

ЕНДОТЕЛІАЛЬНА ДИСФУНКЦІЯ ПРИ ТРАНЗИТОРНІЙ ШЕМІЧНІЙ АТАЦІ У ВЕРТЕБРО-БАЗИЛЯРНОМУ БАСЕЙНІ

**С. І. Генік, В. А. Гриб, Л. Т. Максимчук,
О. О. Дорошенко, Я. І. Генік**

*Івано-Франківський національний медичний університет;
кафедра неврології та нейрохірургії; 76018, м. Івано-Франківськ,
Галицька, 2; e-mail: sofya2185@gmail.com*

Транзиторна ішемічна атака (ТІА) у вертебро-базиллярному басейні (ВББ) характеризується гострим виникненням вогнищевої неврологічної симптоматики внаслідок короткочасної локальної ішемії мозку. За даними різних авторів тимчасові неврологічні прояви недостатності кровообігу у ВББ можуть прогресувати до завершеного інсульту протягом 2-5 років у 30-50% хворих, що призводить до інвалідизації близько 80% пацієнтів з гострими розладами мозкового кровообігу. Її діагностика пов'язана з певними труднощами внаслідок варіабельності клінічних проявів, клінічної схожості з іншими захворюваннями і, як наслідок, – неправильна терапевтична тактика.

Ключові слова: *транзиторна ішемічна атака, неврологічний дефіцит, гомоцистеїн, васкуло-ендотеліальний фактор росту*

Метою дослідження було простежити зміни ендотеліальної функції при ТІА у ВББ шляхом визначення рівнів гомоцистеїну (ГЦ) та васкуло-ендотеліального фактору росту (ВЕФР) при різних ступенях неврологічного дефіциту (НД). Обстежено 78 хворих з ТІА у ВББ. З метою визначення ступеня НД при ТІА у ВББ, використовувався розроблений нами опитувальник. Рівень ГЦ визначали методом імуноферментного аналізу. ВЕФР визначали за допомогою "сендвіч"-методу твердофазного імуноферментного аналізу. У групі хворих з I ступенем НД виявлено тенденцію до зростання ГЦ в 1,1 р. порівняно з практично здоровими особами (ПЗО), з II ступенем – ГЦ зростав в 1,5 р. ($p < 0,05$), а при III ступені – в 1,9 р. ($p < 0,05$). Також при III ступені виявлено його достовірну різницю (в 1,8 р.) порівняно з показником I ступеня ($p < 0,05$). ВЕФР при I ступені НД достовірно підвищувався порівняно з ПЗО в 1,1 р. ($p < 0,05$), при II ступені спостерігалася тенденція до підвищення (в 1,2 р.), при III ступені виявлено значне зростання ВЕФР порівняно з ПЗО (в 2,9 р.) ($p < 0,05$), та порівняно з показниками I (в 1,8 р.) ($p < 0,05$) та II ступеня (2,6 р.) ($p < 0,05$).

Нами показано, що ТІА у ВББ супроводжується ендотеліальною дисфункцією (підвищення ГЦ та ВЕФР), яка більш виражена з поглиб-

ленням НД. Для оцінки прогнозу захворювання ми рекомендуємо застосовувати опитувальник для визначення ступеня НД при ТІА у ВББ та визначати такі маркери ендотеліальної функції, як ГЦ та ВЕФР.

Особливе місце серед судинних уражень нервової системи посідають розлади кровообігу у вертебро-базиллярному басейні (ВББ), оскільки через нього кров надходить до центрів життєзабезпечення: стовбура мозку, мозочка, потиличних долей та нижніх задніх відділів скроневих долей великих півкуль головного мозку, верхнього шийного відділу спинного мозку, внутрішнього вуха, а також значною мірою гіпоталамуса та підкоркових вузлів [2]. Транзиторна ішемічна атака (ТІА) у ВББ характеризується гострим виникненням вогнищевої неврологічної симптоматики внаслідок короткочасної локальної ішемії мозку [1]. За даними різних авторів тимчасові неврологічні прояви недостатності кровообігу у ВББ можуть прогресувати до завершеного інсульту протягом 2-5 років у 30-50% хворих, що призводить до інвалідизації близько 80% пацієнтів з гострими розладами мозкового кровообігу. Приблизно у 20% пацієнтів старших 50 років ТІА передує інсульту. При чому в перший місяць після перенесеного минаючого порушення мозкового кровообігу інсульт розвивається у 4-8% хворих, через один рік їх число зростає до 12% [2].

