 раз, выявлялись единичные случаи гетероденсивных гематом, гематомы имели минимальные объемы – 20-40 мл. Изо- и гиперденсивные ХСГ не обнаруживали. Во II группе значимая разница в распределении пациентов по степени плотности гематом между периодами наблюдения отсутствовала ($p = 0,993$), это выражалось в практически одинаковом распределении пациентов с различной рентгенологической плотностью гематом во всех периодах наблюдения.

При нейровизуализационном исследовании обнаруживали признаки дислокация срединных структур мозга, сдавление желудочков мозга, изменение состояния субарахноидальных пространств и перифокальный отек. Смещение срединных структур мозга регистрировали в диапазоне от 3-4 до 22 мм. В I группе в периоде А у 47,83 % больных смещение составило 3-4 мм, у 16,85 % – 5-6 мм, у 11,96 % – 7-9 мм, у 10,33 % – от 10 до 22 мм, у 13,04 % пациентов ХМГ диагностирована без смещения срединных структур мозга. В I группе в периоде Б у 96,74 % больных дислокационные изменения не выявили, у 3,26 % они составили 3-4 мм ($p < 0,001$). Во II группе больных, напротив, различия в распределении пациентов по степени смещения срединных структур между периодами не обнаружены ($\chi^2 = 0,51$; $p = 0,972$). Это связано с рецидивами гематом, появлением дислокационных нарушений мозга, которые количественно и качественно сходны с периодом А.

В I группе в периоде А отсутствие субарахноидальных щелей выявлено у 85,33 % больных, после операции этот признак отсутствовал ($\chi^2=273,1$; $p<0,001$). Во II группе в периоде Б число больных с отсутствием субарахноидальных щелей на фоне рецидивирования ХСГ увеличилось до 90,32 % ($p=0,572$), что свидетельствовало о структурных изменениях вещества головного мозга, ликвора и циркулирующей крови.

В I и II группе пациентов в периоде А количество больных с перифокальным отеком составило 95,11 % и 93,55 %, соответственно ($p=0,635$). При рецидивировании ХСГ во II группе перифокальный отек обнаруживали у 96,77 %, в то время как в I группе у больных без рецидивов этот признак отсутствовал ($p<0,001$).

Далее для выяснения характера и силы взаимного влияния результатов нейровизуализационных исследований ХСГ и величиной концентрации в крови пациентов HIF-1 α были определены корреляционные связи: между содержанием в крови HIF-1 α и признаком наличия или отсутствия перифокального отека ($p=0,731$), с признаком наличия или отсутствия субарахноидальных щелей ($p=0,694$), интервальными величинами смещения срединных структур мозга ($p=0,678$) и категориями рентгенологической плотности ХСГ ($p=0,573$). Во всех случаях коэффициенты ранговой корреляции демонстрировали высокую статистическую значимость по сравнению с нулевой гипотезой ($p<0,001$).

Прогрессирование гипоксии мозга являлось предиктором каскада патологических реакций в наружной мембране ХСГ, таких как неоангиогенез и воспаление, которые приводят к повторным кровотечениям и повышенной транссудации жидкости, ведущих к увеличению объема гематомы. С целью выявления патофизиологических изменений регуляторных молекулярных факторов, которые имеют отношение к развитию и прогрессированию ХСГ следующим этапом исследования явилось изучение полиморфных вариантов генов, участвующих в инициации васкулогенеза, воспаления и фибринолиза.

Исследование полиморфизма *rs2010963* гена *VEGFA*, ответственного за синтез фактора васкулогенеза, и его роли в развитии, прогрессировании и рецидивировании ХСГ показало отсутствие ассоциации генотипов с заболеванием ($\chi^2=5,80$; $p=0,055$) и, в тоже время, выявил статистически значимую связь заболевания с аллелями ($\chi^2=5,30$; $p=0,021$). Анализ различий частот аллелей G и C выявил повышение шансов развития ХСГ, связанного с минорной аллелью C (ОШ=1,62; 95 % ДИ 1,07-2,44) и сопряженную с ним потерю протективных свойств предковой аллели G (ОШ=0,62; 95 % ДИ 0,41-0,93). Таким образом, к генетическому риску развития ХСГ следует относить увеличение частоты аллели C, а также снижение частоты аллели G *rs2010963* гена *VEGFA*. При анализе пациентов I и II групп не обнаружено значимых различий в распределении частот генотипов и аллелей ($\chi^2=0,44$; $p=0,804$ и $\chi^2=0,415$; $p=0,519$), что указывало на отсутствие их влияния на развитие рецидивов ХСГ. Анализ влияния генотипов *rs2010963* гена *VEGFA* на

