

ИССЛЕДОВАНИЯ И КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЙ ФАКТОР МОЗГА, ГЛУТАМАТ И МАРКЕРЫ АПОПТОЗА В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ НАРУШЕНИЕМ СОЗНАНИЯ

Дрягина Н.В.¹, Кондратьева Е.А.^{1,2,3}, Денисова А.А.⁴, Кондратьев С.А.¹, Кондратьев А.Н.¹

¹Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт имени профессора А.Л. Поленова, филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

²«Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

³Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии, Москва, Россия

⁴ФГБОУ ВО «Государственный университет морского и речного флота им. адмирала С.О. Макарова», Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Цель работы — провести анализ содержания факторов, обладающих нейропротекторным, нейротоксическим и апоптотическим действием, в крови пациентов с хроническим нарушением сознания (ХНС) в зависимости от уровня нарушения сознания и нейропротекторной терапии.

Материал и методы. В исследование включено 53 пациента с ХНС, которые были разделены на 2 группы. В 1-ю группу отнесены 19 пациентов с вегетативным состоянием/синдромом ареактивного бодрствования (ВС/САБ), во 2-ю группу — 34 пациента с состоянием минимального сознания (СМС) «минус» и «плюс» (СМС «минус» и СМС «плюс»). Причинами нарушения сознания являлись тяжелая черепно-мозговая травма (ЧМТ), гипоксия, острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) по ишемическому или геморрагическому типу, менингоэнцефалит. При поступлении пациентов и в конце лечения (в среднем через 1 мес.) исследовали в плазме крови концентрацию нейротрофического фактора мозга (НФМ), антигена рецептора апоптоза (АРА-1), лиганда рецептора апоптоза (ЛРА) и глутамата. Группу сравнения составили 16 пациентов без нарушения сознания, оперированных по поводу ортопедической патологии, в этой группе определение параметров проводили однократно.

Результаты. У больных с ХНС выявлено снижение уровня НФМ в сыворотке крови, которое было более выражено при нетравматическом генезе поражения мозга, чем при травматическом. Уровень НФМ достоверно повышался через 1 мес. на фоне нейропротекторной терапии. Уровень глутамата был выше у пациентов 1-й группы (ВС/САБ). Исследуемые группы больных не имели достоверных различий по содержанию факторов апоптоза.

Заключение. У больных с ХНС выявлено снижение в крови уровня НФМ, менее выраженное при травматическом генезе поражения мозга. У пациентов, соответствующих при поступлении критериям СМС, в процессе лечения происходило достоверное повышение сывороточного уровня НФМ, что могло свидетельствовать о том, что больные с более высоким исходным уровнем сознания обладают лучшим потенциалом для реализации эффекта нейропротекторной терапии. Содержание факторов апоптоза не зависело от уровня сознания.

Ключевые слова: хроническое нарушение сознания, вегетативное состояние, синдром ареактивного бодрствования, состояние минимального сознания, нейротрофический фактор мозга, факторы апоптоза, глутамат, нейропротекторная терапия

Для цитирования: Дрягина Н.В., Кондратьева Е.А., Денисова А.А., Кондратьев С.А., Кондратьев А.Н. Нейротрофический фактор мозга, глутамат и маркеры апоптоза в крови пациентов с хроническим нарушением сознания. *Российский неврологический журнал*. 2022;27(6):13–21. DOI 10.30629/2658-7947-2022-27-6-13-21

Для корреспонденции: Дрягина Наталья Владимировна, e-mail: nvdryagina@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-29-01066.

Информация об авторах

Дрягина Н.В., <https://orcid.org/0000-0001-8595-6666>; e-mail: nvdryagina@mail.ru

Кондратьева Е.А., <https://orcid.org/0000-0001-6362-6543>; e-mail: eak2003@mail.ru

Денисова А.А., <https://orcid.org/0000-0003-1758-9360>; e-mail: a.denisova75@yandex.ru

Кондратьев С.А., <https://orcid.org/0000-0001-5028-5938>; e-mail: 3773717@mail.ru

Кондратьев А.Н., <https://orcid.org/0000-0002-7648-2208>; e-mail: eak2003@mail.ru

BRAIN-DERIVED NEUTROPHIC FACTOR, GLUTAMATE AND MARKERS OF APOPTOSIS IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH PROLONGED DISORDERS OF CONSCIOUSNESS

Dryagina N.V.¹, Kondratyeva E.A.^{1,2,3}, Denisova A.A.⁴, Kondratyev S.A.¹, Kondratyev A.N.¹

¹Russian Neurosurgical Research Institute n.a. A.L. Polenov at Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

²Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia

³Federal Scientific and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, Moscow, Russia

⁴The Admiral Makarov State University of Maritime and Inland Shipping, Saint Petersburg, Russia

Abstract

Aim of the work was to analyze the content of factors with neuroprotective, neurotoxic and apoptotic effects in the blood of patients with prolonged disorders of consciousness (pDOC), depending on the level of consciousness disorder and neuroprotective therapy.

Material and methods. Research included 53 patients with pDOC, who were divided into 2 groups. Group 1 included 19 vegetative state/unresponsive wakefulness syndrome (VS/UWS) patients, group 2—34 minimally conscious state (MCS “minus” and “plus”) patients. Firstly at admission and then at the end of treatment course (after 1 month on average), plasma concentrations of brain neurotrophic factor (BDNF), apoptosis antigen (APO-1), apoptosis-inducing ligand (Fas-L) and glutamate were studied. Control group consisted of 16 patients without measured once.

Results. Decrease of BDNF serum level was revealed in patients with pDOC, which was less pronounced those who had TBI as a etiological factor of pDOC. BDNF level significantly increased after a month against the background of neuroprotective therapy. Glutamate level was higher in the first group (VS/UWS). No significant difference in the content of apoptosis factors was observed.

Conclusion. In patients with pDOC, decrease serum BDNF level was observed, less pronounced in TBI as etiology of pDOC. In patients who matched MCS criteria at the admission, there was a significant increase of BDNF serum level during treatment course, which could indicate that patients with a higher initial level of consciousness have better potential for realizing the effect of neuroprotective therapy. Levels of apoptosis factors did not correspond to the consciousness level.

