

КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ

**МАКРО- И МИКРОЭЛЕМЕНТЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ
ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ
ПРИ РАЗЛИЧНОМ УРОВНЕ
НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКОГО БЕЛКА VEGF**

**Л.Л. Клименко ^{1*}, А.И. Деев ¹, И.С. Баскаков ¹, М.Н. Буданова ¹,
А.Н. Мазилина ², М.С. Савостина ², А.А. Турна ³, А.В. Кузнецова ⁴**

¹ Учреждение Российской академии наук Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва

² КБ № 123 ФМБА России, Одинцово, Московская область

³ ФГБОУ ДПО Институт повышения квалификации ФМБА России, Москва

⁴ Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва

РЕЗЮМЕ. В связи с высокой актуальностью проблемы поиска ранних биомаркеров нейротрофических дисфункций в клинических условиях на базе неврологического отделения КБ № 123 ФМБА России было проведено исследование уровня нейроспецифического белка VEGF и ряда макро- и микроэлементов в сыворотке крови при ишемической патологии мозга. В исследование были включены пациенты-мужчины ($n = 51$) с диагнозом «ишемический инсульт», средний возраст $65 \pm 0,3$ лет. Группа сравнения была представлена здоровыми добровольцами мужского пола ($n = 39$ человек), средний возраст $62 \pm 0,6$ лет. Концентрация VEGF определялась методом иммуноферментного анализа, концентрация элементов Mg, Mn, Cu, Se, Zn – методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной аргоновой плазмой (ИСП-МС). Показано, что у пациентов с церебральной патологией уровень VEGF был выше, чем в контрольной группе, в 4,7 раза, содержание меди в сыворотке крови превышало соответствующее значение контрольной группы в 1,2 раза, содержание марганца – в 1,8 раза, селена и цинка – в 1,3 раза. Также показано наличие достоверных корреляций между уровнем VEGF и всех изученных эссенциальных элементов. При этом для меди, марганца, магния и селена корреляция оказалась положительной ($R = 0,4-0,8$; $p < 0,05$), а для цинка – отрицательной ($R = -0,8$; $p < 0,05$). Полученные результаты свидетельствуют о вероятном наличии многоуровневых механизмов ишемического инсульта, представленных на молекулярном и биохимическом уровнях, а также о возможности разработки стратегии оптимизации репаративных процессов ишемизированной нервной ткани с помощью модуляции металло-лигандного гомеостаза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ишемический инсульт, VEGF, сыворотка крови, магний, марганец, медь, селен, цинк.

ВВЕДЕНИЕ

Ишемия головного мозга (ишемический инсульт) вызывает цепочку биохимических перестроек, приводящих к функционально-адаптационным изменениям в головном мозге (Скворцова и др., 2006; Albertson, Sharma, 2014). При этом от момента появления первых признаков нарушения мозгового кровообращения и процессов точечного накопления патологии до манифестации сосудистой катастрофы проходит доста-

точное количество времени – от нескольких часов до нескольких лет. Весьма актуальным является своевременное выявление только лишь намечающейся неоптимальности в состоянии мозговой ткани. Для этой цели необходима разработка биомаркеров самых ранних признаков неврологических нарушений и надежных критериев сохранности мозговой ткани при уже произошедшей сосудистой катастрофе (Бакунц, 2011).

* Адрес для переписки:

Клименко Людмила Леонидовна

E-mail: klimenkoll@mail.ru

Биохимическим маркером неврологических нарушений является эндотелиальный фактор роста сосудов, нейроспецифический белок VEGF. Семейство белков VEGFs представляет собой эндотелий-специфические полипептиды, секретируемые митогены, которые ускоряют рост сосудов, их пролиферацию и проницаемость (Клименко и др., 2015; Chan et al., 2017).

С другой стороны, неотъемлемой частью нейротрофической системы мозга являются макро- и микроэлементы (Радыш, Скальный, 2015). Возможно, изменение элементного баланса может служить предвестником нарастающей неоптимальности работы центральной нервной системы и играть роль маркера нейротрофических дисфункций задолго до их клинических проявлений.

В этой связи авторами было проведено сравнение уровней ряда эссенциальных химических элементов и VEGF у человека в норме и при ишемической патологии мозга.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на базе неврологического отделения КБ № 123 ФМБА России.

В программу были включены пациенты-мужчины ($n = 51$) с диагнозом «ишемический инсульт», средний возраст $65 \pm 0,3$ лет. Группа сравнения была представлена здоровыми добровольцами мужского пола ($n = 39$ человек), средний возраст $62 \pm 0,6$ лет.