распределение показателей клинико-неврологического состояния у пациентов с ХСГ показал, что наличие *СС* генотипа, содержащего *С*-аллель сопровождалось развитием ХСГ в течение 31(24-37) суток и появлением рецидивов в течение 43 (28-45) суток, что в 1,77 и 1,74 раза происходило раньше, чем у лиц с генотипом *GG* ($p < 0,001$). Объемы гематом у пациентов с *С*-аллелью (162 (136-183) мл) более чем в 2 раза превышали объемы гематом у больных с *GG*-генотипом 66 (55-83) мл, также и при развитии рецидивов ($p < 0,001$). У пациентов с *С*-аллелью показатели неврологического дефицита, исследованного по шкале MGS и NOS-TBI, отличались более выраженными достоверными значениями в обеих группах. У носителей минорного *СС*-генотипа показатели МоСА-теста были существенно ниже, достигая 22 (20-24) баллов в I группе ($p = 0,021$) и 20 (19-21) баллов во II группе ($p = 0,029$) при развитии рецидивов. У больных I и II групп с *СС*-генотипом определяли более тяжелые варианты дислокационного синдрома: более чем у 75 % больных смещение срединной линии составляло от 5 до 22 мм ($p < 0,001$ и $p = 0,024$). Носители *СС*-генотипа имели более высокое содержание в крови маркеров HIF-1 α и S100B, чем носители предкового генотипа *GG* (в 1,35 и 1,3 раза в I группе $p < 0,001$; в 1,9 и 1,6 во II группе; $p < 0,001$).

Анализ распределения генотипов *rs1799768* гена *PAI-1* между больными с ХСГ I и II групп и лицами контрольной группы показал отсутствие значимой ассоциации с заболеванием ($\chi^2 = 1,35$; $p = 0,508$). Сравнительный анализ частот распределения аллелей *rs1799768* гена *PAI-1* в группе контроля и II группе позволил установить значимые различия ($\chi^2 = 4,55$; $p = 0,033$) с увеличением риска развития рецидивов в 1,72 раза (ОШ=1,72; 95 % ДИ 1,04-2,82) связанного с увеличением частоты аллели *5G*, которая сопряжена со снижением активности *PAI-1* и усилением фибринолитической активности.

У больных II группы по сравнению с I были отмечены достоверные различия с увеличением частоты предковой *5G*-аллели и уменьшением минорной *4G*-аллели ($\chi^2 = 4,10$; $p = 0,043$), подтверждающие влияние *5G*-аллельного полиморфизма на развитие рецидивов. Предковая *5G*-аллель повышала риск развития рецидивов ХСГ в 1,53 раза (ОШ=1,53; 95 % ДИ 1,01-2,30), а минорная *4G*-аллель его снижала (ОШ=0,65; 95 % ДИ 0,43-0,99).

Таким образом, генетическим фактором развития рецидивов ХСГ являлась *5G*-аллель *rs1799768* гена *PAI-1*, сопряженная с активацией реакции фибринолиза и повышенным риском кровотечения в полость гематомы.

Во II группе в периоде Б отмечено двукратное увеличение сроков развития ХСГ у носителей генотипа *5G5G* до 42(40-45) суток по сравнению с генотипом *4G4G* – 84(78-88) суток ($p < 0,001$), свидетельствуя об ускоренном формировании рецидива ХСГ, вероятнее всего связанное с гиперфибринолизом. У носителей *5G/5G* генотипа в I и II группах в периодах А и Б объем ХСГ в 2,5-3 раза был выше, чем у пациентов с *4G/4G* генотипом ($p < 0,001$).

Носительство 5G-аллели сопровождалось; увеличением показателей MGS и NOS-TBI с более выраженным неврологическим дефицитом ($p<0,05$), КН с увеличением количества пациентов с ДЛСВ в I и II группах ($p<0,05$). Не установлены значимые различия между результатами КТ-исследований в зависимости от генотипов *rs1799768* гена *PAI-1*, что указывало на генетическую однородность пациентов с различными КТ-типами ХСГ ($p>0,05$). Наличие 5G/5G генотипа в I группе выявлено у больных с максимальным смещением срединных структур мозга (7-22 мм) ($p<0,001$), во II группе при развитии рецидивов складывалась аналогичная ситуация ($p=0,024$). Носительство 5G/5G генотипа сопровождалось наличием перифокального отека ($p<0,05$; для всех наблюдений).

У пациентов с аллелью 5G (генотипы 4G/5G и 5G/5G), содержание белка S100B увеличивалось в среднем в 2 раза ($p<0,001$) и 1,4 раза ($p=0,01$) в I и во II группе в сравнении с генотипом 4G/4G, что указывало на влияние полиморфизма *rs1799768* гена *PAI-1* на повреждение астроглии нервной ткани при развитии ХСГ и ее рецидивов. Уровень HIF-1 α был выше в 1,5 раза при наличии в генотипе пациентов аллели 5G (генотипы 4G/5G и 5G/5G) по сравнению с минорной гомозиготой (4G/4G) ($p<0,05$). Увеличение продукции HIF-1 α являлось проявлением тканевой гипоксии головного мозга на фоне прогрессирования и повторного развития ХСГ (Nanko N. et al., 2009).

