

**НАО «Казахский национальный медицинский университет имени
С.Д.Асфендиярова»**

УДК 616.831-005.4-071(574)

На правах рукописи

КОНДЫБАЕВА АИДА МУРАТОВНА

Клинические и патогенетические особенности инсульта в Казахстане
6D 110100 – «Медицина»

Диссертация на соискание степени
доктора философии (PhD)

Научные руководители:
д.м.н., профессор Дуцанова Г.А.

Зарубежный консультант:
M.D, Ph.D.,Ds.C.
профессор Джерзи Крупински Билецки

Республика Казахстан
Алматы, 2021 г.

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	4
ОПРЕДЕЛЕНИЯ	5
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	7
ВВЕДЕНИЕ	9
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	19
1.1 Современное состояние проблемы инсульта.....	19
1.2 Современные представления об этиологии и патогенезе ишемического инсульта.....	22
1.3 Патогенетические подтипы ИИ. Современная классификация ишемического инсульта.....	26
1.4 Современные концепции повреждения нервной ткани в зоне ишемической полутени.....	27
1.5 Влияние факторов риска ишемического инсульта на тяжесть течения в остром периоде.....	30
1.6 Роль микроРНК в регуляции нейрогенеза, ангиогенеза и нейропротекции.....	38
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	43
2.1 Общий план исследования.....	43
2.2 Общая характеристика клинического материала.....	44
2.3 Клинические и лабораторные методы исследования.....	44
2.3.1 Оценка тяжести и прогрессирования ишемического инсульта.....	45
2.3.2 Методы нейровизуализации.....	49
2.4 Лечение больных ишемическим инсультом.....	49
2.5 Молекулярно-генетические исследования.....	50
2.6. Статистические методы.....	51
2.7 Соответствие этическим требованиям клинического исследования..	52
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	53
3.1 Результаты клинического исследования.....	53
3.1.1 Характеристика больных в раннем периоде ИИ.....	55
3.1.2 Сравнение основных параметров ишемического инсульта в группах с благоприятным и неблагоприятным исходом.....	63
3.2. Прогнозирование выживаемости при различных патогенетических подтипах ишемического инсульта.....	76
3.2.1 Многофакторный регрессионный анализ Кокса.....	77
3.2.2 Метод Каплан-Майера.....	80
3.2.3 Многофакторная регрессионная модель риска Кокса.....	83
3.2.4 Прогнозирование с помощью машинного интеллекта, нейронные сети (НС), радиально-базисные функции.....	84
3.2.5 Дискриминантный анализ.....	90
3.3 Молекулярно-генетическое исследование.....	92
3.3.1 Характеристики взаимодействия miRNA с mRNA ZFHX3 кандидатного гена инсульта.....	93

3.3.2 Характеристики взаимодействия miRNA с 5'UTR mRNA генов-кандидатов инсульта.....	101
3.3.3 Характеристики взаимодействия miРНК с CDS мРНК кандидатных генов инсульта.....	106
3.3.4 Характеристики взаимодействия miРНК с CDS мРНК кандидатных генов инсульта.....	110
3.3.5 Особенности взаимодействия miR-574-5p и miR-466-3p с генами-мишенями мРНК	
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ....	113
4.1 Обсуждение результатов клинического исследования.....	113
4.2 Обсуждение результатов молекулярно-генетического исследования.....	117
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	120
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	123
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	125
ПРИЛОЖЕНИЯ	

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

1. Государственная программа развития здравоохранения Республики Казахстан «Саламатты Қазақстан» на 2011-2015 гг., утвержденная Указом Президента Республики Казахстан от 29 ноября 2010 года №1113.
2. Государственная программа развития здравоохранения Республики Казахстан «Денсаулық» на 2016-2019 гг. по Указу Президента Республики Казахстан от 15 января 2016 года №176.
3. Приказ № 104 от 9 февраля 2016 года Министра здравоохранения и социального развития РК «О создании Координационного совета по внедрению интегрированных моделей службы родовспоможения и детства, оказания медицинской помощи при остром инфаркте миокарда и травмах, управлений острыми инсультами и онкологическими заболеваниями в Республике Казахстан».
4. Приказ № 686 от 02.08.2016 года Министерства здравоохранения и социального развития РК «О некоторых вопросах снижения смертности от инсульта и улучшения качества оказания медицинской помощи больным инсультом».
5. Приказ № 809 от 19.10.2015 года Министерства здравоохранения и социального развития РК «Стандарт организации оказания неврологической помощи в Республике Казахстан».
6. Клинический протокол МЗ РК №18 от 27.12.2016г. «Ишемический инсульт».
7. Клинический протокол МЗ РК Протокол №18 от «30» ноября 2015 года «Последствия инфаркта мозга».

