

ISSN 1607-419X
ISSN 2411-8524 (Online)
УДК 616.3

NR2-антитела как диагностический и прогностический биомаркер при инсульте

**М. П. Топузова, Т. М. Алексеева, Е. Б. Панина,
Т. В. Вавилова, М. Л. Поспелова, Н. Е. Иванова**
Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр
имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Топузова Мария Петровна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: marcun@rambler.ru

*Статья поступила в редакцию
16.07.19 и принята к печати 21.11.19.*

Резюме

Учитывая высокий процент инвалидизации и смертности в результате перенесенного инсульта, в настоящее время является перспективным поиск новых возможностей для улучшения ранней диагностики и оптимизации терапевтических подходов. В статье представлен обзор литературы, посвященной изучению NR2-антител к глутаматным N-метил-D-аспартат (NMDA) рецепторам в качестве биомаркера в остром периоде инсульта. Проведенный обзор показал, что данный биомаркер пригоден для определения наличия ишемического процесса в мозге и степени разрушения мозговой ткани, как в первые часы инсульта, так и в динамике. Кроме того, анализ NR2-антител может быть информативен для контроля за течением заболевания в случае увеличения размеров очага, что может способствовать своевременной коррекции лечения и позволит улучшить эффективность проводимой терапии. Важным параметром можно считать прогностический потенциал NR2-антител, что может быть использовано для оптимизации персонализированного терапевтического подхода. Однако малочисленность исследований NR2-антител в остром периоде инсульта на сегодняшний день требует дальнейшего изучения данного биомаркера.

Ключевые слова: инсульт, биомаркеры инсульта, NR2-антитела, N-метил-D-аспартат (NMDA) рецепторы, прогноз

Для цитирования: Топузова М. П., Алексеева Т. М., Панина Е. Б., Вавилова Т. В., Поспелова М. Л., Иванова Н. Е. NR2-антитела как диагностический и прогностический биомаркер при инсульте. Артериальная гипертензия. 2020;26(1):27–36. doi:10.18705/1607-419X-2020-26-1-27-36

NR2 antibodies as diagnostic and prognostic stroke biomarker

M. P. Topuzova, T. M. Alekseeva, E. B. Panina, T. V. Vavilova, M. L. Pospelova, N. E. Ivanova
Almazov National Medical Research Centre,
St Petersburg, Russia

Corresponding author:

Mariya P. Topuzova,
Almazov National Medical
Research Centre,
2 Akkuratov street, St Petersburg,
197341 Russia.
E-mail: marcun@rambler.ru

*Received 16 July 2019;
accepted 21 November 2019.*

Abstract

Given the high percentage of disability and mortality resulting from a stroke, search of new ways to improve early diagnosis and optimize therapeutic approaches is highly relevant. The article reviews the studies of NR2 antibodies to glutamate N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors as a biomarker in acute stroke. The review shows that this biomarker is suitable for determining the presence of ischemic process in the brain and the degree of destruction of brain tissue, both in the first hours of stroke and at follow-up. In addition, the analysis of NR2 antibodies can be informative to predict the worsening, the increase in the locus size, which can contribute to the timely correction of treatment and will improve the effectiveness of the therapy. The prognostic potential of NR2 antibodies can be used for personalized therapeutic approach. However, currently the lack of studies of NR2 antibodies in acute stroke requires further study of this biomarker.

Key words: stroke, biomarkers of stroke, NR2-antibodies, N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors, prognosis

For citation: Topuzova MP, Alekseeva TM, Panina EB, Vavilova TV, Pospelova ML, Ivanova NE. NR2 antibodies as diagnostic and prognostic stroke biomarker. Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension. 2020;26(1):27–36. doi:10.18705/1607-419X-2020-26-1-27-36

Введение

Инсульт по-прежнему остается ведущей причиной тяжелой инвалидизации во всем мире [1], что, несомненно, требует поиска новых диагностических возможностей, способных улучшить раннее распознавание инсульта, дифференцирование с транзиторной ишемической атакой (ТИА), а также ишемического (ИИ) и геморрагического инсульта (ГИ) между собой в первые часы от начала симптомов. Существующие методы диагностики не всегда информативны и повсеместно доступны, поэтому срочно необходимы новые диагностические инструменты, в том числе и для улучшения возможности отбора пациентов для дифференцированной терапии в острейшем периоде [2]. Наиболее перспективным для этой цели видится использование биомаркеров — веществ, которые можно измерить в организме или его продуктах, а изменение их концентрации способ-

но отражать связь с заболеванием, при котором они исследуются [3]. Эти вещества, высвобождающиеся в периферическую кровь и цереброспинальную жидкость (ЦСЖ) во время церебрального повреждения, могут являться индикаторами динамического процесса, происходящего в мозге, и могут не только помочь в идентификации и дифференцировании инсульта, но и быть полезными для установления стадии и объема ишемического поражения (например, в качестве маркеров окончательно инфарктной ткани и потенциально жизнеспособной ткани, соответствующей полутени), а также для прогнозирования исходов ишемического инсульта, в том числе на фоне тромболитической терапии (например, увеличение объема поражения, мониторинг терапевтического ответа и возможных побочных эффектов, связанных с лечением) [4]. Также надо учитывать, что оптимальные биомаркеры инсульта

должны обнаруживаться с помощью быстрых, недорогих и надежных методов [5].

В последние годы ведется большое количество исследований по поиску биомаркеров, которые могли бы быть использованы в остром периоде инсульта. Однако данная проблема все еще остается на стадии исследований, и до сих пор не найдено вещества, которое можно было бы использовать в качестве быстро определяемого, доступного и информативного биомаркера в клинической практике.