Распределение генотипов *rs1800795* гена *IL6* между больными с ХСГ обеих групп и лицами контрольной группы и их сравнительный анализ представлен в таблице 1.

Таблица – 1. Распределение пациентов по генотипам *rs1800795* гена *IL6*, частота генотипов, степень ассоциации с фактором различия между группами

Генотипы	Группы		χ^2	p	χ^2	p	ОШ	95 % ДИ
I+II Контроль								
GG	126 (0,512)	24 (0,369)	7,53	0,023	4,19	0,040	1,794	1,022 - 3,148
GC	102 (0,415)	30 (0,462)			0,46	0,497	0,826	0,477 - 1,432
CC	18 (0,073)	11 (0,169)			5,59	0,018	0,388	0,173 - 0,868
I Контроль								
GG	88 (0,478)	24 (0,369)	4,35	0,114	2,29	0,125	1,566	0,876 - 2,799
GC	80 (0,435)	30 (0,462)			0,139	0,709	0,897	0,508 - 1,584
CC	16 (0,087)	11 (0,169)			0,22	0,639	0,468	0,205 - 1,069
II Контроль								
GG	38 (0,613)	24 (0,369)	10,56	0,005	7,48	0,006	2,705	1,320 - 5,544
GC	22 (0,355)	30 (0,462)			1,48	0,223	0,642	0,315 - 1,309
CC	2 (0,032)	11 (0,169)			6,43	0,011	0,164	0,035 - 0,772
II I								
GG	38 (0,613)	88 (0,478)	4,25	0,119	3,35	0,067	1,727	0,960 - 3,107
GC	22 (0,355)	80 (0,435)			1,22	0,270	0,715	0,394 - 1,298
CC	2 (0,032)	16 (0,087)			2,04	0,153	0,350	0,078 - 1,567

Сравнительный анализ распределения частот генотипов *rs1800795* гена *IL6* между пациентами с ХСГ и контрольной группы показал наличие значимой ассоциации с заболеванием ($\chi^2=7,53$; $p=0,023$). Установлено, что

увеличение частоты встречаемости генотипа *GG* у больных с ХСГ ($\chi^2=4,19$; $p=0,04$) и уменьшение частоты генотипа *CC* ($\chi^2=5,59$; $p=0,018$) повышало шансы развития заболевания почти в 2 раза (ОШ=1,79; 95 % ДИ 1,02-3,15).

При сравнении частотных характеристик генотипов у лиц контрольной и II групп выявлены достоверные различий ($\chi^2=10,56$; $p=0,005$). Парные сравнения по генотипам выявили значимые различия в частотах генотипа *GG* ($\chi^2=7,48$; $p=0,006$) с увеличением шансов развития ХСГ при рецидивах в 2,7 раза (ОШ=2,70; 95 % ДИ 1,32-5,54), что было сопряжено с уменьшением частоты встречаемости у пациентов генотипа *CC* ($\chi^2=6,43$; $p=0,011$).

Анализ частот распределения аллелей *rs1800795* гена *IL6* установил наличие значимой связи с ХСГ и вариантами его развития (табл. 2) во всех исследованных группах: между контрольной группой и группой больных с ХСГ ($\chi^2=6,91$; $p=0,009$); между контрольной группой и больными I и II групп ($\chi^2=3,97$; $p=0,046$ и $\chi^2=10,76$; $p=0,001$, соответственно); между I и II группами больных ($\chi^2=4,11$; $p=0,043$).

Сравнение с контрольной группой установило, что шанс заболевания с рецидивирующим течением возрастал более чем в 2,5 раза (ОШ=2,51; 95 % ДИ 1,44-4,38) при увеличении частоты встречаемости аллели *G* и снижении частоты – аллели *C*. Увеличение частоты аллели *G* и снижение аллели *C* в I группе по сравнению с контролем приводило к увеличению риска развития ХСГ с безрецидивным вариантом течения в 1,52 раза (ОШ=1,52; 95 % ДИ 1,01-2,31), а также повышало риск рецидивирования в 1,65 раз (ОШ=1,65; 95 % ДИ 1,01-2,68) при сравнении I и II групп.