Проблемі гіпергомоцистемії (ГГЦ) при патології ВББ присвячені лише поодинокі роботи. Вперше на рівень ГЦ в крові звернули увагу в Гарвардській медичній школі. Епідеміологічні дослідження підтвердили, що ГГЦ є незалежним чинником ризику серцево-судинних захворювань. При ГГЦ підвищується концентрація атерогенних фракцій ліпідів, знижується продукція ендотеліального релаксуючого фактора і сульфатованих глікозаміногліканів, активуються серинові протеази, що призводить до ушкодження ендотеліоцитів та еластичних мембран [3, 5, 8].

Серед великої кількості біологічно активних сполук, що можуть впливати на процеси росту та диференціації клітин кровоносних судин, важлива роль належить васкуло-ендотеліальному фактору росту (ВЕФР), що стимулює ангиогенез та проникність артеріальної стінки. Було доведено, що ВЕФР підвищує мітотичну активність у клітинах ендотелію та стимулює ангиогенез, у тому числі й в ішемізованих частинах тканин [4, 6].

Незважаючи на поширеність ТІА у ВББ серед населення, її діагностика пов'язана з певними труднощами внаслідок варіабельності клінічних проявів, клінічної схожості з іншими захворюваннями і, як наслідок, – неправильна терапевтична тактика. Зростання кількості хворих із ТІА у ВББ є важливою соціально-економічною проблемою, оскільки це захворювання може призводити до погіршення якості і тривалості життя, тимчасової або повної втрати працездатності та інвалідизації.

Мета дослідження – простежити зміни ендотеліальної функції при ТІА у ВББ шляхом визначення рівнів ГЦ та ВЕФР при різних ступенях неврологічного дефіциту (НД).

Матеріали та методи дослідження. Обстежено 78 хворих з ТІА у ВББ, середній вік яких складав $57,08 \pm 10,37$ років. Контрольною групою були 20 практично здорових осіб (ПЗО) того ж віку без ознак цереброваскулярної патології (жінок – 9, чоловіків – 11).

З метою визначення ступеня НД при ТІА у ВББ використовувався розроблений нами опитувальник, який складається з 16-ти шкал. По кожній із шкал нараховували бали (від 0 до 2), при чому балу "0" відповідала відсутність симптому, "1" – мінімальні прояви, "2" – виражені прояви (табл. 1).

Таблиця 1. Опитувальник для визначення ступеня неврологічного дефіциту при транзиторній ішемічній атаці у вертебро-базиллярному басейні

	Симптоми	Оцінка у балах		
		0	1	2
1	Труднощі при самообслуговуванні	0	1	2
2	Зниження пам'яті на поточні події, раптова втрата здатності до запам'ятовування на кілька годин	0	1	2
3	Напади дезорієнтації та відчуття розгубленості	0	1	2
4	Загальна слабкість і підвищена стомлюваність			
5	Сонливість, порушення ритму сну і неспання	0	1	2
6	Напади запаморочення системного чи несистемного характеру	0	1	2
7	Головний біль	0	1	2
8	Нестійкість під час ходьби та стояння	0	1	2
9	Напади раптового падіння без втрати свідомості	0	1	2
10	Зорові розлади у вигляді нападів «затуманення зору», «плям» і «зигзагів» у полі зору, повної чи часткової минаючої втрати зору	0	1	2
11	Окорухові розлади у вигляді минаючого двоїння в очах	0	1	2
12	Порушення співдружних рухів очних яблук	0	1	2
13	Вегетативні розлади з епізодами профузної пітливості, зблідненням шкіри, нападами запаморочення	0	1	2
14	Альтернуючі синдроми	0	1	2
15	Двостороннє порушення рухів і / або чутливості	0	1	2
16	Наявність ускладнень у вигляді повторних ТІА чи перенесеного ішемічного інсульту	0	1	2
	Сума балів:			

Підраховували загальний бал (від 0 до 32), відповідно до якого формували групи та оцінювали ступінь НД при ТІА у ВББ: 1 ступінь – 0-2 бали, 2 ступінь – 2-16 балів, 3 ступінь – 16-32 бали.

