

ИССЛЕДОВАНИЕ СИСТЕМЫ ИНСУЛИНОПОДОБНОГО ФАКТОРА РОСТА У ПАЦИЕНТОВ С АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИМИ СТЕНОЗАМИ СОННЫХ АРТЕРИЙ

А. А. ШМОНИН^{1,2}, Н. М. ЛАЗАРЕВА¹, Л. Н. СТУКОВА¹, Е. А. БОНДАРЕВА¹, В. В. АЧКАСОВА¹,
М. А. АЛЕКСАНДРОВА¹, Ю. В. ЭМАНУЭЛЬ¹, В. М. ЛАПИНА¹, С. В. ЛАПИН¹, Е. В. МЕЛЬНИКОВА¹

¹ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова

² Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова

Резюме. Введение. Мы предполагаем, что высокий уровень защитных протеинов, таких как инсулиноподобный фактор-1, -2 и пептид-3 связывающий инсулиноподобный фактор роста (IGF-1, IGF-2 и IGFBP-3), может уменьшить повреждение мозга у пациентов с высоким риском цереброваскулярного события. Наша гипотеза: высокий уровень сывороточной концентрации IGF-1, IGF-2 и IGFBP-3 ассоциирован с низкой частотой транзиторных ишемических атак и ишемических инсультов у пациентов с односторонними или двусторонними атеросклеротическими стенозами сонных артерий более 60%.

Материалы и методы. Мы исследовали 187 пациентов 50–80 лет с односторонними и двусторонними атеросклеротическими стенозами сонных артерий 60–99%. Критерии не включения: окклюзия сонных артерий, сахарный диабет, мерцательная аритмия, наличие в анамнезе геморрагического инсульта, кардиогенного или лакунарного ишемического инсульта, острый инсульт операции на артериях головы и шеи в анамнезе, анемия, прием Кортикостероидов, Актовегина, Церебролизина, Эритропоэтина, Семакса или др. нейропротекторов и препаратов, содержащих пептиды и белки, в течение 1 недели до включения в исследование, и другие. Для оценки степени стеноза использовали комплексные показатели по данным ультразвукового дуплексного сканирования (определение стеноза «по площади», «по диаметру» и «по скорости»). Значимым считался стеноз более 60% с одной или двух сторон. Включенные пациенты были разделены на 2 группы с «симптомными» и «асимптомными» стенозами. Для статистического анализа использовали критерий Краскила–Уолеса и Манна–Уитни.

Результаты. Только 40 больных не имели критериев не включения и были включены в исследование. Контрольную группу составили 19 пациентов без признаков атеросклероза и не имеющие критериев не включения. Сывороточная концентрация IGF-1, IGF-2 и IGFBP-3 во всех группах не выходила за рамки референтных интервалов для данного возраста. Уровень IGF-1, IGF-2 и IGFBP-3 в группе контроля значимо не отличался от группы пациентов с «асимптомными стенозами». В группе пациентов с «симптомными стенозами» сонных артерий уровень IGF-1 и IGFBP-3 был значимо ниже, чем в группах с «асимптомными стенозами» и контроля. Наша гипотеза подтвердилась. Для дальнейшего исследования требуется увеличить объем выборки и количество показателей для оценки нейропротективных протеинов.

Выводы. Развитие ишемического инсульта, ТИА и «немых инсультов» у пациентов со односторонними или двусторонними атеросклеротическими стенозами сонных артерий 60–99% ассоциировано с низкой сывороточной концентрацией IGF-1 и IGFBP-3, но не IGF-2. Снижение концентрации IGF-1 и IGFBP-3 в крови может быть рассмотрено как фактор риска ишемического инсульта.

Ключевые слова: ишемический инсульт, ТИА, атеросклероз, стеноз каротидных артерий, сывороточная концентрация IGF-1, IGF-2 и IGFBP-3.

INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR SYSTEM RESEARCH IN PATIENTS WITH ATHEROSCLEROTIC SYMPTOMATIC AND ASYMPTOMATIC CAROTID STENOSIS

A. A. SHMONIN^{1,2}, N. M. LAZAREVA¹, L. N. STUKOVA¹, E. A. BONDAREVA¹, V. V. ACHKASOVA¹,
M. A. ALEXANDROVA¹, Y. V. EMANUEL¹, V. M. LAPINA¹, S. V. LAPIN¹, E. V. MELNIKOVA¹

¹ First Pavlov State Medical University of Saint-Petersburg

² V. A. Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre

Summary. Background. It is generally held that high serum level of protective protein — Insulin-like Growth Factor-1, -2 and Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3 (IGF-1, IGF-2 and IGFBP-3) can reduce cerebral injury in patients with high risk of cerebrovascular disease. We hypothesized that high IGF-1, IGF-2 and IGFBP-3 serum level can associated with low frequency of transient ischemic attack (TIA) and stroke occurrence.

Methods. We searched 187 patients aged 50–80 years with bilateral or unilateral 60–99% atherosclerotic internal carotid artery stenoses. Our exclusion criteria were acute stroke or TIA, diabetes, carotid occlusion, history of heart or vascular surgical intervention, history of stroke in posterior circulation, systemic diseases, oncology, hematologic diseases, dementia or severe cognitive impairment and atrial fibrillation. Only 40 patients didn't have exclusion criteria and were included in our investigation. The control group consisted of 19 patients without carotid artery stenoses and exclusion criteria. We used a duplex ultrasound scanning for carotid artery stenoses verification and a typical immunopherment analysis to test IGF-1, IGF-2 and IGFBP-3 serum level. Symptomatic carotid stenosis criteria: stroke, TIA, residual neurological symptomatic (Babinski sign, anisoreflexia, hemihypostesia, Marinesco signs and other). Statistical analyses were performed with Kruskal–Wallis test and Mann–Whitney test.

Results. All results were in a reference range. IGF-1, IGF-2 and IGFBP-3 serum level in patients with asymptomatic carotid stenosis were not significantly differ from control group ($p > 0,05$). IGF-1 and IGFBP-3 serum level in patients with symptomatic carotid stenoses were significantly smaller then in control group ($p < 0,05$). Our hypothesis was confirmed. These findings demonstrate that patients with low IGF-1 and IGFBP-3 serum level can associated with high risk of cerebrovascular events (TIA, «silent» stroke and stroke) in patients with carotid stenoses. Function of this phenomenon requires further investigations.

Conclusion. These findings demonstrate that patients with low IGF-1 and IGFBP-3 serum level can associated with high risk of cerebrovascular events (TIA, «silent» stroke and stroke) in patients with carotid stenoses.

Keywords: stroke, transient ischemic attack, atherosclerosis, carotid artery stenosis, IGF-1, IGF-2 and IGFBP-3 serum level.

Данные для корреспонденции

Шмонин А.А. к. м. н., ассистент кафедры неврологии и нейрохирургии

с клиникой ГБОУ ВПО ПСПбГМУ имени акад. И. П. Павлова Министерства здравоохранения РФ

E-mail: langendorff@gmail.com

Введение

В России инсульт ежегодно развивается у 400–450 тысяч человек, примерно 200 тысяч из них погибают. В стране проживает более 1 миллиона человек, перенесших инсульт, причем 80% из них являются инвалидами. Приблизительно 87% инсультов составляют ишемические [1, 12]. В связи с этим возрастает значимость проблемы профилактики и лечения больных с инсультом.

В настоящее время не существует лабораторных тестов, позволяющих оценить риск развития ишемического инсульта [9]. Предложено огромное количество различных лабораторных маркеров (С-реактивный белок, липопротеиды низкой и очень низкой плотности, липопротеин (а), липопротеид-ассоциированная фосфолипаза А2 и многие другие), но не один из них не рекомендован для оценки риска ишемического инсульта в клинической практике [9].