Таблица – 2. Распределение пациентов по аллелям *rs1800795* гена *IL6*, частоты аллелей, степень ассоциации с фактором различия между группами

Аллели	Группы		χ^2	p	ОШ	95 % ДИ
	I+II	Контроль				
<i>G</i>	354 (0,720)	78 (0,600)	6,91	0,009	1,710	1,144 - 2,557
<i>C</i>	138 (0,280)	52 (0,400)			0,585	0,391 - 0,874
	I	Контроль				
<i>G</i>	256 (0,696)	78 (0,600)	3,97	0,046	1,524	1,006 - 2,308
<i>C</i>	112 (0,304)	52 (0,400)			0,656	0,433 - 0,994
	II	Контроль				
<i>G</i>	98 (0,790)	78 (0,600)	10,76	0,001	2,513	1,440 - 4,385
<i>C</i>	26 (0,210)	52 (0,400)			0,398	0,228 - 0,695
	II	I				
<i>G</i>	98 (0,790)	256 (0,696)	4,11	0,043	1,649	1,014 - 2,681
<i>C</i>	26 (0,210)	112 (0,304)			0,606	0,373 - 0,986

Установленные ассоциации генотипа *GG* и аллели *G* с развитием и рецидивированием ХСГ указывали на патогенетическую роль провоспалительного цитокина *IL-6*, синтез которого регулируется геном *IL6*, участвующего в формировании реакций воспаления в гематоме, способствующих инициации, прогрессированию и рецидивированию заболевания.

При выяснении зависимости скорости развития ХСГ и ее рецидивов от генотипов *rs1800795* гена *IL6* установлено сокращение сроков формирования гематомы у больных с предковым генотипом *GG* по сравнению с минорным генотипом *CC* в 3,2 раза в I группе и в 1,93 раза в период развития рецидива во II группе со статистически достоверными значениями для всех наблюдений ($p < 0,05$). Максимальные объемы ХСГ определялись у лиц с генотипом *GG* с достоверностью для обеих групп ($p < 0,05$). В сравнении с генотипом *CC* у больных с генотипом *GG* объем гематомы был увеличен в I группе в периоде А в 2,22 раза, во II группе в периоде Б в 2,55 раза.

При оценке влияния генотипов *rs1800795* гена *IL6* на степень неврологических изменений, установленных с помощью шкалы MGS, выявлено значимое проявление нарушений у больных с генотипами (*GG* и *GC*), содержащими *G*-аллель в I группе в периоде Б ($p = 0,007$). С помощью шкалы NOS-TBI достоверные значения обнаружены у больных II группы в периодах А и Б, у которых при наличии генотипа *GG* регистрировали увеличение суммарной оценки до 4(2-4) и 4(5-3) баллов, что характеризовало более выраженные неврологические нарушения, чем у пациентов с генотипом *CC*, с оценкой при тестировании 2 (1-4) балла ($p = 0,031$).

Влияние генотипов *rs1800795* гена *IL6* установлено во II группе в периоде Б с достоверным снижением когнитивных функций до 21(20-22) балла у лиц с *GG*-генотипом, что соответствовало категории ДЛСВ ($p = 0,012$).

Больные I и II группы с выраженным смещением срединных структур мозга (от 5 до 22 мм) являлись носителями предкового генотипа *GG* *rs1800795* гена *IL6*, что было достоверно выше по сравнению с другими генотипами ($p < 0,05$). Во II группе у пациентов с генотипами (*GG* и *GC*), содержащими *G*-аллель, сопряженную с гиперэкспрессией провоспалительного цитокина *IL6*, обнаруживали в 100 % случаев развитие перифокального отека ($p < 0,001$).

Анализ содержания в крови больных с ХСГ маркеров S100B и HIF-1 α показал, что наибольшие их значения с увеличением в 1,2-1,6 раза статистически достоверно определялись у носителей *GG* генотипа в каждой группе наблюдения, что указывало на усиление повреждающего действия провоспалительного цитокина *IL6* на структурные элементы нервной ткани ($p < 0,05$). Установленные ассоциации генотипа *GG* *rs1800795* гена *IL6* с развитием и рецидивированием ХСГ указывали на патогенетическую роль провоспалительного цитокина *IL-6*, синтез которого регулируется геном *IL6*, участвующего в формировании реакций местного воспаления в ХСГ, способствующих инициации прогрессирования и рецидивирования заболевания.

Разработка математических моделей прогнозирования риска развития ХСГ и их рецидивов после хирургического лечения основывалась на результатах анализа Wald-статистики и интервальных характеристик β -коэффициентов, рассчитанных для каждого факторного признака в качестве

предикторов. Для разрабатываемой регрессионной модели были отобраны следующие переменные (по абсолютным значениям β -коэффициентов): генотип rs2010963 гена VEGFA |0,612|; генотип rs1800795 гена IL6 |-0,623| и «Возраст» |0,045|, отличие, которых от нулевой гипотезы было статистически значимым ($p < 0,001$). Расчет удельного веса эффективных предикторов по степени их влияния на зависимую переменную позволил расположить их в ряд по убыванию следующим образом: rs1800795 > rs2010963 > Возраст; наибольшее влияние оказывал генотип «IL6» (50,76 %), далее – генотип «VEGFA» (48,98 %) и наименьшее – «Возраст» (0,26 %). При этом значение результирующей переменной регрессии было выше у пациентов при наличии в их генотипах аллелей риска: для rs2010963 гена VEGFA аллели С и для rs1800795 гена IL6 аллели G, а также с увеличением возраста больных. Создана регрессионная математическая модель прогноза развития ХСГ с общей точностью 76,8 %.