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящей диссертации применены следующие определения:

Инсульт - это внезапная гибель клеток головного мозга из-за недостатка кислорода, вызванная закупоркой кровотока или разрывом артерии мозга. Симптомами могут быть внезапная потеря речи, слабость или паралич одной стороны тела.

Ишемический инсульт - это острое нарушение мозгового кровообращения вследствие внезапного ограничения кровоснабжения части мозга, характеризующееся дисфункцией мозговой ткани в этой зоне с развитием инфаркта мозга. Основные причины ИИ: тромбоз или эмболия кровеносного сосуда местным сгустком крови, системная гипоперфузия, тромбоз венозного синуса головного мозга.

Подтипы ишемического инсульта-атеротромботический, лакунарный, кардиоэмболический, другой этиологии, неопределенного генеза.

Типы инсультов – геморрагический инсульт и ишемический инсульт.

Транзиторная ишемическая атака (ТИА)— остро преходящее нарушение кровообращения головного мозга по ишемическому типу, вызванный ишемией участка головного или спинного мозга (очаговыми неврологическими симптомами: парезы и нарушения чувствительности) и сетчатки глаза без развития острого инсульта. В отличие от инсульта, при ТИА симптомы не сопровождаются развитием инфаркта мозга.

Заболеваемость-число новых случаев инсульта, возникшие за год на 1000 жителей.

Летальность – статистический показатель в процентах, равный отношению числа умерших к числу заболевших в определенный промежуток времени.

Смертность- показатель равный отношением числа умерших от данной болезни к средней численности популяции.

Анализ выживаемости – статистическая модель позволяющая оценить вероятность наступления события (смерти).

Цензурированные наблюдения - наблюдаемое значение некоторой переменной частично известно, связанная с пропущенными данными, где наблюдаемое значение некоторой переменной неизвестно.

Плотность вероятности - оценка вероятности выбывания из совокупности (смерти) в соответствующем интервале.

Анализ дожития/выживаемости (наступление событий) - анализ закономерности появления определенного исхода у наблюдаемой выборки.

Кодирующие области - следующие непосредственно друг за другом последовательности из трёх нуклеотидов, каждая из которых соответствует в генетическом коде определённой аминокислоте или началу и концу синтеза белка.

Экспрессия генов - процесс, с помощью которого информация из гена используется в синтезе функционального продукта гена. Эти продукты часто

являются белками, но в небелковых кодирующих генах, таких как гены-переносчики РНК (тРНК) или малые ядерные РНК, продукт представляет собой функциональную РНК.

Матричная рибонуклеиновая кислота (мРНК, синоним - информационная РНК, иРНК) РНК, содержащая информацию о первичной структуре белков.

МикроРНК (англ. *microRNA*, *miRNA*) представляют собой короткие одноцепочечные РНК длиной от 18 до 25 нуклеотидов. Процессинг микроРНК включает два основных этапа. На первом этапе длинный транскрипт, считанный с гена микроРНК и обозначаемый «*при-микроРНК*», разрезается на более короткие предшественники *-пре-микроРНК*.

Трансляция (от лат. *translatio*- перенос, перемещение) - процесс синтеза белка из аминокислот на матрице информационной (матричной) РНК (иРНК, мРНК), осуществляемый рибосомой.