В работах зарубежных коллег и наших исследованиях — на моделях экспериментального инсульта у животных доказаны нейропротективные свойства таких факторов роста и нейротрофинов, как инсулиноподобный фактор роста (IGF 1 и 2 типов) [5], фактора роста фибробластов, трансформирующего ростового фактора-бета, эритропоэтина, остеогенного белка-1 и многих других [4]. Все они при введении до или после индукции ишемии мозга сокращают размер инфарктной зоны на 35–50% [2]. Известно, что при ишемическом поврежде-

нии головного мозга также увеличивается экспрессия многих факторов роста и их концентрация в крови [6, 10].

Система инсулиноподобных факторов роста состоит из двух типов рецепторов (IGF1R and IGF2R), двух типов лигандов (IGF-1 and IGF-2) и семейства 6 высокоафинных IGF-связывающих протеинов (IGFBP 1–6), а также протеазы, вызывающие деградацию IGF-связывающих протеинов, — IGF-протеины осуществляют эндокринную, аутокринную и паракринную регуляцию процессов роста, развития и дифференцировки клеток и тканей организма. IGF-1 и IGF-2 — однопечочные полипептиды с мол. весом 7,5 кДа, состоящие из 67 и 70 аминокислотных остатков. IGF-1 и IGF-2 вовлечены в развитие нервной системы в онтогенезе: нейрогенез, миелинизация, синаптогенез и дендритный спрутинг, а также в механизмы нейропротекции [13, 14]. Высокий уровень сывороточной концентрации IGF-I ассоциирован с высоким показателем коэффициента интеллекта — «IQ» у детей [11].

По данным литературы, низкое содержание IGF 1 и 2 ассоциировано с высоким сосудистым риском (как инсульта, так и инфаркта миокарда) [8]. Соответственно, повышенное содержание данного фактора в крови было связано с положительными исходами у пациентов с сосудистыми факторами риска [3, 7]. Таким образом, по-

вышенное содержание факторов роста, имеющих ней-ропротективные свойства в крови, обеспечивает защиту мозга даже при наличии значительных факторов риска сосудистых осложнений, например, критических стенозов сонных артерий. Причем нейропротективный эффект развивается независимо от причин, вызвавших повышение защитных факторов роста в крови.

Гипотеза: у группы пациентов со стенозами сонных артерий имеется недостаточность системы «инсулиноподобного фактора роста», что проявляется снижением факторов роста в крови и развитием клинических проявлений заболевания (ишемического инсульта и транзиторной ишемической атаки) либо прогрессированием эндотелиальной дисфункции и атеросклероза. При нормальном состоянии системы «инсулиноподобного фактора роста» не развивается клинически значимых проявлений цереброваскулярной болезни (инсультов) или развиваются более легкие формы (транзиторные ишемические атаки). Для оценки системы инсулиноподобного фактора роста у пациентов предлагается исследовать три пептида: IGF-1, IGF-2 пептид-3 связывающий IGF (IGFBP-3).

Цель работы

Исследовать систему инсулиноподобного фактора роста у пациентов с атеросклеротическими стенозами сонных артерий.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе СПбГМУ. Исследование является клиническим, тип исследования — срезовое. Исследование одобрено локальным этическим комитетом СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. Включались пациенты, ожидающие операций по федеральной квоте в клинике факультетской хирургии СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, ФЦ сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова и Национальном медико-хирургическом центре им. Пирогова, а также пациенты, получающие лечение в клинике неврологии СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова.

Критерии включения

1. Возраст от 50 до 80 лет.
2. Односторонний или двусторонний атеросклеротический стеноз сонных артерий (ВСА) 60–99%.
3. Подписание информированного согласия.

Критерии невключения:

1. Окклюзия сонных артерий.
2. Наличие в анамнезе геморрагического инсульта, кардиогенного или лакунарного ишемического инсульта.
3. Острый инсульт (21 день от первых симптомов инсульта).
4. Сахарный диабет.
5. Наличие признаков системного васкулита.
6. Мерцательная аритмия.
7. Порок сердца и операции на сердце.
8. Нарушения ритма с синкопальными эпизодами.