По значимости предикторов для прогноза вероятности развития рецидивов ХСГ после хирургического лечения (по абсолютным значениям β -коэффициентов) показатели распределились следующим образом: генотипы rs1799768 гена PAI-1 и rs1800795 гена IL6, значения для «Возраста» и «Периода времени от ЧМТ до операции», отличие, которых от нулевой гипотезы было статистически достоверно ($p < 0,05$). Предикторы располагались по убыванию следующим образом: наибольшее влияние оказывал генотип «IL6» |-0,869| (54,19 %), далее – генотип «PAI-1» |0,789| (44,67 %), «Возраст» |0,125| (1,12 %) и наименьшее – «Период времени от ЧМТ до операции» |-0,016| (0,02 %). Создана регрессионная математическая модель прогноза развития рецидивов ХСГ с точностью прогнозирования 79,7 %.

На основании проведенных клинико-неврологических, биохимических, молекулярно-генетических и статистических исследований определены новые этиологические и патогенетические факторы ХСГ. Разработка математических моделей установила с позиций доказательной медицины наличие связи исследованных маркеров с развитием ХСГ, что является основой математического прогнозирования развития ХСГ и их рецидивов после хирургического лечения.

ВЫВОДЫ

В диссертационной работе изложено новое решение актуального научно-практического задания современной неврологии – на основании сопоставления результатов клинико-неврологических и лабораторных исследований с полиморфизмами генов VEGFA, IL6 и PAI-1 у пациентов с ХСГ определена роль аллельных вариантов изученных генов в развитии и рецидивировании ХСГ и разработаны математические модели прогнозирования заболевания.

1. Изучение особенностей нейропсихологических, клинико-неврологических параметров у больных с ХСГ показало, что МоСА-тест при

первичном осмотре составил 23(21-24) балла, после лечения – 25(24-26) баллов ($p<0,001$), при рецидивировании – 22(20-22) балла ($p=0,001$). Неврологический дефицит по шкале MGS оценивали в 2(1-2) балла до операции, после операции – 0(0-1) баллов, при развитии рецидивов – 2(2-2) балла ($p<0,001$), по шкале NOS-TBI 3(2-4) балла до операции, после операции – 0(0-2) баллов ($p<0,001$), при рецидивировании – 4(3-5) балла ($p<0,001$).

2. При нейровизуализационном исследовании больных с ХСГ диагностированы гипо-, изо-, гетеро- и гиперденсивные гематомы. Наиболее часто обнаруживали гиподенсивные гематомы: у 86,41 % пациентов до лечения и у 82,26 % ($p<0,001$) больных при развитии рецидивов. Смещение срединных структур мозга до операции у 47,83 % составило 3-4 мм, у 16,85 % – 5-6 мм, у 11,96 % – 7-9 мм, у 10,33 % – от 10 до 22 мм. После операции у 96,74 % больных дислокационные изменения не выявлялись, у 3,26 % составляли 3-4 мм ($p<0,001$). При рецидивировании ХСГ смещение срединных структур мозга 3-4 мм определяли у 41,94 % человек, 5-6 мм – у 22,58 %, 7-9 мм – 14,52 %, от 10 до 22 мм – у 11,29 % больных ($p<0,001$).

3. Распределение аллелей *rs2010963* гена *VEGFA* ассоциировано с развитием ХСГ ($\chi^2=5,30$; $p=0,021$), наличие в генотипе минорной аллели *C* в 1,62 раза увеличивало шансы развития заболевания (ОШ=1,62; 95 %; ДИ 1,07-2,44).

4. Распределение аллелей *rs1800795* гена *IL6* ассоциировано с развитием ХСГ ($\chi^2=6,91$; $p=0,009$), наличие в генотипе аллели *G* в 1,7 раза увеличивает шансы развития заболевания (ОШ=1,71; 95 %, ДИ 1,14 - 2,56). Риск развития рецидивов ХСГ возрастал в 2,5 раза (ОШ=2,51; 95 % ДИ, 1,44-4,38) при увеличении частоты встречаемости аллели *G*.

5. Сравнение частот аллелей *rs1799768* гена *PAI-1* между контролем и группой с рецидивами ХСГ установило значимые различия ($\chi^2=4,55$; $p=0,033$) с увеличением риска развития рецидивов в 1,72 раза (ОШ=1,72; 95 % ДИ 1,04-2,82). Сопоставление частот аллелей *rs1799768* между группами с рецидивами и без рецидивов показало достоверное увеличение частоты 5G-аллели ($\chi^2=4,10$; $p=0,043$) и увеличением риска развития рецидивов ХСГ в 1,53 раза (ОШ=1,53; 95 % ДИ 1,01-2,30).