Известно, что церебральная ишемия приводит к каскаду молекулярных событий, которые запускаются вследствие снижения мозгового кровотока и последующей энергетической недостаточности. Эта энергетическая недостаточность приводит к метаболическим нарушениям с изменениями уровня кислорода, метаболизма глюкозы и истощением энергетических запасов, что в свою очередь вызывает высвобождение глутамата [6].

Высвобождение глутамата происходит, когда кровоснабжение нейронов уменьшается ниже порогового уровня (ниже 20 мл / 100 г / мин) [7]. Следует отметить, что некроз нейронов возникает при кровотоке 17 мл / 100 г / мин, поддерживаемом в течение 180 минут и более [8].

Снижение содержания аденозинтрифосфата в результате аноксии вызывает сбой энергетических процессов в клетке, что приводит к накоплению ионов Na^+ внутри нейронов и облегчению деполяризации клеточных мембран. Стимулированное деполяризацией поступление Ca^{2+} приводит к облегчению выделения глутамата, содержащегося во внутриклеточных везикулах, что ведет к повреждению нейронов [9]. Увеличение количества внеклеточной глутамины, высвобождаемой из поврежденных нейронов, в свою очередь увеличивает гидролиз глутамина с образованием внеклеточного глутамата [10].

Глутамат является основным возбуждающим нейротрансмиттером центральной нервной системы (ЦНС) [11, 12], крайне необходимым для многочисленных ключевых нейрональных функций. Глутамат накапливается в везикулах в пресинаптических терминалах в пределах синапсов и затем высвобождается из этих везикул, связывается с глутаматными рецепторами, экспрессируемыми на постсинаптических мембранах, и активирует их, что в конечном итоге приводит к эффектам, которые необходимы для функционирования здорового мозга. Тем не менее избыток глутамата вызывает массовую гибель нейронов и повреждение головного мозга из-за эксайтотоксичности [13].

Гибель нейронов в клеточной культуре происходит при концентрации выше 10 мкмоль [14]. Длительная и чрезмерная стимуляция глутаматергиче-

ских рецепторов происходит, когда внеклеточный глутамат приближается к 100 мкмоль [15].

Это состояние обозначается как эксайтотоксичность — длительная и чрезмерная (токсическая) стимуляция глутаматных рецепторов [16]. Когда запасы клеточной энергии падают, повышенное высвобождение и нарушение поглощения глутамата опосредуют токсическое накопление внеклеточного глутамата, что приводит к чрезмерной стимуляции рецепторов глутамата и, как следствие, — к гибели нейронов [17].

Глутамат-опосредованная эксайтотоксичность является основным патологическим процессом, возникающим при ишемических процессах, повреждающих мозг, как острых, так и хронических [13, 18, 19].

N-метил-*D*-аспарат (*NMDA*) рецепторы

NMDA-рецепторы экспрессируются преимущественно в нейронах ЦНС, хотя их экспрессия также присутствует в эпителиальных клетках головного мозга [20], олигодендроцитах [21] и в энтеральной нервной системе [22, 23].

N-метил-*D*-аспарат (*NMDA*) рецепторы являются основными рецепторами в ЦНС, которые контролируют синаптическую пластичность [24], играют важную роль в развитии, обучении и памяти [25]. Существует несколько типов и подтипов глутаматных рецепторов (*GluR*), которые принадлежат к двум основным семействам: ионотропные рецепторы глутамата (*iGluR*), которые являются рецепторами ионных каналов, и метаболитические рецепторы глутамата (*mGluR*), которые связаны с *G*-белком. Оба вида этих рецепторов активируются глутаматом [26].

NMDA-*iGluR* представляют собой гетероолигомеры, состоящие из двух обязательных субъединиц *NR1* и *NR2*, ответственных за инициирование многих форм синаптической пластичности в различных областях мозга [24]. Две глицин-связывающие *NR1* субъединицы и две глутамат-связывающие *NR2* субъединицы собираются вместе, образуя гетеротетрамер [27, 28], который состоит из двух обязательных субъединиц *NR1* и двух из четырех возможных субъединиц *NR2*: *NR2A*, *NR2B*, *NR2C* и *NR2D*. Субъединицы *NR2* во взрослом головном мозге обычно представляют собой *NR2A* и *NR2B*, и отношение *NR2B* к *NR2A* уменьшается с возрастом у различных видов животных и людей. Состав *NR2* определяет свойства каналов *NMDA*-рецепторов и степень синаптической пластичности. Относительное преобладание *NR2B* в ювенильном мозге придает ему большую пластичность в сравнении с мозгом взрослого.

Помимо субъединиц NR1 и NR2, существует также третья субъединица NR3, которая является регуляторной субъединицей, снижающей активность каналов NMDA-рецептора [29].

Изменения в экспрессии субъединиц NMDA-рецептора были продемонстрированы при различных неврологических расстройствах. В эксперименте церебральной ишемии было выявлено, что экспрессия субъединицы NR2 повышается [30], тогда как экспрессия субъединицы NR1 подавляется [31].

Эмболическая или тромботическая окклюзия сосудов мозга стимулирует каскад нейротоксичности, приводящей к повреждению гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), потеря целостности которого приводит к повреждению нейронов и глии. Кроме того, активированные тромбином сериновые протеазы вызывают расщепление синаптических NMDA-рецепторов [32], как субъединиц NR2A, так и NR2B [33, 34].

В результате повышенные концентрации пептидов, образующихся при расщеплении NMDA-рецепторов, могут попасть в кровоток. Аномально высокие концентрации этих пептидных фрагментов, которые действуют как чужеродные антигены после выхода из мозга, инициируют иммунный ответ и выработку аутоантител [35].