У пациентов и здоровых добровольцев в сыворотке крови была определена концентрация VEGF (пг/мл) методом иммуноферментного анализа на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Лазурит» фирмы «Вектор-бест» (Россия).

Пробы крови брали свободным истечением из локтевой вены утром натощак. Методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной аргонной плазмой на спектрометре Nexion 300D (Perkin Elmer, США) была определена концентрация элементов Mg, Mn, Cu, Se, Zn в сыворотке крови (мкг/мл). Определение проводилось по стандартной методике (Иванов и др., 2003). Математическая обработка результатов выполнялась с помощью пакета прикладных программ Statistica 10 (StatSoft Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнение показателей уровня макро- микроэлементов и VEGF в сыворотке крови пациентов и здоровых добровольцев с использованием критерия Манна–Уитни (табл. 1) выявило достоверные различия в концентрации микроэлементов между группами здоровых добровольцев и пациентов с диагнозом «ишемический инсульт».

У пациентов с церебральной патологией был выше как уровень VEGF, так и уровень всех изученных микроэлементов. В частности, содержание меди в сыворотке крови превышало соответствующее значение контрольной группы в 1,2 раза, содержание марганца – в 1,8 раза, селена и цинка – в 1,3 раза. Превышение в уровне магния было не столь значительным, однако также статистически достоверным.

Корреляционный анализ по Спирмену, проведенный в выборке данных содержания VEGF и химических элементов в сыворотке крови пациентов с диагнозом «ишемический инсульт» (табл. 2) показал также наличие достоверных корреляций между уровнем VEGF и всех изученных эссенциальных элементов.

Таблица 1. Средние значения содержания VEGF и эссенциальных химических элементов в сыворотке крови здоровых и больных мужчин ($M \pm m$)

Показатель	Больные ($n = 51$)	Здоровые ($n = 39$)	Достоверность различия (p)
VEGF, пг/мл	$708,6 \pm 37,1$	$152,2 \pm 17,9$	$< 0,001$
Cu, мкг/мл	$1,27 \pm 0,23$	$1,09 \pm 0,19$	$0,008$
Mg, мкг/мл	$22,7 \pm 4,2$	$22,1 \pm 3,3$	$0,013$
Mn, мкг/мл	$0,0020 \pm 0,0005$	$0,0011 \pm 0,0004$	$< 0,001$
Se, мкг/мл	$0,113 \pm 0,002$	$0,090 \pm 0,001$	$< 0,001$
Zn, мкг/мл	$1,19 \pm 0,17$	$0,93 \pm 0,14$	$< 0,001$

Таблица 2. Коэффициенты корреляции между концентрациями VEGF и эссенциальных химических элементов в сыворотке крови у пациентов-мужчин (n = 51)

Элемент	Коэффициент корреляции (Spearman R)	Достоверность (p)
Cu	0,6	0,002
Mg	0,7	0,01
Mn	0,4	0,015
Se	0,8	0,014
Zn	-0,8	0,044

При этом для меди, марганца, магния и селена корреляция оказалась положительной, а для цинка – отрицательной.

В группе здоровых добровольцев достоверных корреляций между концентрацией VEGF и микроэлементов в сыворотке крови не выявлено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о вероятном наличии многоуровневых механизмов ишемического инсульта, представленных на молекулярном и биохимическом уровнях. Участие нейроспецифического белка VEGF в многофакторном этиопатогенезе ишемического инсульта в комплексе с показателями концентрации макро-

и микроэлементов дает основание для разработки стратегии оптимизации репаративных процессов ишемизированной нервной ткани с помощью модуляции металло-лигандного гомеостаза.

ЛИТЕРАТУРА

Бакунц Г.О. Эндогенные факторы церебрального инсульта. М.: Гэотар-медиа. 2011. 357 с.

Иванов С.И., Подунова Л.Г., Скачков В.Б., Тутельян В.А., Скальный А.В., Демидов В.А., Скальная М.Г., Серебрянский Е.П., Грабеклис А.Р., Кузнецов В.В. Определение химических элементов в биологических средах и препаратах методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой и масс-спектрометрией: Методические указания (МУК 4.1.1482-03, МУК 4.1.1483-03). М.: ФЦГСЭН МЗ РФ. 2003. 56 с.

Клименко Л.Л., Турна А.А., Савостина М.С., Баскаков И.С., Буданова М.Н., Мазилина А.Н., Деев А.И. Нейроспецифические белки в этиопатогенезе ишемического инсульта у лиц позднего возраста. Клиническая геронтология. 2015. Т.21, № 9–10. С. 69.

Радыш И.В., Скальный А.В., Введение в медицинскую элементологию: учеб. пособие. Москва: РУДН. 2015. 200 с.