9. Операции на артериях головы и шеи в анамнезе.
10. Прием Кортексина, Актовегина, Церебролизина, Эритропоэтина, Семакса или др. нейропротекторов и препаратов, содержащих пептиды и белки, в течение 1 недели до включения в исследование.
11. Наличие иных причин неврологического очагового дефицита (рассеянный склероз, болезнь Альцгеймера, Паркинсона и др.)
12. Выраженный когнитивный дефицит (по шкале MMSE менее 20 баллов).
13. Хроническая почечная недостаточность (или повышение креатинина более 0,135).
14. Хроническая печеночная недостаточность (или повышение АЛТ и АСТ более чем в 2 раза).
15. Наличие злокачественного онкологического заболевания или заболевания крови.
16. Декомпенсированные тяжелые хронические заболевания.
17. Тяжелая хроническая обструктивная болезнь легких.
18. Обострение хронических заболеваний, инфекции, острые заболевания (инфаркт миокарда, нестабильная стенокардия, ТЭЛА и т.д.).
19. Анемия (гемоглобин менее 100 г/л) или переливание крови в течение 1 мес.
20. Большая операция в течение 1 месяца.
21. Беременность, роды в течение последнего 1 года до исследования.

Пациенты со стабильной стенокардией и сердечной недостаточностью I–III, больные с облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей 1–3 степени (по классификации Фонтена–Покровского) были включены.

Все пациенты, включенные в исследование, прошли обследования: неврологический осмотр, опрос и сбор анамнеза, нейровизуализация, дуплексное сканирование брахиоцефальных артерий и/или церебральная ангиография, оценка по шкале MMSE, тест рисования часов, липидный спектр крови.

Для оценки системы инсулиноподобного фактора роста у пациентов исследовались три пептида (Mediagnost): IGF-1, IGF-2, пептид-3 связывающий IGF (IGFBP-3) с применением иммуноферментного анализа.

Группы пациентов

1. Пациенты со стенозами сонных артерий (60–99%), не имеющие в анамнезе острых нарушений мозгового кровообращения, резидуального неврологического дефицита (последствия «немых инсультов») и ТИА — «бессимптомные стенозы» (n = 20),
2. Пациенты со стенозами сонных артерий (60–99%), имеющие в анамнезе острые нарушения мозгового кровообращения, резидуальный неврологический дефицит (последствия «немых инсультов») и ТИА (n = 20),
3. Группа сравнения — пациенты 50–80 лет, не имеющие критериев невключения и без атеросклероза сонных артерий (n = 19).

ТИА и инсульты у пациентов должны быть в бассейне пораженной артерии, а патогенетический подтип — атеротромботический или атероэмболический.

Для оценки степени стеноза использовали комплексные показатели по данным ультразвукового дуплексного сканирования (определение стеноза «по площади», «по диаметру» и «по скорости»). Значимым считался стеноз более 60% с одной или двух сторон. Включенные пациенты были разделены на 2 группы с «симптомными» и «асимптомными» стенозами.

Критерием «симптомности» является наличие одного или нескольких признаков в анамнезе:

- ишемический инсульт или ТИА, соответствующие бассейну пораженной сонной артерии;
- последствия перенесенных «немых инсультов» в виде наличия очагового неврологического дефицита, в том числе микросимптомов — псевдобульбарный синдром, анизорефлексия или симптом Бабинского, соответствующих бассейну пораженной сонной артерии.

Группу контроля составили здоровые добровольцы — пациенты, не имеющие критериев невключения, инсультов, ТИА в анамнезе. У этой группы отсутствовали признаки атеросклероза по данным дуплексного сканирования брахиоцефальных артерий (комплекс интима-медиа в сонных артериях менее 1,0).

Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью программного пакета StatSoft Statistica v6.0. Значимость различий измеряемых параметров оценивалась с помощью непараметрического критерия Краскила–Уолеса (Kruskal-Wallis test) для нескольких независимых выборок и Манна–Уитни для двух независимых выборок. Все показатели на графиках представлены в виде медианы, 25% и 75% перцентилей в круглых скобках. Значения P менее чем 0,05 рассматривались как значимые.

Результаты

Всего было обследовано 187 пациентов с односторонними или двусторонними значимыми стенозами сонных артерий, имеющих критерии включения, и только 40 пациентов из них не имели критериев невключения. Основными причинами невключения были сахарный диабет, операции на сосудах в анамнезе, операции на сердце и мерцательная аритмия.

Сывороточная концентрация IGF-1, IGF-2 и IGFBP-3 во всех группах не выходила за рамки референтных интервалов для данного возраста. Использование критерия Краскила–Уолеса продемонстрировало наличие различий между группами по уровню IGF-1 ($p = 0,0068$), что позволяет использовать критерий Манна–Уитни для дальнейшего попарного сравнения. Уровень IGF-1 в группе контроля составил 146 (98; 162) мг/л, что значимо ($p = 0,93$) не отличалось от группы пациентов с «асимптомными стенозами» сонных артерий 143 (119; 170) мг/л (рис. 1). В группе пациентов

с «симптомными стенозами» сонных артерий уровень IGF-1 был значимо ниже — 90 (71; 112) мг/л, чем в группах с «асимптомными стенозами» и контроля ($p = 0,026$ и $p = 0,0008$, соответственно).

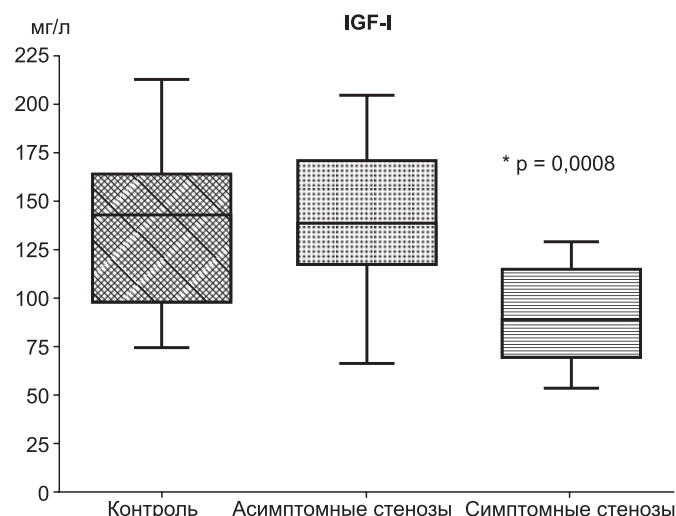


Рис. 1. Сывороточная концентрация IGF-1 во всех группах

Применение критерия Краскила–Уолеса также продемонстрировало наличие различий между группами по уровню IGF-2 ($p = 0,0228$), что позволяет использовать критерий Манна–Уитни для дальнейшего попарного сравнения. Уровень IGF-2 в группе контроля составил 1238 (943; 1530) нг/мл, что значимо ($p = 0,425$) не отличалось от группы пациентов с «асимптомными стенозами» сонных артерий 1287 (1056; 1789) нг/мл (рис. 2). В группе пациентов с «симптомными стенозами» сонных артерий уровень IGF-2 был не значимо ниже — 867 (742; 1050) нг/мл, чем в группе контроля ($p = 0,0554$), однако по сравнению с «асимптомными стенозами» было выявлено значимое снижение ($p = 0,008$).