В последние годы стало ясно, что массивное повреждение головного мозга может вызывать не только избыток глутамата, но и некоторых типов антител против рецепторов глутамата (NR-антитела), которые присутствуют в сыворотке крови (СК) и в ЦСЖ пациентов при различных неврологических заболеваниях. Семейство NR-аутоантител представляется наиболее распространенным, мощным и опасным в отношении мозговой ткани, в связи с чем представляет значительный интерес для изучения в на-

стоящее время. Высокий уровень в ЦНС различных типов NR-антител вследствие их интратекальной продукции обуславливает их свойства нарушать передачу сигналов нейронами и вызывать повреждение головного мозга [26].

NR-антитела и в частности, их подтипы NR1 и NR2 присутствуют у пациентов с различными неврологическими заболеваниями, как в СК, так и в ЦСЖ (табл. 1) [26]. Было установлено, что концентрация NR2-антител в СК здоровых добровольцев составляет в среднем 0,33 нг/мл (0,02–1,15 нг/мл) [36].

Кроме того, ранее было выявлено, что дооперационные концентрации NR2-антител в сыворотке могут прогнозировать тяжелые нежелательные явления со стороны нервной системы после кардиохирургических операций с использованием аппарата искусственного кровообращения. У пациентов с повышенным уровнем NR2-антител $\geq 2,0$ нг/мл до операции вероятность возникновения неврологических осложнений после операции была почти в 18 раз выше, чем у пациентов с отрицательным тестом [37].

Также в литературе имеются данные о том, что уровень NR2-антител может прогнозировать выживаемость после сердечно-легочной реанимации. Так, повышенный уровень NR2-антител в СК через 1 час после сердечно-легочной реанимации коррелировал с более низкой 72-часовой выживаемостью [38].

Выявленный значимо более высокий уровень NR2-антител у новорожденных с перинатальной асфиксией в сравнении со здоровым контролем позволил исследователям говорить о возможности прогнозирования развития гипоксической ишемической энцефалопатии после перенесенной перинатальной асфиксии [39].

Таблица 1

АНТИТЕЛА К NMDA-РЕЦЕПТОРАМ ПРИ НЕВРОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Заболевание	Подтип антител
Эпилепсия	NR2
Анти-NMDA-рецепторный энцефалит	NR1
Системная красная волчанка с нейropsychическими проявлениями и без них	NR2
Паранеопластический энцефалит	NR2
Herpes Simplex Virus энцефалит	NR1/NR2
Дисфункция памяти и депрессия при синдроме Шегрена	NR2
Медленно прогрессирующие когнитивные нарушения	NR1/NR2
Мания	NR2
Шизофрения	NR1/NR2
Паранеопластическая мозжечковая атаксия	mGluR1
Лимфома Ходжкина и лимбическая энцефалопатия (Синдром Офелии)	mGluR5
Транзиторная ишемическая атака / инсульт	NR2

Таблица 2

**ХАРАКТЕРИСТИКА ИССЛЕДОВАНИЙ NR2-АНТИТЕЛ,
ВКЛЮЧЕННЫХ В ОБЗОР**

Вид инсульта (размер выборки, чел.)	Биома- териал	Уровень анти-NMDA-NR2-антител и выявленные связи	Место проведения исследо- вания	Авторы, год [источник]
ИИ (70), КГ (200)	СК	<ul style="list-style-type: none"> ▪ повышен, максимальная концентрация при ИИ через 9–12 часов; ▪ прямая связь с тяжестью ИИ; ▪ наиболее благоприятное течение с хорошим восстановлением нарушенных функций при нормализации уровня NR2-антител к третьему дню 	Москва, Россия	Гусев и др., 1996 [40]
ИИ (23), ТИА (14), ГИ (18), КГ (30)	СК	<ul style="list-style-type: none"> ▪ повышен при ТИА, ИИ и ГИ, максимальная концентрация при ИИ через 9–12 часов, нет пика при ГИ — примерно одинаково повышен в первые 72 часа; ▪ при ИИ и ТИА выше, чем при ГИ; ▪ при ИИ выше, чем при ТИА; ▪ прямая связь объемом инфаркта; ▪ концентрация выше при локализации инфаркта в кортикальной зоне (объемом более 25 см³) 	Санкт- Петербург, Россия	Dambinova et al., 2002 [35]
ИИ (31), ТИА (56), ГИ (18), КГ (230)	СК	<ul style="list-style-type: none"> ▪ повышен при ТИА, ИИ и ГИ, максимальная концентрация при ИИ через 9–12 часов, при ГИ через 3–6 часов; ▪ при ИИ и ТИА выше, чем при ГИ; ▪ прямая связь с объемом инфаркта; ▪ прямая связь с тяжестью ИИ 	Санкт- Петербург, Россия	Dambinova et al., 2003 [41]
Острый ИИ или ТИА (55), острый ИИ или ТИА + предшествующий ИИ в пе- риод ≤ 6 месяцев (35), острый ИИ или ТИА + предшествующий ИИ в пе- риод ≥ 6 месяцев (30), КГ (109)	СК	<ul style="list-style-type: none"> ▪ повышен при остром ИИ в первые 72 часа по сравнению с контролем; ▪ выше у женщин, чем у мужчин; ▪ наиболее высокий при остром ИИ при наличии предшествующих ИИ в период ≤ 6 месяцев, при остром ИИ при наличии предшествующих ИИ ≥ 6 месяцев выше, чем при остром ИИ без предшествующих инсультов; ▪ при повышении на одну единицу риск развития ИИ увеличивается в 2,5 раза 	Декейтер, Джорджия, США	Weissman et al., 2011 [45]
ИИ (101), КГ (100)	Плазма	<ul style="list-style-type: none"> ▪ повышен при ИИ в первые 72 часа, наибольшая концентрация в период 1–12 часов; ▪ прямая связь с объемом кортикального инфаркта (объемом до 200 мл) 	Кеннесо, Джорджия, США	Dambinova et al., 2012 [42]
ИИ (49), ГИ (23), КГ (52)	СК	<ul style="list-style-type: none"> ▪ повышен при инсульте в первые 72 часа, наибольшая концентрация в период 1–12 часов; ▪ при ИИ выше, чем при ГИ 	Клуж- Напока, Ру- мыния	Stanca et al., 2015 [33]