Key words: prolonged disorders of consciousness, vegetative state/unresponsive wakefulness syndrome, minimally conscious state, brain-derived neutrophic factor, markers of apoptosis, glutamate, neuroprotective therapy

For citation: Dryagina N.V., Kondratyeva E.A., Denisova A.A., Kondratyev S.A., Kondratyev A.N. Brain-derived neutrophic factor, glutamate and markers of apoptosis in the blood of patients with prolonged disorders of consciousness. *Russian Neurological Journal (Rossijskij Nevrologicheskij Zhurnal)*. 2022;27(6):13–21. (In Russian). DOI 10.30629/2658-7947-2022-27-6-13-21

For correspondence: Dryagina N.V., e-mail: nvdryagina@mail.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements. The study was financially supported by the Russian Foundation for Basic Research under research project № 19-29-01066.

Information about authors

Dryagina N.V., <https://orcid.org/0000-0001-8595-6666>; e-mail: nvdryagina@mail.ru

Kondratyeva E.A., <https://orcid.org/0000-0001-6362-6543>; e-mail: eak2003@mail.ru

Denisova A.A., <https://orcid.org/0000-0003-1758-9360>; e-mail: a.denisova75@yandex.ru

Kondratyev S.A., <https://orcid.org/0000-0001-5028-5938>; e-mail: 3773717@mail.ru

Kondratyev A.N., <https://orcid.org/0000-0002-7648-2208>; e-mail: eak2003@mail.ru

Received 09.09.2022

Accepted 11.10.2022

Сокращения: АРА-1 — антиген рецептора апоптоза (англ. apoptosis antigen-1, АРО-1); ВС/САБ — вегетативное состояние/синдром ареактивного бодрствования; ЛРА — лиганд рецептора апоптоза (англ. Fas ligand, Fas-L); НФМ — нейротрофический фактор мозга (англ. brain-derived neutrophic factor, BDNF); ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения; СМС — состояние минимального сознания; ХНС — хроническое нарушение сознания; ЦНС — центральная нервная система; ЧМТ — черепно-мозговая травма; ШВПК — шкала восстановления после комы (англ. Coma Recovery Scale Revised).

Введение. Совершенствование методов интенсивной терапии пациентов с тяжелым повреждением мозга привело не только к снижению смертности, но и к увеличению числа больных, у которых период комы завершается переходом в одну из форм хронического нарушения сознания (ХНС) — вегетативное состояние/синдром ареактивного бодрствования (ВС/САБ) или состояние минимального сознания (СМС). Если при ВС/САБ на фоне бодрствования отсутствуют признаки осознания себя и окружающего, то при СМС возможна фиксация взгляда и слежение за предметами (СМС «минус»), а также выполнение простых заданий и ответы на вопрос «да»–«нет» вербально или невербально (СМС «плюс») [1]. Помощь

Таблица 1

Клинико-демографическая характеристика пациентов

Группы	Возраст, годы	Мужчины/женщины, %	Продолжительность ХНС, месяцы	Индекс ШВПК при поступлении
1-я группа, ВС/САБ ($n = 19$)	$39,1 \pm 7,5$	52,7/47,3	$11,3 \pm 12,0$	$3,3 \pm 0,8$
2-я группа, СМС ($n = 34$)	$34,3 \pm 4,0$	47,1/52,9	$4,9 \pm 1,9$	$40,1 \pm 9,5$
Группа сравнения ($n = 16$)	$45,8 \pm 6,2$	43,7/56,3	—	—

Примечание: ВС/САБ — вегетативное состояние/синдром ареактивного бодрствования; СМС — состояние минимального сознания; ШВПК — шкала восстановления после комы.

Table 1

Clinical and demographic characteristics of patients

Groups	Age, years	Male/female, %	Duration of pDOC, months	CRS-R index at admission
1st group VS/UWS ($n = 19$)	39.1 ± 7.5	52.7/47.3	11.3 ± 12.0	3.3 ± 0.8
2nd group MCS ($n = 34$)	34.3 ± 4.0	47.1/52.9	4.9 ± 1.9	40.1 ± 9.5
Control group ($n = 16$)	45.8 ± 6.2	43.7/56.3	—	—

Note: pDOC — prolonged disorders of consciousness; VS/UWS — vegetative state/unresponsive wakefulness syndrome; MCS — minimally conscious state.

в восстановлении сознания у таких пациентов является одной из важнейших задач современной реабилитологии. После повреждения различного генеза, даже при относительно сохранных анатомических структурах мозга, может сформироваться «устойчивая патологическая доминанта», результатом чего является отсутствие сознания при наличии потенциальной возможности его восстановления. Иными словами, в ряде случаев нарушение сознания имеет больше функциональную, чем морфологическую, основу, и выявление механизмов, вовлеченных в поддержание этой патологической системы, может стать основой патогенетической терапии больных с ХНС [2]. Вторичные изменения после повреждения мозга связаны в том числе с развитием апоптотических процессов, которые приводят к диффузной атрофии мозга, что также осложняет течение процессов саноногенеза и уменьшает возможность восстановления сознания [3].

Нарушения метаболических реакций, лежащих в основе как физиологических процессов, так и психических функций, сопровождаются изменением концентраций в крови метаболитов ЦНС. Изучение динамики даже отдельных маркеров, отражающих изменения мозгового метаболизма во время лечения и реабилитации пациентов с ХНС, позволяет сформировать более глубокое понимание процессов восстановления функциональных связей после тяжелого повреждения головного мозга [4]. Оценка содержания в крови факторов, обладающих нейропротекторным, нейротоксическим или апоптотическим действием, у больных с ХНС может иметь не только прогностическое значение, но и обозначить новые ориентиры для нейропротекции.

Цель работы — провести анализ содержания в крови пациентов с ХНС факторов, обладающих нейропротекторным, нейротоксическим и апоптотическим действием в зависимости от уровня нарушения сознания (ВС/САБ или СМС) и проводимой нейропротекторной терапии.

Материал и методы. В исследование включено 53 пациента с ХНС, проходивших лечение

в РНХИ им. проф. А.Л. Поленова (филиал НМИЦ им. В.А. Алмазова) в период с 2019 по 2021 г. **Критерии включения:** возраст старше 18 лет, тяжелое повреждение головного мозга травматического или нетравматического генеза с исходом в ХНС, продолжительность нарушения сознания от 2 мес. до 2 лет. **Критерии исключения:** сепсис, декомпенсация соматических заболеваний.