6. Выявлено достоверное влияние генетических факторов на фенотипические проявления прогрессирования и рецидивирования ХСГ. Риск высокой клинической активности развития ХСГ, проявляющейся ускоренным формированием ХСГ, развитием рецидивов с увеличением объемов гематом, прогрессированием неврологического дефицита, дислокационного синдрома, увеличенной продукцией HIF-1 α и S100B достоверно возрастает у носителей аллели *C* *rs2010963* гена *VEGFA*, аллели *G* *rs1800795* гена *IL6* и аллели 5G *rs1799768* гена *PAI-1*.

7. Разработаны математические модели прогнозирования риска развития и рецидивирования ХСГ, которые включают в качестве предикторов данные генотипирования и клинического обследования

пациентов. Модели логистической регрессии позволяют прогнозировать развитие ХСГ ($AUC=0,792\pm0,038$, при 95 % ДИ 0,692-0,814) с общей точностью 76,8 % (ОШ 7,34 95 % ДИ=4,04-13,34; $p<0,001$) и прогнозировать риск рецидивирования ХСГ ($AUC=0,811\pm0,035$, при 95 % ДИ 0,769-0,868) с общей точностью 79,7 % (ОШ=12,85; 95 % ДИ=6,81-24,24; $p<0,001$).

Практические рекомендации

1. Полученные клинические данные могут быть использованы как на этапе лечения в стационаре, так и в условиях поликлиники с целью совершенствования организации специализированной помощи пациентам с хроническими субдуральными гематомами.

2. Использование выявленных ассоциаций полиморфных вариантов *rs2010963* гена *VEGFA*, *rs1800795* гена *IL6* и *rs1799768* гена *PAI-1* с клиническими проявлениями ХСГ в качестве предикторов развития заболевания и рецидивов направлено на персонифицированный подход к лечению. Пациентам с 5G-аллелью *rs1799768* гена *PAI-1*, G-аллелью *rs1800795* гена *IL6* необходимо рекомендовать тщательное наблюдение, поскольку они имеют высокий риск развития рецидивов ХСГ.

3. Применение шкалы NOS-TBI с высоким уровнем диагностической значимости (точность 91,46%; ОШ=88,79; 95% ДИ 34,95–225,57) позволяет эффективно оценивать неврологические нарушения при развитии и рецидивировании ХСГ.

4. Определение критических концентраций в крови пациентов маркеров HIF1 α и S100B позволит прогнозировать развитие рецидивов ХСГ: при содержании HIF-1 α более 460,97 пг/мл с точностью прогноза 97,15 % (ОШ=1074,0; 95 % ДИ 203,0-5680,9), при концентрации S100B более 100,65 нг/мл с точностью прогноза 77,64 % (ОШ=10,2; 95 % ДИ 5,2-19,7).

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в рецензируемых журналах ВАК Минобрнауки ДНР, ЛНР, РИНЦ РФ

1. Кардаш, А.М. Клинический анализ лечения больных с посттравматическими хроническими субдуральными гематомами [Текст] / А.М. Кардаш, В.П. Кардаш, С.Я. Коровка // Университетская клиника. – 2020. – № 4 (37). – С.14-19. *Диссертантом проведены клинические исследования, сформирована база данных, проведена математическая обработка результатов, оформлены научные данные в виде статьи.*

2. Влияние полиморфизма *rs2010963* гена васкуло-эндотелиального фактора роста на развитие хронических субдуральных гематом [Текст] / А.М. Кардаш, В.П. Кардаш, С.Я. Коровка и др. // Проблемы экологической и медицинской генетики и клинической иммунологии. – 2020. – №5 (161). – С.9-15. *Диссертант принимала участие в проведении лабораторных исследований, анализе и обобщении результатов, оформлении и подготовки статьи к публикации.*

3. Кардаш, А.М. Оценка неврологического статуса больных с рецидивным и безрецидивным течением посттравматических хронических субдуральных гематом [Текст] / А.М. Кардаш, В.П. Кардаш, С.Я. Коровка // Университетская клиника. – 2021. – № 1 (38). – С.11-16. *Диссертант провела анализ неврологического состояния пациентов и подготовила статью к публикации.*

4. Кардаш, А.М. Анализ когнитивных и тревожно-депрессивных нарушений у больных с посттравматическими хроническими субдуральными гематомами [Текст] / А.М. Кардаш, В.П. Кардаш, С.Я. Коровка // Вестник неотложной и восстановительной хирургии. – 2020. – Т. 5, № 4. – С.63-69. *Диссертант провела анализ нейропсихологического состояния пациентов и подготовила статью к публикации.*

5. Кардаш, А.М. Взаимосвязь результатов нейровизуализационных исследований и индуцируемого гипоксией фактора-1 альфа у больных с хроническими субдуральными гематомами [Текст] / А.М. Кардаш, В.П. Кардаш, С.Я. Коровка // Вестник неотложной и восстановительной хирургии. – 2021. – Т.6, №1. – С.84-92. *Диссертант провела анализ нейровизуализационных исследований, принимала участие в проведении лабораторных исследований и подготовила статью к публикации.*