Скворцова В.И., Евзельман М.А. Ишемический инсульт. Орел: Изд-во Александр Воробьев. 2006. 404 с.

Albertson M., Sharma J. Stroke: current concepts. S D Med. 2014, 67(11):455, 457–461, 463–465.

Chan S.J., Love C., Spector M., Cool S.M., Nurcombe V., Lo E.H. Endogenous regeneration: Engineering growth factors for stroke. Neurochem Int. 2017, 107:57–65.

MACRO AND TRACE ELEMENTS IN SERUM OF PATIENTS WITH ISCHEMIC STROKE AT DIFFERENT LEVEL OF THE VEGF NEUROSPECIFIC PROTEIN

L.L. Klimenko¹, A.I. Deev¹, I.S. Baskakov¹, M.N. Budanova¹, A.N. Mazilina², M.S. Savostina², A.A. Turna³, A.V. Kuznetsova⁴

¹ Semenov Institute of Chemical Physics at Russian Academy of Sciences, Kosygina st., 4 bld 1, Moscow, 119991, Russia

² Clinical Hospital № 123 at Federal Medical and Biological Agency of Russia, Krasnogorskoe shosse, 15, Odintsovo, Moscow region, 143000, Russia

³ Institute of Advanced Studies at Federal Medical and Biological Agency of Russia, Volokolamskoe shosse, 91, Moscow, 125371, Russia

⁴ Institute for Biochemical Physics at Russian Academy of Sciences, Kosygina st., 4, Moscow, 119334, Russia

ABSTRACT. Due to the high relevance of the problem of searching for early biomarkers of neurotrophic dysfunctions, the levels of the neurospecific protein VEGF and some of macro- and trace elements in the blood serum during ischemic brain pathology were studied in a clinical setting at the neurological department of Clinical Hospital No. 123 of the FMBA of Russia. The study included male patients (n = 51) diagnosed with ischemic stroke, mean age 65±0.3 years. The comparison group was represented by healthy male volunteers (n = 39), average age 62±0.6 years. Concentration of VEGF was determined by enzyme immunoassay, concentration of elements Mg, Mn, Cu, Se, Zn was deter-

mined by mass spectrometry with inductively coupled argon plasma (ICP-MS). It was found that in patients with cerebral pathology the level of VEGF was 4.7-fold higher than in the control group, the serum copper content exceeded the corresponding value of the control group 1.2-fold, the manganese content – 1.8-fold, the selenium and zinc content – 1.3-fold. The presence of significant correlations between the level of VEGF and all studied essential elements was also found. For copper, manganese, magnesium and selenium, the correlation was positive ($R = 0.4-0.8$; $p < 0.05$), and for zinc it was negative ($R = -0.8$; $p < 0.05$). The results indicate the probable presence of multilevel mechanisms of ischemic stroke, presented at the molecular and biochemical levels, as well as the possibility of developing a strategy to optimize the reparative processes of ischemic nervous tissue by modulating metal ligand homeostasis.

KEYWORDS: ischemic stroke, VEGF, serum, magnesium, manganese, copper, selenium, zinc.

REFERENCES

- Bakunts G.O. Endogenous factors of cerebral stroke. Moscow: Geotar media, 2011 [in Russ.]
- Ivanov S.I., Podunova L.G., Skachkov V.B., Tutelian V.A., Skalny A.V., Demidov V.A., Skalnaya M.G., Serebryansky E.P., Grabeklis A.R., Kuznetsov V.V. Determination of chemical elements in biological fluids and drugs by atomic emission spectrometry with inductively coupled plasma mass spectrometry: Methodical guidelines (MUK 4.1.1482-03, MUK 4.1.1483-03). Moscow, 2003 [in Russ.].
- Klimenko L.L., Turna A.A., Savostina M.S., Baskakov I.S., Budanova M.N., Mazilina A.N., Deev A.I. Neurospecific proteins in the etiopathogenesis of ischemic stroke in people of late age. *Klinicheskaya gerontologiya*. 2015. 21(9-10):69 [in Russ.].
- Radysh I.V., Skalny A.V. Introduction to medical elementology: a study guide. Moscow: RUDN, 2015 [in Russ.].
- Skvortsova V.I., Evzelman M.A. Ischemic stroke. Orel: Publishing House of Alexander Vorobiev, 2006 [in Russ.].
- Albertson M., Sharma J. Stroke: current concepts. *S D Med*. 2014, 67(11): 455, 457–461, 463–465.
- Chan S.J., Love C., Spector M., Cool S.M., Nurcombe V., Lo E.H. Endogenous regeneration: Engineering growth factors for stroke. *Neurochem Int*. 2017, 107:57–65.