Вид инсульта (размер выборки, чел.)	Биоматериал	Уровень анти-NMDA-NR2-антител и выявленные связи	Место проведения исследования	Авторы, год [источник]
ТИА (20), КГ (20)	СК	▪ повышен у женщин в 2 раза по сравнению с контролем	Москва, Россия	Klimenko et al., 2016 [46]
ИИ (84), ТИА (36), КГ (20)	Плазма	▪ повышен при ИИ в первые 72 часа, наибольшая концентрация в период 1–12 часов; ▪ при ИИ выше, чем при ТИА; ▪ при поражении КБ выше, чем ВББ; ▪ прямая связь с объемом ишемии	Санкт-Петербург, Россия	Дамбинова и др., 2017 [43]
ИИ (30), КГ (30)	СК	▪ повышен в первые 24 часа на 38% при ИИ по сравнению с контролем	Москва, Россия	Skalny et al., 2017 [47]

Примечание: ИИ — ишемический инсульт; КГ — контрольная группа; ТИА — транзиторная ишемическая атака; ГИ — геморрагический инсульт; СК — сыворотка крови; КБ — каротидный бассейн; ВББ — вертебрально-базилярный бассейн.

Учитывая данные о способности NR2-антител отражать степень повреждения мозговой ткани, нами был проведен анализ литературы на предмет изучения NR2-антител в качестве биомаркера в остром периоде инсульта. Поиск проводили в базах данных PubMed, Scopus, ELibrary. В качестве ключевых слов при проведении поиска использовали: NR2-антитела/NR2-antibodies, NMDA-рецепторы/NMDA-receptors, глутамат/glutamate, инсульт/stroke. Уделяли внимание определению периода наибольшей (пиковой) концентрации NR2-антител в крови, возможности его использования для дифференцирования ИИ и состояний, его имитирующих, ИИ и ТИА, ИИ и ГИ, связи биомаркера с объемом очага в головном мозге, тяжестью неврологического дефицита и функциональным исходом. Количество исследований, посвященных изучению NR2-антител при остром нарушении мозгового кровообращения, невелико. Нам удалось найти всего 10 подходящих работ, проведенных в период с 1996 по 2017 годы (табл. 2).

Уровень NR2-антител и его колебания

Повышение уровня NR2-антител в крови по сравнению со здоровым контролем было обнаружено в большинстве проанализированных исследований как при ишемическом поражении мозга (в том числе ТИА) [40–47], так и при геморрагическом [35, 41, 44]. При этом максимальная концентрация при ИИ появлялась в период от 1 до 12 часов от начала симптомов [40, 42–44] или в период от 9 до 12 часов [35, 41]. Так, С. А. Дамбиновой и соавторами (2002, 2003) был выявлен пик концентрации при ИИ, который приходился на период 9–12 часов (с максимальной концентрацией $7,90 \pm 1,23$ нг/мл) [35, 41].

При ГИ пик концентрации NR2-антител в крови определялся в период от 3 до 6 часов [41] или от 1 до 12 часов от начала симптомов [44], или же был одинаково повышен на протяжении первых 72 часов [35] (от $1,65 \pm 0,15$ до $1,72 \pm 0,12$ нг/мл) с последующим постепенным снижением. Это может отражать различную скорость разрушения ГЭБ при ИИ и ГИ.

Кроме того, была выявлена большая степень повышения уровня NR2-антител в крови в остром периоде ИИ и при ТИА у женщин по сравнению с мужчинами [45, 46].

Повышение уровня NR2-антител было отмечено и в крови пациентов с сахарным диабетом без инсульта по сравнению со здоровым контролем ($3,0 \pm 1,9$ против $1,57 \pm 0,8$ нг/мл, $p = 0,0008$) [36]. Однако у пациентов с артериальной гипертензией уровни NR2-антител не были связаны ни с систолическим артериальным давлением, ни с диастолическим артериальным давлением, ни с длительностью артериальной гипертензии, ни с индексом массы тела, ни с тяжестью ретинопатии или дислипидемией [48].

В исследовании J. D. Weissman и соавторов (2011) определяли уровень NR2-антител в первые 72 часа в СК пациентов с острым ИИ или ТИА в зависимости от предшествующих ИИ в период ≤ 6 месяцев / ≥ 6 месяцев. Они обнаружили, что уровень NR2-антител был выше у пациентов, имевших в анамнезе перенесенный ИИ в период ≤ 6 месяцев по сравнению с пациентами, перенесшими ИИ в период ≥ 6 месяцев или без предшествующих инсультов. Кроме того, у мужчин с острым инсультом, но без предшествующего инсульта в анамнезе было только незначительное повышение уровня NR2-антител по сравнению со здоровым контролем ($p = 0,25$), но при

повторном остром ИИ, предшествующих ИИ в период ≤ 6 месяцев от первого ИИ, было значительное повышение по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$) [45]. Это может свидетельствовать о том, что повреждение ГЭБ после перенесенного ИИ сохраняется длительно (более 6 месяцев).

По данным С. А. Дамбиновой и соавторов (2003, 2012), при концентрации NR2-антител $> 1,8$ нг/мл в СК чувствительность анализа для ИИ составила 100 %, для ТИА — 98 %, специфичность для ИИ и ТИА — 89 % [41], при концентрации $\geq 1,0$ мкг/л для ИИ — 92 %, специфичность — 96 % [42].