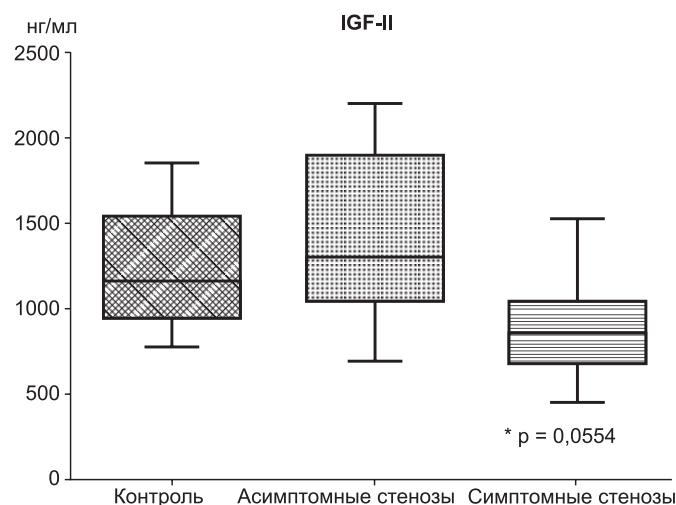


Рис. 2. Сывороточная концентрация IGF-2 во всех группах

Применение критерия Краскила–Уолеса продемонстрировало наличие различий между группами и по уровню IGFBP-3 ($p = 0,0228$), что позволяет использовать критерий Манна–Уитни для дальнейшего попарного сравнения. Уровень IGFBP-3 в группе контроля составил 3186 (3087; 3956) нг/мл, что значимо ($p = 0,9298$) не отличалось от группы пациентов с «асимптомными стенозами» сонных артерий 3451 (2570; 3987) нг/мл (рис. 3). В группе пациентов с «симптомными стенозами» сонных артерий уровень IGFBP-3 был значимо ниже – 2945 (2762; 3010) нг/мл, чем в группах с «асимптомными стенозами» и контроля ($p = 0,008$ и $p = 0,04$, соответственно).

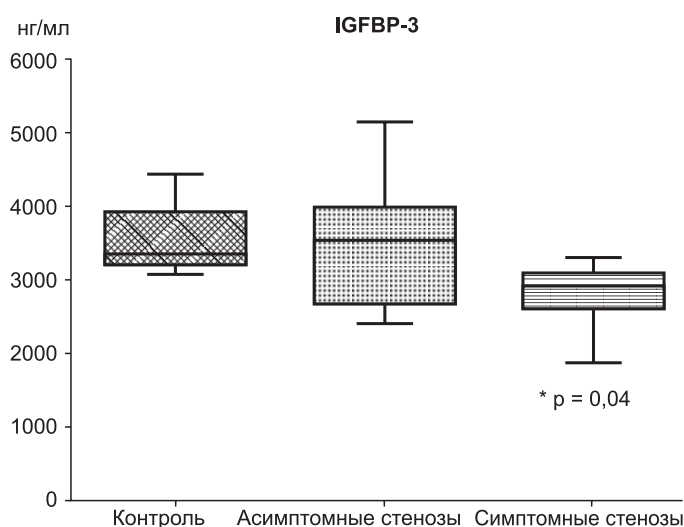


Рис. 3. Сывороточная концентрация IGFBP-3 во всех группах

Согласно нашим данным, пациенты с «асимптомными стенозами» сонных артерий более 60% не отличаются по сывороточной концентрации IGF-1, IGF-2 и IGFBP-3 от группы «здоровых добровольцев». Концентрация IGF-2 не изменялась во всех группах. То есть наше предположение о возможной роли снижения концентрации IGF-1, IGF-2 и IGFBP-3 в крови в развитии атеросклероза не подтвердилось. Однако уровень IGF-1 и IGFBP-3 в крови пациентов с «симптомными стенозами» был значимо ниже, чем в группах контроля и «асимптомных» стенозов. Эти результаты были получены на маленькой выборке. Из результатов следует, что пациенты, имеющие поражение головного мозга, при наличии значимых факторов риска отличаются низкой концентрацией в крови IGF-1 и IGFBP-3. То есть одним из факторов развития нарушения мозгового кровообращения является низкая концентрация факторов роста, обладающих нейропротективными свойствами. Для дальнейшего исследования требуется увеличить объем выборки и количество показателей для оценки нейропротективных протеинов.