При неврологическом осмотре пациентов использовали шкалу восстановления после комы (ШВПК) (Coma Recovery Scale Revised) до постановки окончательного диагноза (ВС/САБ, СМС «минус» или СМС «плюс») не менее 5 раз в течение первой недели наблюдения, для распределения пациентов по группам выбирали лучший результат. Совместно с исследователями Льежского университета из научной группы по изучению комы (Coma Science Group) для преодоления неточности в оценке уровня сознания и разграничения ВС/САБ и СМС проводили расчет индекса ШВПК [5]. Значения индекса ШВПК 8,3 и ниже соответствовали критериям диагноза ВС/САБ, а показатели от 8,4 и выше — СМС. Пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от уровня сознания: 1-я группа — 19 пациентов в ВС/САБ (индекс ШВПК при поступлении $\leq 8,33$), 2-я группа — 34 пациента (индекс ШВПК при поступлении $> 8,4$). Группу сравнения составили 16 пациентов без нарушения сознания, оперированных по поводу ортопедической патологии. Клинико-демографическая характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Группы пациентов были сопоставимы по полу, в группе сравнения пациенты были старше, чем во 2-й группе ($p = 0,005$). Этиологическим фактором повреждения головного мозга в 26 (48,1%) случаях явилась тяжелая черепно-мозговая травма (ЧМТ), в 12 (22,2%) — гипоксия, в 15 (27,7%) — другие причины нетравматического поражения — острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) по ишемическому или геморрагическому типу, менингоэнцефалит.

Пациенты с ХНС получали комбинированную нейропротекторную терапию, включавшую холина

Таблица 2

Концентрация исследуемых маркеров в крови пациентов с хроническим нарушением сознания и группы сравнения

Параметр	1-я группа, ВС/САБ (n = 19)	2-я группа, СМС (n = 34)	Все пациенты с ХНС (n = 53)	Группа сравнения (n = 16)
АРА-1, пг/мл	1309,8 ± 534,9	1061,3 ± 162,9	1151,8 ± 217,6	1239,3 ± 244,7
ЛРА, нг/мл	0,207 ± 0,072	0,209 ± 0,096	0,205 ± 0,034	0,220 ± 0,032
НФМ, пг/мл	18 814 ± 3438	19 346 ± 3329	19 248 ± 2446	23 618 ± 3566
Глутамат, мкмоль/л	41,4 ± 6,7*	27,4 ± 4,2	32,7 ± 3,9**	23,4 ± 4,2

Примечание: АРА-1 — антиген рецептора апоптоза; ЛРА — лиганд рецептора апоптоза; НФМ — нейротрофический фактор мозга; ВС/САБ — вегетативное состояние/синдром ареактивного бодрствования; СМС — состояние минимального сознания; ХНС — хроническое нарушение сознания; * — $p < 0,05$ при сравнении с группой 2; ** — $p < 0,05$ при сравнении с группой сравнения.

Table 2

Concentration of the studied markers in the blood of patients with pDOC and comparison group

Values	Group 1, VS/UWS (n = 19)	Group 2, MCS (n = 34)	All patients with pDOC (n = 53)	Comparison group (n = 16)
APO-1, pg/ml	1309.8 ± 534.9	1061.3 ± 162.9	1151.8 ± 217.6	1239.3 ± 244.7
Fas-L, ng/ml	0.207 ± 0.072	0.209 ± 0.096	0.205 ± 0.034	0.220 ± 0.032
BDNF, pg/ml	18,814 ± 3438	19,346 ± 3329	19,248 ± 2446	23,618 ± 3566
Glutamate, μmol/l	41.4 ± 6.7*	27.4 ± 4.2	32.7 ± 3.9**	23.4 ± 4.2

Note: APO-1—apoptosis antigen-1; Fas-L — Fas ligand; BDNF — brain-derived neurotrophic factor; pDOC — prolonged disorders of consciousness; VS/UWS — vegetative state/unresponsive wakefulness syndrome; MCS — minimally conscious state; * — $p < 0.05$ when comparing with group 2; ** — $p < 0.05$ when comparing with comparison group.

альфосцерат 2 г в сутки внутривенно в разведении на 200 мл физиологического раствора, комплексный лекарственный препарат, содержащий инозин, никотинамид, рибофлавин, янтарную кислоту — 20,0 мл в разведении на 200 мл физиологического раствора внутривенно капельно. Терапия назначалась с третьих суток от момента поступления (после забора крови на определение исследуемых маркеров), введение препаратов проводили в период с 10:00 до 12:00 утра. Курс применения препаратов составил 21 сут. Побочных эффектов на проводимую терапию не отмечено.

Уровень плазменных маркеров у пациентов с ХНС исследовали дважды — на вторые или третьи сутки после поступления и в конце лечения (через 1 мес.). В контрольной группе определение параметров проводили однократно. Кровь забирали в пробирку с активатором свертывания, оставляли на 30 мин при комнатной температуре для полного образования сгустка, затем центрифугировали 30 мин при 2700 об/мин при комнатной температуре, полученную сыворотку аликвотировали и замораживали при -86°C .

Определяли уровень нейротрофического фактора мозга (НФМ), антигена рецептора апоптоза (АРА-1), лиганда рецептора апоптоза (ЛРА), глутамата в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа на автоматическом иммуноферментном анализаторе Personal Lab (Adalt, Италия). Концентрацию НФМ исследовали с использованием набора реагентов Human Free BDNF (R&D Systems, США). Концентрацию АРА-1 определяли с помощью набора реагентов Humans APO-1/Fas ELISA (Invitrogen, Австрия). Концентрацию ЛРА оценивали с применением набора реагентов Humans Fas Ligand ELISA (Invitrogen, Австрия). Концентрацию глутамата оценивали с применением набора реагентов Glutamate ELISA (IBL America, США). Для параметров НФМ,

АРА-1 и ЛРА референсные значения были указаны производителем тест-систем, но отмечено, что лаборатории рекомендуется самостоятельно определить свои референсные интервалы. Для параметра «глутамат» референсные значения не были приведены в инструкции к набору реактивов. В связи с этим в лаборатории были измерены значения исследуемых показателей у 14 здоровых добровольцев, среди которых было 8 женщин и 6 мужчин, возраст в среднем составил $36 \pm 4,5$ года. Диапазоны референсных значений, определенные как

$$M \pm z_{\alpha} \cdot \frac{\sigma}{\sqrt{n}},$$

(где n — объем выборки, σ — сигма, стандартное отклонение, $\alpha = 1 - p = 0,05$ — уровень значимости, z_{α} — критическое значение стандартного нормального распределения для уровня значимости α ($z_{0,05} = 1,96$) составили для НФМ, АРА-1 и ЛРА 22 948–30 822 пг/мл; 745–901 пг/мл и 0,17–0,25 нг/мл соответственно и укладывались в интервалы, предложенные производителями тест-систем. Для глутамата диапазон референсных значений, определенный у здоровых добровольцев, составил 17,3–22,4 мкмоль/л.