6. Исследование связи полиморфизма rs1800795 гена IL6 с риском развития хронических субдуральных гематом [Текст] / А.М. Кардаш, В.П. Кардаш, С.Я. Коровка и др. // Вестник неотложной и восстановительной хирургии. – 2021. – Т.6, №2. – С.84-90. *Диссертант принимала участие в проведении лабораторных исследований и подготовила научные данные к публикации, оформила результаты в виде статьи.*

7. Роль генетического полиморфизма rs1799768 гена PAI-1 в развитии хронических субдуральных гематом [Текст] / А.М. Кардаш, В.П. Кардаш, С.Я. Коровка и др. // Университетская клиника. – 2021. – № 2 (39). – С.58-63. *Диссертант принимала участие в проведении лабораторных исследований и подготовила статью к публикации.*

Тезисы в сборниках и материалах конференций, конгрессов, форумов

8. Кардаш, А.М. Характеристика когнитивных нарушений у больных с посттравматическими хроническими субдуральными гематомами [Текст] / А.М. Кардаш, В.П. Кардаш, С.Я. Коровка // Университетская клиника. – 2021. – Приложение (Наука побеждать... болезнь: материалы IV Международного медицинского форума Донбасса, 12-13 ноября 2020 г.). – С. 222-223.

9. Генетические полиморфизмы rs2010963 гена VEGFA и rs1799768 гена PAI-1 у больных с хроническими субдуральными гематомами [Текст] / В.П. Кардаш, А.М. Кардаш, С.Я. Коровка и др. // Тезисы IV Инновационного Петербургского медицинского форума, 27-29 мая 2021 г. / Трансляционная медицина, приложение 1. – 2021. – С.16.

10. Влияние полиморфизма rs2010963 гена VEGFA на показатели неврологического статуса у больных с хроническими субдуральными гематомами [Текст] / А.М. Кардаш, В.П. Кардаш, С.Я. Коровка и др. //

Университетская клиника. – 2021. – Приложение (Наука побеждать... болезнь: материалы V Международного медицинского форума Донбасса, 11-12 ноября 2021 г.). – С.224-225.

11. Кардаш, В.П. Роль полиморфизма rs2010963 гена васкуло-эндотелиального фактора роста в развитии хронических субдуральных гематом [Текст] / В.П. Кардаш, С.Я. Коровка // Трансляционная медицина: от теории к практике: сборник научных трудов 9-й Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов, молодых ученых и специалистов. 22 апреля 2021 года / СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2021. – С.96-100.

12. Влияние полиморфизма rs2010963 гена *VEGFA* на развитие когнитивных нарушений у больных с хроническими субдуральными гематомами [Текст] / А.М. Кардаш, В.П. Кардаш, С.Я. Коровка, Р.Н. Власова // Материалы VI Международной научной конференции «Донецкие чтения 2021: образование, наука, инновации, культура и вызовы современности», 26–27 октября 2021г., Т.3. – С.254-256.

13. Кардаш, В.П. Роль полиморфизма rs1799768 гена ингибитора активатора плазминогена-1 в развитии хронических субдуральных гематом [Текст] / В.П. Кардаш, С.Я. Коровка // Материалы VII Международной научно-практической конференции «Биотехнология: взгляд в будущее», Ставрополь, 2021 г., Ч.2.– С.103-105.

АННОТАЦИЯ

В.П. Кардаш. Роль молекулярно-генетических факторов в развитии хронических субдуральных гематом. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.11 – нервные болезни. – Государственная образовательная организация высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького» Министерства здравоохранения ДНР, Донецк, 2022.

Диссертационная работа посвящена решению актуальной научной задачи в области неврологии – изучению роли полиморфизмов rs2010963 гена *VEGFA*, rs1800795 гена *IL6* и rs1799768 гена *PAI-1* в развитии хронических субдуральных гематом.

Проведено обследование 246 пациентов с ХСГ, которые были разделены на 2 группы: I группа – 184 пациента с ХСГ с безрецидивным течением, II группа – 62 пациента с развитием рецидивов ХСГ после оперативного лечения и 65 человек контрольной группы, перенесших ЧМТ в легкой форме без развития ХСГ.

Исследование rs2010963 гена *VEGFA* установило значимую связь развития ХСГ с С-аллельным полиморфизмом ($\chi^2=5,30$; $p=0,021$). Анализ частот распределения аллелей rs1799768 гена *PAI-1* в группе контроля и II группе позволил установить значимые различия ($\chi^2=4,55$; $p=0,033$) с увеличением риска развития рецидивов в 1,72 раза (ОШ=1,72; 95 % ДИ 1,04-