Выводы

Развитие ишемического инсульта, ТИА и «немых инсультов» у пациентов со односторонними или двусторонними атеросклеротическими стенозами сонных артерий 60–99% ассоциировано с низкой сывороточной концентрацией IGF-1 и IGFBP-3, но не IGF-2. Снижение концентрации IGF-1 и IGFBP-3 в крови может быть рассмотрено как фактор риска ишемического инсульта.

Литература:

1. Данные сайта НАБИ: <http://www.nabi.ru>
2. Шмонин А.А., Мельникова Е.В., Власов Т.Д. Эндогенная защита при ишемическом повреждении мозга // Медлайн-экспресс 2011, № 1 (207), С.46–51.
3. Aberg D., Jood K., Blomstrand C., Jern C., Nilsson M., Isgaard J., Aberg N.D. Serum IGF-I levels correlate to improvement of functional outcome after ischemic stroke. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Jul;96 (7): E1055–64. doi: 10.1210/jc.2010–2802.
4. Bach L.A., Hsieh S., Sacano K.I., et al. Binding of mutants of human insulin-like growth factor II to insulin-like growth factor proteins 1–6 // *Biol. Chem.* 1992. V. 258. P. 9246–9254.
5. Blundell T.L., Bedarkar S., Humbel R.E. Tertiary structures, receptor binding and antigenicity of insulin-like growth factors // *Fed. Proceedings.* 1983. V. 42. P. 2592–2597
6. Clemmons D.R., Jones J.J., Busby W.H. Wright C. Role of insulin-like growth factor binding proteins in modifying IGF action // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1993. V. 692. P. 10–21
7. De Smedt A., Brouns R., Uyttenboogaart M., De Raedt S., Moens M., Wilczak N., Luijckx G.J., De Keyser J. Insulin-like growth factor I serum levels influence ischemic stroke outcome. *Stroke.* 2011 Aug;42 (8):2180–5. doi: 10.1161/STROKEAHA.110.600783.
8. Dirnagl U., Meisel A. Endogenous neuroprotection: mitochondria as gateways to cerebral preconditioning? // *Neuropharmacology.* 2008. — 55 (3). — P.334–344.
9. European Stroke Organisation (ESO) Executive Committee; ESO Writing Committee. Guidelines for management of ischaemic stroke and transient ischaemic attack 2008. *Cerebrovasc Dis.* 2008; 25 (5): 457–507. doi: 10.1159/000131083.
10. Glasscock G.F., Gelber S.E., Lemson C., et al. Pituitary control of growth in the neonatal rat: effects of neonatal hypophysectomy on somatic and organ growth, serum insulin-like growth factors (IGF) -I and II levels, and expression of IGF binding proteins // *Endocrinology.* 1990. V. 127. P. 1792–1803.
11. Gunnell D., Miller L.L., Rogers I., Holly J.M. ALSPAC Study Team. Association of insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor-binding protein-3 with intelligence quotient among 8- to 9-year-old children in the Avon Longitudinal Study of Parents and Children. *Pediatrics.* 2005 Nov; 116 (5): e681–6.
12. Gorelick P.B. Primary prevention of stroke: impact of healthy lifestyle. *Circulation.* 2008 Aug 26; 118 (9): 904–6. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.800169.
13. Le Roith D., Werner H., Faria T., et al. Insulin-like growth factor receptors. Implications for nervous system function // *Ann. N.Y. Acad.* 1993. V. 692. P. 22–32.
14. Yerlikaya E., Fulya A. The Insulin-Like Growth Factor System in the Human Pathology, *Hot Topics in Endocrine and Endocrine-Related Diseases*, Dr. Monica Fedele 2013. ISBN: 978–953–51–1080–4, InTech, DOI: 10.5772/55213. Available from: <http://www.intechopen.com/books/hot-topics-in-endocrine-and-endocrine-related-diseases/the-insulin-like-growth-factor-system-in-the-human-pathology>.