Таким образом, данный биомаркер может давать информацию о наличии ишемического поражения мозга, отражать степень повреждения мозга в остром периоде ИИ, а также, учитывая эти возможности, может быть использован для определения изменений состояния мозговой ткани в динамике и контроля эффективности терапии.

Связь уровня NR2-антител с объемом и локализацией очага

Во всех работах, оценивающих взаимосвязь уровня NR2-антител с объемом очага поражения при инсульте (по данным нейровизуализирующих методов: компьютерная и/или магнитно-резонансная томография), была определена положительная связь [35, 41–43] с объемом очага на диффузионно-взвешенном изображении (DWI) ($r = 0,79$, $p < 0,0001$) [41]. Также было выявлено, что концентрация NR2-антител была ниже у пациентов с инфарктами, локализованными в задней области мозга, и значительно выше при инфарктах в кортикальной зоне [35, 42]. В работе С. А. Дамбиновой (2017) было обнаружено, что при поражении каротидного бассейна уровень NR2-антител выше, чем при поражении вертебрально-базилярного бассейна [43].

Следовательно, данный маркер целесообразно использовать для оценки масштабности поражения ткани головного мозга при инсульте, однако делать выводы о локализации очагов по концентрации NR2-антител не представляется достаточно обоснованным.

Уровень NR2-антител как показатель тяжести инсульта и прогностический маркер

Была определена прямая связь уровня NR2-антител с тяжестью состояния по шкале инсульта Национального института здоровья (National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS) в остром периоде инсульта ($r = 0,91$, $p < 0,0001$) [41].

Кроме того, степень повышения NR2-антител имела прогностическое значение. В работе Е. И. Гусева (1996) наиболее благоприятное течение инсуль-

та с хорошим восстановлением нарушенных функций наблюдалось, когда к третьему дню развития заболевания наблюдалась стабильная нормализация уровня NR2-антител [40].

Также было замечено, что у пациентов в состоянии ступор-комы не наблюдалось повышения уровня NR2-антител в первые дни ИИ, что, вероятно, отражало развитие иммунодефицитного состояния, при этом снижение уровня NR2-антител до субнормальных значений было крайне неблагоприятным прогностическим признаком, как правило, приводившим к смерти пациента [40]. Анализируя уровень NR2-антител и сопоставляя его с клиническим течением заболевания, можно также предполагать срыв процессов ауторегуляции в мозге при несоответствии тяжести состояния и концентрации NR2-антител, что может являться плохим прогностическим признаком.

К тому же J. D. Weissman с коллегами (2011) представили данные о том, что при увеличении уровня NR2-антител на одну единицу риск инсульта увеличивался в 2,5 раза [45].

Таким образом, можно сказать, что уровень NR2-антител может быть полезен в качестве средства для мониторинга осложнений и эффективности терапии, возможности оценивания перспективы реабилитационного потенциала и прогнозирования исхода инсульта, а также может рассматриваться как фактор риска инсульта.

Возможность использования уровня NR2-антител для дифференцирования ТИА, ИИ и ГИ

Количество работ, исследовавших возможность применения уровня NR2-антител для дифференцирования ИИ от других состояний, а также ИИ и ГИ, очень малочисленно.

С. А. Дамбинова и соавторы (2002, 2003, 2017) обнаружили значимо более высокий уровень NR2-антител у пациентов с ТИА и ИИ по сравнению со здоровым контролем, пациентами без инсульта, но с артериальной гипертензией / атеросклерозом и пациентами с ГИ. При этом при ИИ уровень NR2-антител был выше, чем при ТИА [35, 41, 43].

D. M. Stanca с коллегами (2015) определили, что уровень NR2-антител был значительно более высоким при ИИ, чем при ГИ. Тем не менее авторы сделали вывод о том, что NR2-антитела не могут быть использованы в качестве биомаркера, способного отличить ИИ и ГИ, однако при комбинации с определением глиального фибриллярного кислого белка они могут способствовать дифференцировке этих двух состояний в первые 12 часов после инсульта с чувствительностью и специфичностью 94 % и 91 % соответственно [44].

Ориентируясь на имеющиеся исследования, можно говорить лишь о том, что уровень NR2-антител способен отражать ишемическое поражение мозга, однако исключить геморрагический процесс, основываясь на значениях этого показателя, не представляется возможным. Данные исследователей [44] показывают, что необходима дальнейшая работа по изучению дифференциально-диагностических возможностей оценки NR2-антител, и вполне возможно включение этого биомаркера в диагностическую панель наряду с другими биомаркерами, совместное определение которых может стать информативным.

Обсуждение

Поиск новых лабораторных диагностических маркеров при инсульте, несомненно, на сегодняшний день представляется весьма перспективным направлением.

Определение уровня NR2-антител в крови является относительно малозатратной и быстровыполнимой процедурой. Проведенный анализ литературы показал, что NR2-антитела можно считать подходящим веществом на роль биомаркера инсульта, особенно ишемического. Имеющиеся в литературе данные позволяют говорить о перспективности применения NR2-антител для определения наличия ишемического процесса в мозге и степени разрушения мозговой ткани, как в первые часы от развития инсульта, так и в динамике. Кроме того, анализ NR2-антител может быть информативен для контроля за течением заболевания в случае увеличения размеров очага, что может способствовать своевременной коррекции лечения, а значит, позволит улучшить эффективность проводимой терапии. Важным параметром можно считать прогностический потенциал NR2-антител, что может быть использовано для оптимизации персонализированного терапевтического подхода.

Однако количество проведенных исследований по изучению NR2-антител при инсульте и ТИА невелико на сегодняшний день, объем выборок почти во всех представленных исследованиях небольшой, а их структура различна. Вероятно, что исследование данного биомаркера в однородных и объемных группах пациентов сможет получить более однозначные результаты.