Этическая экспертиза. Исследование одобрено Локальным этическим комитетом (выписка из протокола заседания № 08–19 от 12 августа 2019 г.).

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 10. Параметры распределения выборки оценивали при помощи критерия Колмогорова–Смирнова. Для расчета статистической значимости различий между количественными параметрами при непараметрическом распределении данных использовали критерий Краскела–Уоллиса. Гипотезу о равенстве средних значений в исследуемых группах отвергали при уровне значимости $p < 0,05$.

Таблица 3

Динамика исследуемых маркеров в крови пациентов с хроническим нарушением сознания

Группы больных	АРА-1, пг/мл	ЛРА, нг/мл	НФМ, пг/мл	Глутамат, мкмоль/л
1-я группа (до лечения)	1309,8 ± 534,9	0,207 ± 0,072	18 814 ± 3438	41,4 ± 6,7
1-я группа (после лечения)	1049,5 ± 270,5	0,161 ± 0,042	21 305 ± 5512	39,0 ± 6,0
2-я группа (до лечения)	1061,3 ± 162,9	0,209 ± 0,096	19 346 ± 3329	27,4 ± 4,2
2-я группа (после лечения)	848,9 ± 299,4	0,254 ± 0,080	23 564 ± 1937*	24,5 ± 4,6

Примечание: АРА-1 — антиген рецептора апоптоза; ЛРА — лиганд рецептора апоптоза; НФМ — нейротрофический фактор мозга; * — $p < 0,05$ при сравнении групп до и после лечения.

Table 3

Dynamics of the studied markers in the blood in pDOC patients

Groups	APO-1, pg/ml	Fas-L, ng/ml	BDNF, pg/ml	Glutamate, μ mol/l
1st group (before treatment)	1309.8 ± 534.9	0.207 ± 0.072	18,814 ± 3438	41.4 ± 6.7
1st group (after treatment)	1049.5 ± 270.5	0.161 ± 0.042	21,305 ± 5512	39.0 ± 6.0
2nd group (before treatment)	1061.3 ± 162.9	0.209 ± 0.096	19,346 ± 3329	27.4 ± 4.2
2nd group (after treatment)	848.9 ± 299.4	0.254 ± 0.080	23,564 ± 1937*	24.5 ± 4.6

Note: APO-1 — apoptosis antigen-1; Fas-L — Fas ligand; BDNF — brain-derived neurotrophic factor; pDOC — prolonged disorders of consciousness; * — $p < 0.05$ when comparing groups before and after treatment.

Таблица 4

Концентрация исследуемых маркеров в крови пациентов с разной этиологией нарушения сознания

Причина нарушения сознания	АРА-1, пг/мл	ЛРА, нг/мл	НФМ, пг/мл	Глутамат, мкмоль/л
ЧМТ ($n = 26$)	1150,4 ± 308,0	0,218 ± 0,043	22 519 ± 2873*	31,8 ± 4,2
Гипоксия ($n = 12$)	908,1 ± 179,9	0,174 ± 0,043	19 021 ± 3966	31,5 ± 7,2
ОНМК, менингоэнцефалит ($n = 15$)	1147,9 ± 229,3	0,208 ± 0,056	16 797 ± 3199*	33,8 ± 6,7

Примечание: ЧМТ — черепно-мозговая травма; ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения; * — $p < 0,05$ при сравнении между группами.

Table 4

Concentration of the studied markers in patients with different etiology of consciousness disorders

Values	APO-1, pg/ml	Fas-L, ng/ml	BDNF, pg/ml	Glutamate, μ mol/l
Traumatic brain injury ($n = 26$)	1150.4 ± 308.0	0.218 ± 0.043	22,519 ± 2873*	31.8 ± 4.2
Hypoxia ($n = 12$)	908.1 ± 179.9	0.174 ± 0.043	19,021 ± 3966	31.5 ± 7.2
Stroke, meningoencephalitis ($n = 15$)	1147.9 ± 229.3	0.208 ± 0.056	16,797 ± 3199*	33.8 ± 6.7

Note: APO-1 — apoptosis antigen-1; Fas-L — Fas ligand; BDNF — brain-derived neurotrophic factor; * — $p < 0.05$ when comparing between groups.

Результаты. Всем пациентам методом иммуноферментного анализа было определено содержание в сыворотке крови НФМ, глутамата и факторов апоптоза. Среднее значение параметров в сыворотке крови у пациентов с ХНС и группы сравнения представлено в табл. 2.

Как следует из табл. 2, пациенты с ВС/САБ, СМС и группы сравнения имели достоверные отличия только по концентрации глутамата, которая была наиболее высокой у пациентов 1-й группы (ВС/САБ). У пациентов группы сравнения уровень НФМ был выше, чем у пациентов с ХНС, но различия не достигли статистической значимости ($p = 0,057$). Однако концентрация НФМ у пациентов с ХНС была достоверно ниже, чем в контрольной группе здоровых добровольцев — $26\,885 \pm 2913$ пг/мл ($p < 0,001$). Кроме того, и у пациентов с ХНС и у пациентов группы сравнения концентрация АРА-1 была достоверно выше, чем у здоровых добровольцев — $823,5 \pm 58,3$ пг/мл ($p < 0,05$).

Динамика исследуемых показателей была определена только у пациентов с ХНС. Повторный забор крови проводился в среднем через 1 мес. после

поступления больного в стационар. Результаты представлены в табл. 3.

При анализе динамики концентраций исследуемых параметров было выявлено достоверное увеличение уровня НФМ после проведения нейропротекторной терапии у пациентов 2-й группы (СМС) ($p < 0,05$). Корреляционный анализ показал наличие сильной возрастающей зависимости между первым и вторым забором НФМ (коэффициент корреляции Пирсона 0,75).

Не было обнаружено корреляции исследуемых маркеров между собой, а также с продолжительностью нарушения сознания и суммарным ШВПК-индексом при поступлении.

При анализе полученных данных у пациентов с разной этиологией ХНС были выявлены различия по концентрации НФМ, которые были максимальны у пациентов с последствием ЧМТ и минимальны у пациентов с последствием ОНМК или менингоэнцефалита (табл. 4).