Рівень ГЦ визначали методом імуноферментного аналізу. Пов'язаний з білком ГЦ відновлюється до вільного ГЦ і перетворюється на S-аденозил-L-гомоцистеїн ферментативним шляхом у спеціальній проце-

дурі, що передує імуноаналізу. ГЦ, суміш дисульфідів і білок-зв'язана форма ГЦ у зразку відновлюються до вільного ГЦ при використанні дітіотреїтолу. ГЦ зразка перетворюється на S-аденозил-L-гомоцистеїн з використанням S-аденозил-L-гомоцистеїн-гідролази в присутності надлишку аденозину. Наступний твердофазний імуноферментний аналіз ґрунтується на конкуренції між S-аденозил-L-гомоцистеїну в зразку та іммобілізованого в лунках планшета за сайти зв'язування з моноклональними анти-S-аденозил-L-гомоцистеїн антитілами. Після видалення анти-S-аденозил-L-гомоцистеїн антитіл, які не зв'язалися з планшетом, додаються другі кролячі антим'язеві антитіла, мічені пероксидазою хрому. Активність пероксидази вимірюється на спектрофотометрі після додавання субстрату. Отримана абсорбція обернено пропорційна концентрації загального ГЦ у пробі. Оптична щільність розраховується на довжині хвилі 450 нм протягом 15 хвилин. Використовується 4-х параметрична апроксимація для побудови калібрувальної кривої і розрахунку концентрації ГЦ у невідомих зразках. Концентрацію ГЦ виражали в мкмоль/л.

ВЕФР визначали за допомогою "сендвіч"-методу твердофазного імуноферментного аналізу. Мікропланшет покривається антитілами проти людського ВЕФР. Упродовж реакції в лунки планшета додаються стандарти, контролю і невідомі зразки. Під час першої інкубації людський ВЕФР – антиген зв'язується з довільно іммобілізованими в лунках антитілами. Після промивання додаються біотинільовані моноклональні антитіла проти людського ВЕФР, які в другій інкубації зв'язуються з іммобілізованим людським ВЕФР, зв'язаних у першій інкубації. Після видалення надлишку вторинних антитіл додається стрептавідин-пероксидаза, що зв'язується з біотинільованими антитілами з формуванням сендвіч-комплексу з 4-х реагентів. Після третьої інкубації та промивання видаляється незв'язаний фермент, після чого додається субстратний розчин, який взаємодіє з ферментом, з утворенням кольорового комплексу. Інтенсивність забарвлення розчину прямопропорційна концентрації людського ВЕФР, присутнього у зразку. Оптичну щільність лунок визначається при 450 нм. Розраховується середнє значення поглинання для кожного стандарту, контролю та зразка. При використанні автоматизованого розрахунку використовується 4-х параметрична апроксимація. Отримані значення множаться на 2 для корекції розведення 1: 2. Вміст ВЕФР визначали в пг/мл.

Статистична обробка одержаних даних проводилась із застосуванням пакету прикладних програм Statistica 6.0. Для оцінки статистичної значущості різниці показників між групами застосовували непараметричний U-критерій Манна-Уїтні для порівняння двох незалежних змінних.

Результати дослідження. Згідно опитувальника 1 ступінь НД при ТІА у ВББ діагностовано у 41 (52,46%) пацієнта, показник НД складав 1,5 (1; 2) бали, 2 ступінь – у 15 (19,67%) хворих (НД - 7,5 (5,5; 13) бали), 3

ступінь – у 22 (27,87%) обстежених (НД - 21 (19; 24) бал). Отримано наступні дані щодо рівнів ГЦ та ВЕФР у обстежених хворих (Табл. 2).

Таблиця 2. Серединні значення показників гомоцистеїну та васкуло-ендотеліального фактора росту у хворих з транзиторною ішемічною атакою у вертебро-базиллярному басейні в залежності від ступеня неврологічного дефіциту

	ПЗО	I ст	II ст	III ст
ГЦ, мкмоль/л	6,5 (5,35; 7,65)	6,9 (6,5; 7,6)	9,55 (8,8; 10,3)*	12,5 (12,1; 19,5)*^
ВЕФР, пг/мл	45,7 (21,2; 62,15)	77,7 (36,8; 144,2)*	52,8 (50,6; 65,2)	136,3 (135,6; 139,2)*^”

Примітки: 1.* – достовірні зміни у порівнянні з ПЗО, $p < 0,05$; 2. ^ – достовірні зміни при порівнянні з I ступенем, $p < 0,05$; 3. ” – достовірні зміни при порівнянні з II ступенем, $p < 0,05$.