Заключение

Учитывая высокий диагностический потенциал NR2-антител, необходимо продолжение исследований по изучению этого биомаркера, возможно, с включением его в диагностическую панель вместе с другими веществами, подходящими на роль биомаркеров при инсульте. Вероятно, что совместное применение нескольких маркеров позволит более

точно определять необходимые для улучшения диагностики параметры, а также даст более четкую картину диагностической ценности каждого биомаркера в отдельности.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Feigin VL, Norrving B, George MG, Foltz JL, Roth GA, Mensah GA. Prevention of stroke: a strategic global imperative. *Nat Rev Neurol*. 2016;12(9):501–512. doi:10.1038/nrneurol.2016.107
2. Castellanos MI, Serena J. Applicability of biomarkers in ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis*. 2007;24(1):7–15. doi.org/10.1159/000107374
3. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Current Opinion in HIV and AIDS*. 2010;5(6):463–466. doi:10.1097/coh.0b013e32833ed177
4. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate end points: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*. 2001;69(3):89–95. doi:10.1067/mcp.2001.113989
5. Hill MD, Jackowski G, Bayer N, Lawrence M, Jaeschke R. Biochemical markers in acute ischemic stroke. *CMAJ*. 2000;162(8):1139–1140.
6. Kogure T, Kogure K. Molecular and biochemical events within the brain subjected to cerebral ischemia (targets for therapeutical intervention). *Clin Neurosci*. 1997;4(4):179–183.
7. Shimada N, Graf R, Rosner G, Wakayama A, George CP, Heiss WD. Ischemic flow threshold for extracellular glutamate increase in cat cortex. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1989;9(5):603–606.
8. Jones TH, Morawetz RB, Crowell RM, Marcoux FW, FitzGibbon SJ, DeGirolami U et al. Thresholds of focal cerebral ischemia in awake monkeys. *J Neurosurg*. 1981;54(6):773–782.
9. Coffey ET, Sihra TS, Nicholls DG, Pocock JM. Phosphorylation of synapsin I and MARCKS in nerve terminals is mediated by Ca²⁺ entry via an A α -GI sensitive Ca²⁺ channel which is coupled to glutamate exocytosis. *FEBS Lett*. 1994;353:264–268.
10. Mena FV, Baab PJ, Zielke CL, Zielke HR. In vivo glutamine hydrolysis in the formation of extracellular glutamate in the injured rat brain. *J Neurosci Res*. 2000;60(5):632–641.
11. Meldrum BS. Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. *J Nutr*. 2000;130(4S):1007S–1015S. doi:10.1093/jn/130.4.1007S
12. Platt SR. The role of glutamate in central nervous system health and disease — a review. *Vet J*. 2007;173(2):278–286. doi:10.1016/j.tvjl.2005.11.007
13. Okubo Y, Sekiya H, Namiki S, Sakamoto H, Iinuma S, Yamasaki M et al. Imaging extrasynaptic glutamate dynamics in the brain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(14):6526–6531. doi:10.1073/pnas.0913154107
14. Choi DW, Maulucci-Gedde M, Kriegstein AR. Glutamate neurotoxicity in cortical cell culture. *J Neurosci*. 1987;7(2):357–368.
15. Benveniste H, Drejer J, Schousboe A, Diemer NH. Elevation of the extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis. *J Neurochem*. 1984;43(5):1369–1374.
16. Meldrum B, Evans M, Griffiths T, Simon R. Ischaemic brain damage: the role of excitatory activity and of calcium entry. *Br J Anaesth*. 1985;57(1):44–46.