Обсуждение. НФМ — нейротрофин, участвующий в регуляции роста, развития, дифференцировки и адаптации нейронов к внешним воздействиям. НФМ может способствовать как выживанию, так

и гибели нейронов в зависимости от уровня экспрессии. Экспрессия НФМ может меняться под влиянием различных факторов (травма, гипогликемия, ишемия, стресс, физическая активность), а также модулироваться рядом фармакологических агентов, воздействующих на нейротрансмиттерные системы [6]. Исследования экспрессии НФМ в ткани мозга и его концентрации в крови и цереброспинальной жидкости представляют высокий интерес в связи с его вовлечением как в патогенез мозгового повреждения, так и в восстановление мозговых функций после травмы. Кроме того, роль НФМ в саногенетических процессах не ограничивается его участием в нейрогенезе и нейропластичности, а включает воздействие на автономную нервную систему, в частности регуляцию частоты сердечных сокращений вследствие активации парасимпатических нейронов ствола мозга [7]. В различных работах было продемонстрировано, что нарушения метаболизма, транспорта или передачи сигнала НФМ способствуют развитию ряда неврологических расстройств [8], ликворные и сывороточные уровни НФМ имеют прогностическое значение после тяжелого травматического [9] и гипоксического поражения мозга [10], связаны с уровнем нарушения сознания у пациентов с ХНС [11, 12].

В нашей работе у пациентов с ХНС концентрация НФМ составила $19\,248 \pm 2446$ пг/мл, в то время как у пациентов без нарушения сознания $23\,618 \pm 3566$ пг/мл. Не обнаружено достоверных различий в концентрации НФМ у пациентов

в зависимости от уровня нарушения сознания (ВС/САБ или СМС). Однако выявлены различия НФМ в зависимости от этиологии нарушения сознания — наиболее высокую концентрацию фиксировали у пациентов с ЧМТ. Более высокие уровни НФМ в крови пациентов с травматическим генезом ХНС согласуются с более благоприятным прогнозом восстановления сознания по сравнению с другими этиологическими причинами. Кроме того, пациенты 2-й группы с более высоким уровнем сознания при поступлении показали достоверное увеличение уровня НФМ после проведенной терапии (рис. 1).

На рис. 1 серыми точками представлены значения, иллюстрирующие зависимость показателя НФМ 2 (после лечения) от НФМ 1 (при поступлении), прямая — это предсказанное поведение данной зависимости (построенная линия регрессии, ее коэффициенты значимы на уровне значимости $\alpha = 0,05$). Между этими показателями существует сильная возрастающая зависимость (коэффициент корреляции Пирсона 0,75), то есть чем выше была концентрация НФМ при поступлении, тем более вероятно произойдет увеличение НФМ после лечения. Вероятность того, что значение показателя НФМ 2 будет выше, чем значение НФМ 1, равна 0,61.

Оценивая эти данные, можно сказать, что концентрация НФМ снижена у пациентов с ХНС, но может увеличиваться в результате проведения терапии, что согласуется с публикуемыми данными [13]. По-видимому, более высокий исходный уровень НФМ обеспечивает резерв для адаптивной пластичности

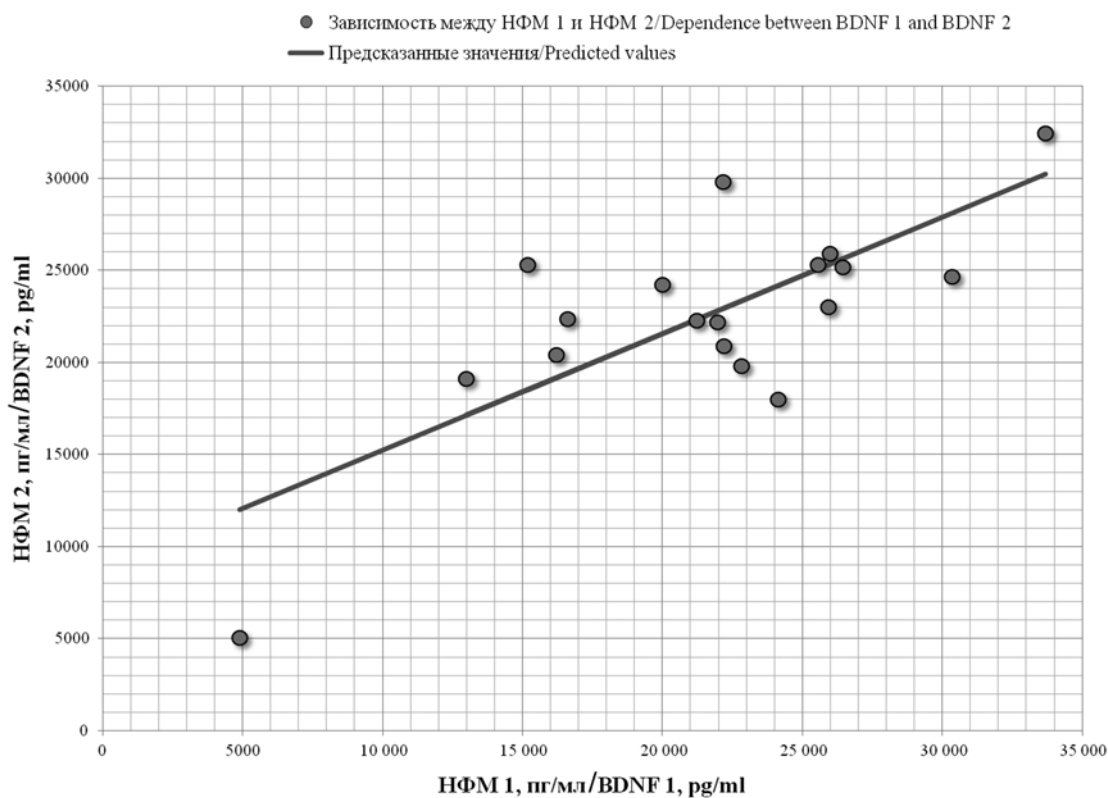


Рис. 1. Зависимость от исходных значений концентрации НФМ через 1 мес. после нейропротекторной терапии
Fig. 1. Dependence on the initial BDNF concentration values 1 month after neuroprotective therapy

мозга и позволяет достичь лучших терапевтических результатов.