У групі хворих з I ступенем НД виявлено незначне зростання ГЦ порівняно з ПЗО (6,9 (6,5; 7,6) мкмоль/л та 6,5 (5,35; 7,65) мкмоль/л відповідно). У групі хворих з II ступенем НД ГЦ зростав більш істотно – 9,55 (8,8; 10,3) мкмоль/л ($p < 0,05$). При III ступені НД спостерігався найвищий показник ГЦ – 12,5 (12,1; 19,5) мкмоль/л ($p < 0,05$), виявлено його достовірну різницю порівняно з показником I ступеня ($p < 0,05$).

ВЕФР при I ступені НД достовірно підвищувався порівняно з ПЗО (77,7 (36,8; 144,2) пг/мл та 45,7 (21,2; 62,15) пг/мл відповідно ($p < 0,05$)), коли при II ступені спостерігалася тенденція до його зниження – 52,8 (50,6; 65,2) пг/мл. У групі хворих з III ступенем НД виявлено значне зростання ВЕФР порівняно з ПЗО – 136,3 (135,6; 139,2) пг/мл ($p < 0,05$), та порівняно з показниками I ($p < 0,05$) та II ступеня ($p < 0,05$) (Рис. 3.12.).

Обговорення. Накопичуючись у кровоносних судинах, ГЦ ушкоджує внутрішні стінки артерій, порушуючи структуру ендотелію, бере участь у процесах окислення холестерину, сприяє посиленню агрегації тромбоцитів й тромбоутворенню [8]. У групі хворих з I ступенем НД виявлено тенденцію до зростання ГЦ в 1,1 р. порівняно з ПЗО, з II ступенем – ГЦ зростав в 1,5 р. ($p < 0,05$), а при III ступені – в 1,9 р. ($p < 0,05$). Також при III ступені виявлено його достовірну різницю (в 1,8 р.) порівняно з показником I ступеня ($p < 0,05$). У хворих з церебро-васкулярною патологією значно частіше реєструються підвищені рівні ГЦ, який поступово зростає в періоді віддалених наслідків інсульту. Важкий перебіг церебро-васкулярної патології тісно поєднаний з ГГЦ, а більш глибокий неврологічний дефіцит, порушення когнітивних функцій і зниження м’язової сили в паретичних кінцівках реєструються у хворих з ГГЦ [8, 11]. При ГГЦ знижується синтез простагліну, а також посилюється ріст артеріальних клітин (ГЦ посилює синтез інтерлейкіну-6, який сти-

мулює проліферацію гладком'язевих клітин судинної стінки), що призводить до розвитку тромбоваскулярної патології [3]. ГЦ стимулює проліферацію гладком'язових клітин, збільшення синтезу ними колагену і потовщення інтими судинної стінки. Цей процес обумовлений як безпосередньою стимуляцією ГЦ синтезу циклінозалежних кіназ і ДНК в гладком'язевих клітинах, так і підвищенням чутливості до мітогенного ефекту ендотеліальних і тромбоцитарних факторів росту. В умовах ГГЦ також збільшується адгезія лейкоцитів до ендотелію, що обумовлено його пошкодженням і ендотеліальною дисфункцією [5, 7].

ВЕФР при I ступені НД достовірно підвищувався порівняно з ПЗО в 1,1 р. ($p < 0,05$), при II ступені спостерігалася тенденція до підвищення (в 1,2 р.), при III ступені виявлено значне зростання ВЕФР порівняно з ПЗО (в 2,9 р.) ($p < 0,05$), та порівняно з показниками I (в 1,8 р.) ($p < 0,05$) та II ступеня (2,6 р.) ($p < 0,05$). ВЕФР – гетеродимерний глікопротеїновий фактор росту, що продукується різними типами клітин. ВЕФР є чинником хемотаксису макрофагів і гладком'язевих клітин судин, а також індукує синтез металопротеїназ і молекул адгезії. Рівень ВЕФР залежить від тяжкості гіпоксії, рівня цитокінів, онкогенів і окислення ліпопротеїдів низької щільності. Значна кореляція спостерігається між концентраціями ВЕФР та загального холестерину, холестерину ліпопротеїдів низької щільності і тригліцеридів [6, 7]. При гіпертонічній хворобі вміст ВЕФР у плазмі крові зростає, що залежить, передусім, від ступеня артеріальної гіпертензії, статі та віку хворих, причому, при збільшенні рівня системного артеріального тиску та віку пацієнтів спостерігаються статистично більш значущі порушення, особливо у жінок [4].

Висновки. Отже, нами доведено, що ТІА у ВББ супроводжується ендотеліальною дисфункцією (підвищення ГЦ та ВЕФР), яка більш виражена з поглибленням НД.