17. Choi DW, Rothman SM. The role of glutamate neurotoxicity in hypoxic-ischemic neuronal death. *Annu Rev Neurosci.* 1990;13:171–182.
18. Wang Y, Qin ZH. Molecular and cellular mechanisms of excitotoxic neuronal death. *Apoptosis.* 2010;15(11):1382–1402.
19. Hugon J, Vallat JM, Dumas M. Role of glutamate and excitotoxicity in neurologic diseases. *Rev Neurol.* 1996;152(4):239–248.
20. Sharp CD, Fowler M, Jackson TH, Houghton J, Warren A, Nanda A et al. Human neuroepithelial cells express NMDA receptors. *BMC Neurosci.* 2003;4:28.
21. Karadottir R, Cavelier P, Bergersen LH, Attwell D. NMDA receptors are expressed in oligodendrocytes and activated in ischaemia. *Nature.* 2005;438(7071):1162–1166.
22. Del Valle-Pinero AY, Suckow SK, Zhou Q, Perez FM, Verne GN, Caudle RM. Expression of the N-methyl-D-aspartate receptor NR1 splice variants and NR2 subunit subtypes in the rat colon. *Neuroscience.* 2007;147(1):164–173.
23. Burns GA, Stephens KE, Benson JA. Expression of mRNA for the N-methyl-D-aspartate (NMDAR1) receptor by the enteric neurons of the rat. *Neurosci Lett.* 1994;170(1):87–90.
24. Li F, Tsien JZ. Memory and the NMDA receptors. *N Engl J Med.* 2009;361(3):302–303. doi:10.1056/NEJMcibr0902052
25. Lau CG, Zukin RS. NMDA receptor trafficking in synaptic plasticity and neuropsychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci.* 2007;8(6):413–426.
26. Levite M. Glutamate receptor antibodies in neurological diseases: anti-AMPA-GluR3 antibodies, anti-NMDA-NR1 antibodies, anti-NMDA-NR2A/B antibodies, anti-mGluR1 antibodies or anti-mGluR5 antibodies are present in subpopulations of patients with either: epilepsy, encephalitis, cerebellar ataxia, systemic lupus erythematosus (SLE) and neuropsychiatric SLE, Sjogren's syndrome, schizophrenia, mania or stroke. These autoimmune anti-glutamate receptor antibodies can bind neurons in few brain regions, activate glutamate receptors, decrease glutamate receptor's expression, impair glutamate-induced signaling and function, activate blood brain barrier endothelial cells, kill neurons, damage the brain, induce behavioral/psychiatric/cognitive abnormalities and ataxia in animal models, and can be removed or silenced in some patients by immunotherapy. *J Neural Transm (Vienna).* 2014;121(8):1029–1075. doi:10.1007/s00702-014-1193-3
27. Rosenmund C, Stern-Bach Y, Stevens CF. The tetrameric structure of a glutamate receptor channel. *Science.* 1998;280(5369):1596–1599.
28. Furukawa H, Singh SK, Mancusso R, Gouaux E. Subunit arrangement and function in NMDA receptors. *Nature.* 2005;438(7065):185–192.
29. Das S, Sasaki YF, Rothe T, Premkumar LS, Takasu M, Crandall JE et al. Increased NMDA current and spine density in mice lacking the NMDA receptor subunit NR3A. *Nature.* 1998;393(6683):377–381.
30. Гаппоева М. У., Изыкенова Г. А., Гранстрем О. К., Дамбинова С. А. Экспрессия NMDA нейрорецепторов при экспериментальной ишемии. *Биохимия.* 2003;68(6):849–856. [Гаппоева МУ, Изыкенова ГА, Гранстрем ОК, Дамбинова СА. Expression of NMDA neuroreceptors in experimental ischemia. *Biochemistry (Mosc).* 2003;68(6):696–702. In Russian].
31. Gascon S, Deogracias R, Sobrado M, Roda JM, Renart J, Rodríguez-Peña A et al. Transcription of the NR1 subunit of the N-methyl-D-aspartate receptor is down-regulated by excitotoxic stimulation and cerebral ischemia. *J Biol Chem.* 2005;280(41):35018–35027.
32. Gingrich MB, Traynelis SF. Serine proteases and brain damage — is there a link? *Trends Neurosci.* 2000;23(9):399–407. [https://doi.org/10.1016/s0166-2236\(00\)01617-9](https://doi.org/10.1016/s0166-2236(00)01617-9)
33. Gascon S, Sobrado M, Roda JM, Rodríguez-Peña A, Díaz-Guerra M. Excitotoxicity and focal cerebral ischemia induce truncation of the NR2A and NR2B subunits of the NMDA receptor and cleavage of the scaffolding protein PSD-95. *Mol Psychiatry.* 2008;13(1):99–114.
34. Dong YN, Waxman EA, Lynch DR. Interactions of postsynaptic density-95 and the NMDA receptor 2 subunit control calpain-mediated cleavage of the NMDA receptor. *J Neurosci.* 2004;24(49):11035–11045.
35. Dambinova SA, Khounteev GA, Skoromets AA. Multiple panel of biomarkers for TIA/stroke evaluation. *Stroke.* 2002;33(5):1181–1182. doi:10.1161/01.str.0000014922.83673.86
36. Дамбинова С. А., Скоромец А. А., Скоромец А. П. Биомаркеры церебральной ишемии. Разработка, исследование и практика. СПб.: ООО «ИПК Коста», 2013. 336 с. [Dambinova SA, Skoromets AA, Skoromets AP. Biomarkers of cerebral ischemia. Development, research and practical implementation. SPb.: ООО «ИПК Коста», 2013. 336 p. In Russian].
37. Bokesch PM, Izykenova GA, Justice JB, Easley KA, Dambinova SA. NMDA receptor antibodies predict adverse neurological outcome after cardiac surgery in high-risk patients. *Stroke.* 2006;37(6):1432–1436.
38. Bidari A, Vaziri S, Moazen Zadeh E, Farahmand S, Talachian E. The value of serum NR2 antibody in prediction of post-cardiopulmonary resuscitation survival. *Emerg (Tehran).* 2015;3(3):89–94.
39. Huseynova S, Panakhova N, Orujova P, Hasanov S, Guliyev M, Orujov A. Elevated levels of serum sICAM-1 in asphyxiated low birth weight newborns. *Sci Rep.* 2014;4:6850. doi:10.1038/srep06850
40. Гусев Е. И., Скворцова В. И., Изыкенова Г. А., Алексеев А. А., Дамбинова С. А. Уровень аутоантител к глутаматным рецепторам в сыворотке крови у больных в остром периоде ишемического инсульта. 1996;96(5):68–72. [Gusev EI, Skvortsova VI, Izykenova GA, Alekseev AA, Dambinova SA. The level of autoantibodies to glutamate receptors in the blood serum of patients in the acute period of ischemic stroke. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S. S. Korsakova = Zh Nevrol Psikhiatr S S Korsakova.* 1996;96(5):68–72. In Russian].
41. Dambinova SA, Khounteev GA, Izykenova GA, Zavolokov IG, Ilyukhina AY, Skoromets AA. Blood test detecting autoantibodies to N-methyl-D-aspartate neuroreceptors for evaluation of patients with transient ischemic attack and stroke. *Clin Chem.* 2003;49(10):1752–1762. doi:10.1373/49.10.1752
42. Dambinova SA, Bettermann K, Glynn T, Tews M, Olson D, Weissman JD et al. Diagnostic potential of the NMDA receptor peptide assay for acute ischemic stroke. *PLoS One.* 2012;7(7):e42362. doi:10.1371/journal.pone.0042362
43. Дамбинова С. А., Алиев К. Т., Бондаренко Е. В., Пonomarev Г. В., Скоромец А. А., Скоромец А. П. и др. Биомаркеры ишемии головного мозга как новый метод доказательства эффективности нейроцитопротекторов. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова.* 2017;117(5):62–67. doi:10.17116/jnevro20171175162-67. [Dambinova SA, Aliev KT, Bondarenko EV, Ponomarev GV, Skoromets AA, Skoromets AP, et al. The biomarkers of cerebral ischemia as a new method for the validation of the efficacy of cytoprotective therapy. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S. S. Korsakova = Zh Nevrol Psikhiatr S S Korsakova.* 2017;117(5):62–67. doi:10.17116/jnevro20171175162-67. In Russian].
44. Stanca DM, Mărginean IC, Soriău O, Drago C, Mărginean M, Mureanu DF et al. GFAP and antibodies against NMDA receptor subunit NR2 as biomarkers for acute cerebrovascular diseases. *J Cell Mol Med.* 2015;19(9):2253–2261. doi:10.1111/jcmm.12614
45. Weissman JD, Khunteev GA, Heath R, Dambinova SA. NR2 antibodies: risk assessment of transient ischemic attack