Система АРА/ЛРА играет одну из ключевых ролей в регуляции апоптоза. Апоптоз — программируемая клеточная гибель, играет важную роль в развитии и поддержании гомеостаза (эмбриогенез, морфогенез, регуляция иммунного ответа, ремоделирование тканей, устранение поврежденных клеток). Нарушения процесса апоптоза имеют патофизиологические последствия: усиление апоптоза может привести к цитопениям и тканевым деструкциям, ослабление — вызывает рост аутоиммунных и злокачественных заболеваний [14]. Основными участниками рецептор-зависимого сигнального пути регуляции апоптоза являются антиген рецептора апоптоза-1 (АРА-1, другое название — CD95) и апоптоз-индуцирующий фактор лиганд рецептора апоптоза ЛРА, который, связываясь с рецептором апоптоза на поверхности клеток, вызывает их гибель. ЛРА экспрессируется главным образом на иммунокомпетентных клетках, а рецептор апоптоза на здоровых и поврежденных клетках, что делает их восприимчивыми к повреждению иммунной системой [15]. Кроме мембраносвязанных форм существуют растворимые формы АРА и ЛРА, которые синтезируются посредством альтернативного процессинга мРНК и конкурентно блокируют активацию мембранных рецепторов апоптоза с помощью ЛРА, защищая клетки от апоптоза [16]. Кроме того, связывание растворимых форм ЛРА может также приводить к неапоптотической передаче сигналов рецепторов апоптоза, вызывая воспаление и повреждая ткани. Система вовлечена в патогенез многих заболеваний, повышенный уровень ее компонентов обнаружен при неопластических и аутоиммунных процессах, последствиях ЧМТ, ишемии мозга и многих других заболеваниях [3, 17–19].

Согласно нашим данным, не было различий в концентрациях АРА-1 и ЛРА у больных с ХНС и пациентов в ясном сознании. Однако концентрация АРА-1 у пациентов с ХНС и группы сравнения была достоверно выше, чем у здоровых добровольцев. Данные маркеры не имели достоверной динамики в процессе лечения и не различались в зависимости от этиологии нарушения сознания. Апоптоз считают одним из механизмов, способствующих потере нейрональных клеток и атрофии головного мозга после ЧМТ и повреждения мозга другого генеза как в очаге травмы, так и в отдаленных тканях. Длительное повышение сывороточных уровней АРА-1 и ЛРА после повреждения мозга ожидаемо и, вероятнее всего, вызвано продолжающейся воспалительной реакцией и замедленной апоптотической гибелью клеток. Отсутствие различий между больными с ХНС и группой сравнения может свидетельствовать о неспецифическом усилении апоптоза, сопровождающем широкий ряд нозологий.

Глутаминовая кислота (глутамат) — основной возбуждающий нейромедиатор, являющийся ключевым участником нескольких метаболических путей в ЦНС. Глутамат локализован в синаптических пузырьках нервных окончаний и высвобождается

путем экзоцитоза во внеклеточную среду синаптической щели. С помощью одного из трех видов рецепторов — НМДА (N-метил-D-аспартата), АМПК (α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовая кислота) и каинитовых рецепторов, присутствующих как на нейронах, так и на астроцитах — происходит передача возбуждения в клетках. Помимо рецепторов глутамата, на поверхности клеток ЦНС присутствуют транспортеры глутамата, функцией которых является быстрое удаление его избытка из синаптической щели. Глутамат играет важную роль в онтогенезе ЦНС, влияя на миграцию, дифференцировку, выживание нейронов, синаптогенез. Глутамат также участвует в когнитивных и поведенческих функциях, таких как память, обучение и настроение [20]. Избыток глутамата является мощным нейротоксином, вызывая избыточный приток кальция в нейрональные клетки и их последующую гибель. Этот механизм, носящий название эксайтотоксичности, лежит в основе многих неврологических и психиатрических заболеваний [21]. В ряде экспериментов было показано, что после ЧМТ в синапсах происходит резкое увеличение концентрации глутамата [22, 23]. Известно, что мозг надежно защищен от глутамата крови гематоэнцефалическим барьером [24], а после повреждения мозга избыток мозгового глутамата элиминируется в кровь [25]. Этот механизм регуляции уровня глутамата способствует снижению вторичных мозговых повреждений, что в конечном итоге улучшает неврологические исходы. В случаях повышенного уровня глутамата крови этот процесс замедляется, что может приводить к ухудшению состояния, в связи с чем снижение плазменного глутамата становится одной из современных терапевтических тактик при лечении повреждения мозга различного генеза [25, 26]. Кроме того, в многочисленных работах была показана корреляция между плазменными и ликворными уровнями глутамата [27, 28], и, таким образом, концентрация глутамата в крови может быть использована для косвенной оценки содержания глутамата в мозге.

В нашей работе уровень глутамата был наиболее высоким у пациентов 1-й группы (ВС/САБ). Эти различия сохранялись при более детальном делении пациентов по уровню сознания. Согласно результатам оценки по ШВПК было выделено 3 группы пациентов: ВС/САБ — 16 пациентов, СМС «минус» — 14, СМС «плюс» — 22. Концентрация глутамата в этих группах составила $39,3 \pm 7,9$ мкмоль/л; $32,5 \pm 8,5$ мкмоль/л и $27,9 \pm 5,3$ мкмоль/л соответственно. Корреляционный анализ показал, что зависимость между уровнем сознания и концентрацией глутамата является убывающей, коэффициент корреляции Пирсона составил $-0,437$. Регрессионный анализ показал значимость параметров уравнения регрессии при исследовании зависимости группы пациента от уровня глутамата (рис. 2). Уравнение регрессии для построения линейной зависимости имело вид:

$$y = 3,063 - 0,026 \times x,$$

где x — концентрация глутамата, y — номер группы пациента.