Для оцінки прогнозу захворювання ми рекомендуємо застосовувати опитувальник для визначення ступеня НД при ТІА у ВББ та визначати такі маркери ендотеліальної функції, як ГЦ та ВЕФР.

Література

1. Coutts S. Diagnosis and Management of Transient Ischemic Attack. CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology. 2017;23(1):82-92.
2. Cruz-Flores S. Acute Stroke and Transient Ischemic Attack in the Outpatient Clinic. Medical Clinics of North America. 2017;101(3):479-494.
3. Ganguly P, Alam S. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. Nutrition Journal. 2015;14(1).
4. Karaman S, Leppänen V, Alitalo K. Vascular endothelial growth factor signaling in development and disease. Development. 2018; 145(14): dev151019.
5. Lai W, Kan M. Homocysteine-Induced Endothelial Dysfunction. Annals of Nutrition and Metabolism. 2015;67(1):1-12.

6. Lange C, Storkebaum E, de Almodóvar C, Dewerchin M, Carmeliet P. Vascular endothelial growth factor: a neurovascular target in neurological diseases. *Nature Reviews Neurology*. 2016;12(8):439-454.
6. Piccardi B, Giralt D, Bustamante A, Llombart V, García-Berrocoso T, Inzitari D et al. Blood markers of inflammation and endothelial dysfunction in cardioembolic stroke: systematic review and meta-analysis. *Biomarkers*. 2017;22(3-4):200-209.
7. Zaric B, Obradovic M, Bajic V, Haidara M, Jovanovic M, Isenovic E. Homocysteine and Hyperhomocysteinaemia. *Current Medicinal Chemistry*. 2019;26(16):2948-2961.

*Стаття надійшла до редакційної колегії 21.10.2019 р.
Рекомендовано до друку д.м.н., професором Клименком А.О.,
д.м.н., професором Прищуком Л.А. (м. Київ)*

ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN TRANSIENT ISCHEMIC ATTACK IN THE VERTEBRAL-BASILAR SYSTEM

**S. I. Henyk, V. A. Gryb, L. T. Maksymchuk,
O. O. Doroshenko, Ya. I. Henyk**

*Ivano-Frankivsk National Medical University;
Department of Neurology and Neurosurgery;
76018, Ivano-Frankivsk, Galyts'ka Str., 2;
e-mail: sofiya2185@gmail.com*

Transient ischemic attack (TIA) in the vertebral-basilar system (VBS) is characterized by an acute onset of focal neurological symptoms due to short-term local ischemia of the brain. According to various authors, temporary neurological manifestations of circulatory insufficiency in VBS can progress to complete stroke within 2-5 years in 30-50% of patients, leading to disability of about 80% of patients. Its diagnosis is associated with some difficulties due to the variability of clinical manifestations, clinical similarity with other diseases and, as a consequence, incorrect therapeutic tactics.

The aim of the study was to investigate changes of endothelial function in TIA in VBS by determining the levels of homocysteine (HC) and vascular endothelial growth factor (WEGF) at different stages of neurological deficiency (ND). 78 patients with TIA in VBS were examined. The questionnaire developed by us was used to determine the stage of ND in TIA. The level of HC was determined by enzyme-linked immunosorbent assay. WEGF was determined using the "sandwich" method of enzyme-linked immunosorbent assay. In the group of patients with stage I ND, a tendency to HC increase in 1.1 times was detected compared with almost healthy persons (AHP), stage II - HC increased in 1.5 times ($p < 0.05$), and stage III - in 1.9 times ($p < 0.05$). Also significant difference (1.8 times) was revealed at stage III compared to

the index of stage I ($p < 0.05$). WEGF at the 1st stage of ND significantly increased in 1.7 times in comparison with AHP ($p < 0.05$), at the 2nd stage there was a tendency to increase (in 1.2 times), at the 3d stage there was a significant increase in WEGF in comparison with AHP (in 2.9 times) ($p < 0.05$), and compared with indicators of I (in 1.8 times) ($p < 0.05$) and II stages (2.6 times) ($p < 0, 05$).

We have shown that TIA in VBS is accompanied by endothelial dysfunction (increase in HC and WEGF), which is more pronounced with aggravation of the ND. To evaluate the prognosis of the disease, we recommend using a questionnaire for determination the stage of ND in TIA in VBS and to identify markers of endothelial function such as HC and WEGF.

Key words: *transient ischemic attack, neurological deficit, homocysteine, vascular endothelial growth factor.*