(TIA)/stroke in patients with history of isolated and multiple cerebrovascular events. *J Neurol Sci.* 2011;300(1–2):97–102. doi:10.1016/j.jns.2010.09.023

46. Klimentov LL, Skalny AV, Turna AA, Tinkov AA, Budanova MN, Baskakov IS et al. Serum trace element profiles, prolactin, and cortisol in transient ischemic attack patients. *Biol Trace Elem Res.* 2016;172(1):93–100. doi:10.1007/s12011-015-0586-y

47. Skalny AV, Klimentov LL, Turna AA, Budanova MN, Baskakov IS, Savostina MS et al. Serum trace elements are associated with hemostasis, lipid spectrum and inflammatory markers in men suffering from acute ischemic stroke. *Metab Brain Dis.* 2017;32(3):779–788. doi:10.1007/s11011-017-9967-6

48. González-García S, González-Quevedo A, Hernandez-Diaz Z, Alvarez Camino L, Peña-Sanchez M, Cordero-Eiriz A et al. Circulating autoantibodies against the NR2 peptide of the NMDA receptor are associated with subclinical brain damage in hypertensive patients with other pre-existing conditions for vascular risk. *J Neurol Sci.* 2017;375:324–330. doi:10.1016/j.jns.2017.02.028

Информация об авторах

Топузова Мария Петровна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры неврологии и психиатрии, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории (НИЛ) цереброваскулярной патологии научно-исследовательского отдела (НИО) неврологии и нейрореабилитации ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, e-mail: maria.topuzova@gmail.com, ORCID: 0000-0002-0175-3085;

Алексеева Татьяна Михайловна — доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой неврологии и психиатрии, заведующая НИЛ цереброваскулярной патологии НИО неврологии и нейрореабилитации ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, e-mail: alekseeva_tm@almazovcentre.ru, ORCID: 0000-0002-4441-1165;

Панина Елена Борисовна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры неврологии и психиатрии ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, e-mail: panina_eb@almazovcentre.ru, ORCID: 0000-0003-3637-5405;

Вавилова Татьяна Владимировна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой лабораторной медицины и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, e-mail: vavilova_tm@almazovcentre.ru, ORCID: 0000-0001-8537-3639;

Поспелова Мария Львовна — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник НИЛ цереброваскулярной патологии НИО неврологии и нейрореабилитации, доцент кафедры неврологии и психиатрии Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, e-mail: pospelova_tm@almazovcentre.ru, ORCID: 0000-0003-3553-6537;

Иванова Наталья Евгеньевна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая научным отделом Российского научно-хирургического института имени профессора А.Л. Поленова филиала ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, e-mail: ivanova_ne@almazovcentre.ru, ORCID: 0000-0003-2790-0191.

Author information

Mariya P. Topuzova, MD, PhD, Senior Researcher, Associate Professor, Department of Neurology and Psychiatry, Senior Researcher, Research Laboratory of Cerebrovascular Pathology, Research Department of Neurology and Neurorehabilitation, Almazov National Medical Research Centre, e-mail: maria.topuzova@gmail.com, ORCID: 0000-0002-0175-3085;

Tat'yana M. Alekseeva, MD, PhD, DSc, Associate Professor, Head, Department of Neurology and Psychiatry, Head, Research

Laboratory of Cerebrovascular Pathology, Research Department of Neurology and Neurorehabilitation, Almazov National Medical Research Centre, e-mail: alekseeva_tm@almazovcentre.ru, ORCID: 0000-0002-4441-1165;

Elena B. Panina, MD, PhD, Associate Professor, Department of Neurology and Psychiatry, Almazov National Medical Research Centre, e-mail: panina_eb@almazovcentre.ru, ORCID: 0000-0003-3637-5405;

Tat'yana V. Vavilova, MD, PhD, DSc, Professor, Head, Department of Laboratory Medicine and Genetics, Almazov National Medical Research Centre, e-mail: vavilova_tm@almazovcentre.ru, ORCID: 0000-0001-8537-3639;

Maria L. Pospelova, MD, PhD, DSc, Leading Researcher, Laboratory of Cerebrovascular Pathology, Research and Development Department of Neurology and Neurorehabilitation, Associate Professor, Department of Neurology and Psychiatry, Almazov National Medical Research Centre, e-mail: pospelova_tm@almazovcentre.ru, ORCID: 0000-0003-3553-6537;

Natalia E. Ivanova, MD, PhD, DSc, Professor, Head, Scientific Department, Russian Neurosurgical Institute named after professor A. L. Polenova branch of Almazov National Medical Research Centre, e-mail: ivanova_ne@almazovcentre.ru, ORCID: 0000-0003-2790-0191.