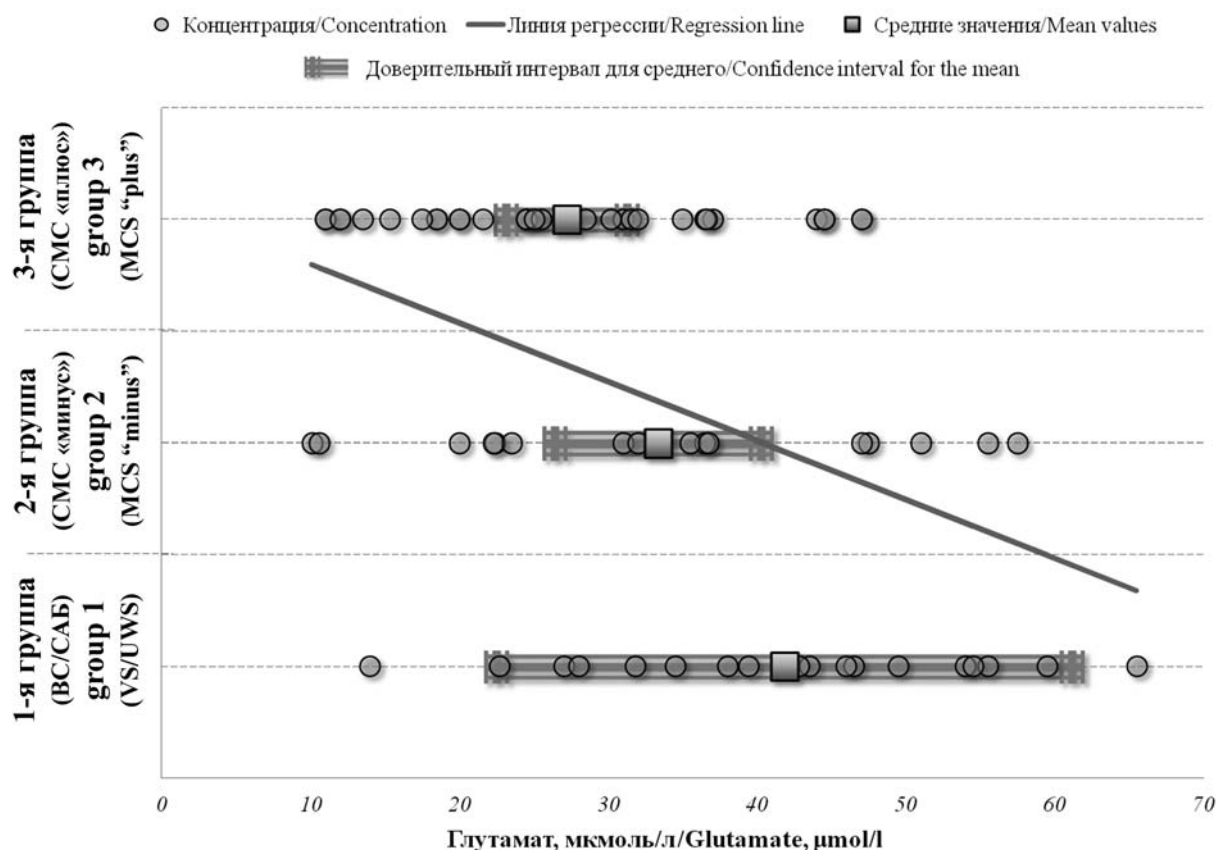


Рис. 2. Зависимость между концентрацией глутамата в крови и уровнем сознания пациентов с ХНС
Fig. 2. Dependence of the glutamate serum concentration on the consciousness disorder level

Уравнение регрессии и его числовые коэффициенты значимы на уровне значимости $\alpha = 0,05$.

Обнаруженные различия концентрации глутамата в крови пациентов с разным уровнем сознания косвенно подтверждают неблагоприятные эффекты высоких концентраций этого нейромедиатора при повреждении головного мозга. Содержание глутамата в крови не зависело от продолжительности нарушения сознания, этиологии ХНС и нейропротекторной терапии. Возможно, поиск способов для уменьшения плазменного уровня глутамата с целью увеличения его удаления из ЦНС, который активно ведется в последние годы, будет способствовать улучшению исходов у пациентов с ХНС.

Заключение

У больных с ХНС выявлено снижение в крови уровня НФМ, менее выраженное при травматическом генезе поражения мозга. У пациентов, соответствующих при поступлении критериям СМС, в процессе лечения происходило достоверное повышение сыровоточного уровня НФМ, что могло свидетельствовать о том, что больные с более высоким исходным уровнем сознания обладают лучшим потенциалом для реализации эффекта нейропротекторной терапии. Уровень глутамата, напротив, был выше у пациентов в ВС/САБ. Содержание факторов апоптоза не зависело от уровня сознания. Дальнейшие исследования содержания метаболитов, обладающих

нейропротекторными или нейротоксичными свойствами, помогут определить таргетную терапию у пациентов с ХНС.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научно-го проекта № 19-29-01066.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Пирадов М.А., Супонева Н.А., Вознюк И.А., Кондратьев А.Н., Щеголев А.В., Белкин А.А. и др. Российская рабочая группа по проблемам хронических нарушений сознания. Хронические нарушения сознания: терминология и диагностические критерии. Результаты первого заседания Российской рабочей группы по проблемам хронических нарушений сознания. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2020;14(1):5–16. [Piradov M.A., Suponeva N.A., Voznyuk I.A., Kondratyev A.N., Shchegolev A.V., Belkin A.A. et al. Russian work group on chronic disorders of consciousness. Chronic disorders of consciousness: terminology and diagnostic criteria. The results of the first meeting of the Russian Working Group for Chronic Disorders of Consciousness. *Annals of clinical and experimental neurology*. 2020;14(1):5–16. (In Russ.).] <https://doi.org/10.25692/ACEN.2020.1.1>
2. Кондратьева Е.А., Яковенко И.В. Вегетативное состояние (этиология, патогенез, диагностика и лечение). СПб ФГБУ «РНХИ им. проф. А.Л. Поленова». 2014. [Kondratyeva E.A., Yakovenko I.V. Vegetative state (etiology, pathogenesis, diagnosis and treatment. St. Petersburg “RNHI named after prof. A.L. Polenov”. 2014. (In Russ.).]