2,82), различия между II и I группой показали увеличение частоты предковой 5G-аллели и уменьшение минорной 4G-аллели ($\chi^2=4,10$; $p=0,043$), что было сопряжено со снижением активности *PAI-1*, усилением фибринолитической активности и повышенным риском кровотечения в полость гематомы. Анализ частот распределения аллелей *rs1800795* гена *IL6* установил наличие значимой связи между контрольной группой и группой больных с ХСГ ($\chi^2=6,91$; $p=0,009$); между контрольной группой и больными I и II групп ($\chi^2=3,97$; $p=0,046$ и $\chi^2=10,76$; $p=0,001$, соответственно); между I и II группами больных ($\chi^2=4,11$; $p=0,043$). Носительство C-аллели *rs2010963* гена *VEGFA* в сравнении с аллелью G, 5G-аллели *rs1799768* гена *PAI-1* в сравнении с аллелью 4G и G-аллели *rs1800795* гена *IL6* в сравнении с аллелью C у пациентов с ХСГ сопровождалось двукратным увеличением объемов гематом ($p<0,001$), значительными неврологическими нарушениями по шкале MGS и NOS-TBI ($p<0,05$), угнетением когнитивных функций по шкале MoCA ($p<0,05$), выраженными признаками дислокационного синдрома ($p<0,001$), увеличенной продукцией HIF-1 α и S100B в 1,6 и 1,9 раза ($p<0,05$). Наличие в генотипе аллелей риска увеличивало шансы развития и прогрессирования ХСГ, способствовало развитию рецидивов.

Ключевые слова: хроническая субдуральная гематома, полиморфизм гена, *rs2010963 VEGFA*, *rs1800795 IL6*, *rs1799768 PAI-1*.

ABSTRACT

V.P.Kardash. The role of molecular genetic factors in the development of chronic subdural hematomas. – Manuscript.

Thesis for degree of candidate of medical sciences in specialty 14.01.11 – neurology. – State educational organization of higher professional education «M. Gorky Donetsk National Medical University» of the Ministry of Public Health of Donetsk People Republic, Donetsk. 2022.

The dissertation is dedicated to the solution of actual scientific problem in the sphere of neurology, namely, to research the role of *VEGFA* gene *rs2010963* polymorphism, *IL6* gene *rs1800795*, *PAI-1* gene *rs1799768* in the development of chronic subdural hematomas.

There were examined 246 patients with CSH, who were divided into two groups: I group – 184 patients with recurrence-free CSH progress, II group – 62 patients with recurrence of CSH after operative therapy and 65 individuals of control group who carried mild form of a traumatic brain injury without development of the CSH.

Study of *VEGFA* gene *rs2010963* identified significant connection of development of CSH with C-allele polymorphism ($\chi^2=5.30$; $p=0.021$). Analysis of the frequency of allele *rs1799768 PAI-1* gene distribution in control group and in II group allowed to identify significant differences ($\chi^2=4.55$; $p=0.033$) with the increased risk of relapse in 1.72 times (OR = 1.72; 95%CI 1.04-2.82), differences between II and I groups demonstrated increase of frequencies of ancestral 5G-allele and decrease of minor 4G allele ($\chi^2=4.10$; $p=0.043$) which was connected

with decreased activity of *PAI-1*, increase in fibrinolytic activity and increased risk of hemorrhage into the hematoma cavity. Analysis of frequency distribution of alleles *rs1800795 IL6* gene identified significant connection between control group and group of patients with CSH ($\chi^2=6.91$; $p=0.009$); between control group and patients of I and II groups ($\chi^2=3.97$; $p=0.046$ and $\chi^2=10.76$; $p=0.001$, respectively); between I and II groups of patients ($\chi^2=4.11$; $p=0.043$). The carriage of C-allele *rs2010963 VEGFA* gene compared to G-allele, 5G-allele *rs1799768 PAI-1* gene compared to 4G-allele and G-allele *rs1800795 IL6* gene compared to C allele in patients with CSH was accompanied by a twofold increase in hematoma volumes ($p<0.001$), significant neurological disturbances under the MGS and NOS-TBI scale ($p<0.05$), depression of cognitive functions under the MoCA scale ($p<0.05$), prominent features of dislocation syndrome ($p<0.001$), increased production of HIF-1 α and S100B in 1.6 and 1.9 times ($p<0.05$). The presence of risk alleles in the genotype increased the chances of development and progression of CSH, contributed to the development of recurrence.

Key words: chronic subdural hematoma, gene polymorphism, *rs2010963 VEGFA*, *rs1800795 IL6*, *rs1799768 PAI-1*.

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ДИ – доверительный интервал

ОШ – отношение шансов

ХСГ – хроническая субдуральная гематома

ЧМТ – черепно-мозговая травма

IL6 – ген интерлейкина 6

HADS – госпитальная шкала оценки тревоги и депрессии

HIF-1 α – фактор индуцированный гипоксией 1 α

MGS – шкала Маркуолдера

MoCA – Монреальская шкала оценки когнитивных функций

NOS-TBI – шкала неврологических исходов черепно-мозговой травмы

PAI-1 – ген ингибитора активатора плазминогена

VEGFA – ген васкулоэндотелиального фактора роста А