3. Jiang W., Jin P., Wei W., Jiang W. Apoptosis in cerebrospinal fluid as outcome predictors in severe traumatic brain injury: An observational study. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(26):e20922. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000020922>
4. Орлова А.А., Кондратьева Е.А., Дубровский Я.А., Дрягина Н.В., Вербицкая Е.В., Кондратьев С.А. и др. Метаболическое профилирование крови пациентов с хроническим нарушением сознания. *Общая реаниматология*. 2022;18(2):22–36. [Orlova A.A., Kondrat'eva E.A., Dubrovskii Y.A., Dryagina N.V., Verbitskaya E.V., Kondrat'ev S.A. et al. Metabolomic Profiling of the Blood of Patients with Chronic Disorders of Consciousness. *Obshchaya Reanimatologiya/General Reanimatology*. 2022;18(2):22–36. (In Russ. and Engl.)]. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2022-2-22-36>
5. Annen J., Filippini M.M., Bonin E., Cassol H., Aubinet C., Carrière M. et al. Diagnostic accuracy of the CRS-R index in patients with disorders of consciousness. *Brain Inj.* 2019;33(11):1409–1412. <https://doi.org/10.1080/02699052.2019.1644376>
6. Numakawa T., Odaka H., Adachi N. Actions of brain-derived neurotrophin factor in the neurogenesis and neuronal function, and its involvement in the pathophysiology of brain diseases. *Int J Mol Sci.* 2018;19(11):3650. <https://doi.org/10.3390/ijms19113650>
7. Wan R., Weigand L.A., Bateman R., Griffioen K., Mendlowitz D., Mattson M.P. Evidence that BDNF regulates heart rate by a mechanism involving increased brainstem parasympathetic neuron excitability. *J Neurochem.* 2014;129(4):573–80. <https://doi.org/10.1111/jnc.12656>
8. Mohammadi A., Amooeian V.G., Rashidi E. Dysfunction in brain-derived neurotrophic factor signaling pathway and susceptibility to schizophrenia, Parkinson's and Alzheimer's diseases. *Curr Gene Ther.* 2018;18(1):45–63. <https://doi.org/10.2174/1566523218666180302163029>
9. Failla M.D., Conley Y.P., Wagner A.K. Brain-Derived Neurotrophic Factor in TBI-related mortality: Interrelationships between Genetics and Acute Systemic and CNS BDNF Profiles. *Neurorehabil Neural Repair.* 2016;30(1):83–93. <https://doi.org/10.1177/1545968315586465>
10. Massaro A.N., Wu Y.W., Bammler T.K., Comstock B., Mathur A., McKinstry R.C. et al. Plasma biomarkers of brain injury in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Pediatr.* 2018;194:67–75.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2017.10.060>
11. Bagnato S., Galardi G., Ribaudo F., Boccagni C., Fiorilla T.V., Rubino F. et al. Serum BDNF levels are reduced in patients with disorders of consciousness and are not modified by verticalization with robot-assisted lower-limb training. *Neural Plast.* 2020;2020:5608145. <https://doi.org/10.1155/2020/5608145>
12. Кондратьева Е.А., Иванова А.О., Ярмолинская М.И., Потемкина Е.Г., Дрягина Н.В., Зыбина Н.Н., и др. Оценка структурных изменений гипофиза, особенностей гормонального статуса и лабораторных маркеров функционального состояния центральной нервной системы у пациенток с хроническим нарушением сознания. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2021;70(5):23–36. [Kondratyeva E.A., Ivanova A.O., Yarmolinskaya M.I., Potyomkina E.G., Dryagina N.V., Zybina N.N. et al. Evaluation of structural variations in the pituitary gland, hormonal status and laboratory markers of the central nervous system functioning in patients with chronic disorders of consciousness. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2021;70(5):23–36. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17816/JOWD77930>
13. Язева Е.Г., Легостаева Л.А., Бакулин И.С., Пойдашева А.Г., Абаймов Д.А., Супонева Н.А. и др. Влияние курса нейромодуляции на профиль нейротрофических факторов у пациентов с хроническим нарушением сознания. *Вестник РГМУ*. 2020;5:40–46. [Jazeva E.G., Legostaeva L.A., Bakulin I.S., Poydasheva A.G., Abaimov D.A., Suponeva N.A. et al. Effect of neuromodulation on neurotrophic factors in patients with chronic disorders of consciousness. *Vestnik RSMU*. 2020;5:40–46. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2020.056>
14. Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol.* 2007;35(4):495–516. <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>
15. Askenasy N., Yolcu E.S., Yaniv I., Shirwan H. Induction of tolerance using Fas ligand: a double-edged immunomodulator. *Blood.* 2005;105:1396–1404. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-06-2364>
16. Izquierdo J.M., Majós N., Bonnal S., Martínez C., Castelo R., Guigó R. et al. Regulation of Fas Alternative Splicing by Antagonistic Effects of TIA-1 and PTB on Exon Definition. *Mol. Cell.* 2005;19:475–484. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2005.06.015>
17. Сергеева С.П., Савин А.А., Литвицкий П.Ф. Роль системы Fas в патогенезе ишемического инсульта. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. Спецвыпуски. 2016;116(3–2):3–8. [Sergeeva S.P., Savin A.A., Litvitsky P.F. A role of the Fas system in the pathogenesis of ischemic stroke. *The Journal neurology and psychiatry named after S.S. Korsakova*. 2016;116(3–2):3–8. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17116/jnevro2016116323-8>
18. Sremec J., Tomasović S., Sremec N.T., Šućur A., Koščak Lukač J., Baronica K.B. et al. Elevated Concentrations of Soluble Fas and FasL in Multiple Sclerosis Patients with Antinuclear Antibodies. *J Clin Med.* 2020;9(12):3845. <https://doi.org/10.3390/jcm9123845>
19. Lenzlinger P.M., Marx A., Trentz O., Kossmann T., Morganti-Kossmann M.C. Prolonged intrathecal release of soluble Fas following severe traumatic brain injury in humans. *J Neuroimmunol.* 2002;122(1–2):167–174. [https://doi.org/10.1016/s0165-5728\(01\)00466-0](https://doi.org/10.1016/s0165-5728(01)00466-0)
20. Manent J.B., Represa A. Neurotransmitters and brain maturation: early paracrine actions of GABA and glutamate modulate neuronal migration. *Neuroscientist.* 2007;13(3):268–79. <https://doi.org/10.1177/1073858406298918>
21. AL-Nasser M.N., Mellor I.R., Carter W.G. Is L-Glutamate Toxic to Neurons and Thereby Contributes to Neuronal Loss and Neurodegeneration? A Systematic Review. *Brain Sci.* 2022;12(5):577. <https://doi.org/10.3390/brainsci12050577>
22. Dorsett C.R., McGuire J.L., DePasquale E.A., Gardner A.E., Floyd C.L., McCullumsmith R.E. Glutamate neurotransmission in rodent models of traumatic brain injury. *J Neurotrauma.* 2017;34(2):263–272. <https://doi.org/10.1089/neu.2015.4373>
23. Piao C.S., Holloway A.L., Hong-Routson S., Wainwright M.S. Depression following traumatic brain injury in mice is associated with down-regulation of hippocampal astrocyte glutamate transporters by thrombin. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2019;39(1):58–73. <https://doi.org/10.1177/0271678X17742792>
24. Zhou Y., Danbolt N.C. Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain. *J. Neural Transm.* 2014;121:799–817. <https://doi.org/10.1007/s00702-014-1180-8>
25. Leibowitz A., Boyko M., Shapira Y., Zlotnik A. Blood Glutamate Scavenging: Insight into Neuroprotection. *Int J MolSci.* 2012;13(8):10041–10066. <https://doi.org/10.3390/ijms130810041>
26. Kaplan-Arabaci O., Acari A., Ciftci P., Gozuacik D. Glutamate Scavenging as a Neuroreparative Strategy in Ischemic Stroke. *Front Pharmacol.* 2022;13:866738. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.866738>
27. Stover J.F., Kempinski O.S. Anesthesia increases circulating glutamate in neurosurgical patients. *Acta Neurochir. (Wien.)*. 2005;147:847–853. <https://doi.org/10.1007/s00701-005-0562-y>
28. Castillo J., Davalos A., Noya M. Progression of ischaemic stroke and excitotoxic aminoacids. *The Lancet*. 1997;349:79–83.