Не транслируемые области (англ. *untranslated regions*, UTR) - особые участки мРНК, не выступающие в качестве матрицы для синтеза белка и прилегающие с обеих сторон к транслируемой области (то есть той, на матрице которой синтезируется белок). Таких области две: 5'- UTR и 3' UTR, располагающиеся на 5'- и 3'-конце мРНК соответственно. Такое же название имеют участки ДНК, соответствующие 5'- UTR и 3' UTR транскрипта.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

АГ – артериальная гипертензия
АД – артериальное давление
АДФ - аденозиндифосфат
АТИ - атеротромботический инсульт
ВОЗ - Всемирная организация здравоохранения
ИБС – ишемическая болезнь сердца
ИИ – ишемический инсульт
КТ – компьютерная томография
КЭИ – кардиоэмболический инсульт
ЛИ – лакунарный инфаркт
Малые некодирующие РНК - микроРНК
микроРНК - микрорибонуклеиновая кислота
мРНК - матричная рибонуклеиновая кислота
МРТ - магнитно-резонансная томография
НИЗ - неинфекционные заболевания
НЦ - нейроинсультный центр
ПМА - передняя мозговая артерия
РКЦПИ - Республиканский координационный центр по проблемам инсульта
РНК - рибонуклеиновая кислота
РТ - реперфузионная терапия
СД - сахарный диабет
СКГМ - сосудистые клетки гладкой мускулатуры
СМА - средняя мозговая артерия
ССЗ - сердечно сосудистые заболевания
ТИА – транзиторная ишемическая атака
ТКДС - транскраниальное дуплексное сканирование
ФП - фибрилляция предсердий
ФР - факторы риска
ЦНС - центральная нервная система
ЦОГ2 - циклооксигеназа-2
АМРА - α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты
ASCO - Atherosclerosis, Small vessel disease, Cardiacsource, Othercause-
классификация подтипов ишемического инсульта.
SPARKLE–Subtypes of Ischemic Stroke Classification System- классификация
подтипов ишемического инсульта
TOAST – (англ. Trial of Origin Acute Stroke treatment)- классификация подтипов
ишемического инсульта.
CISS – Chinese Ischemic Stroke Sub classification- классификация подтипов
ишемического инсульта.
BDNF - (англ. Brain derived neurotropic factor)-нейротрофический фактор мозга
CADASIL - аутосомно-доминантная артериопатия мозга с подкорковыми
инфарктами и синдромом лейкоэнцефалопатии

CARASIL-церебральная аутосомно-рецессивная артериопатия
CSD - (англ. cortical preading depression) – депрессия коры головного мозга
EPC - (англ. Endothelial progenitor cells) – эндотелиальные клетки предшественники
GBD - (англ. Global Burden of Diseases) -Глобальное бремя болезней
IGF-1 - (англ. Insulin-like growth) -инсулиноподобный фактор роста 1
MBD1 - MBD1 связывающий белок
MeCP2 - Метил-СрG-связывающий белок 2
NIHSS – (англ. NIH stroke scale), шкала инсульта национального института здравоохранения
NMDA - N-метил-D-аспартата
NT - (англ. proBNPN-terminal pro brain natriuretic peptide/N)-терминальный участок мозгового натрийуретического пептида
ROS - (англ. Reactive oxygen species) – активные формы кислорода
tPA - рекомбинантный тканевой активатор плазминогена
SOD - (англ. Super oxide Dismutase) – супероксиддисмутаза
VEGF (англ. Vascular endothelial growth factor) – фактор роста эндотелия сосудов
TLX – ядерный рецептор

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Инсульт является одной из серьезных и глобальных проблем общественного здравоохранения, имеющее огромное социально-экономическое значение, приводящая к преждевременной смертности и инвалидности в мире [1, 2].

Около 75% случаев смертности к 2030 году придется на долю неинфекционных заболеваний (НИЗ) [1]. Основным руководящим документом для практической реализации политических решений стал разработанный и принятый Всемирной ассамблеей здравоохранения «Глобальный план действий по профилактике и контролю неинфекционных заболеваний на 2013-2020», главной задачей которого является: установить стандартизированные национальные цели и показатели, в соответствии с согласованными на международном уровне механизмами мониторинга [1,2].

Согласно исследованиям Global Burden of Diseases (GBD), проведенным в 188 странах мира с 1990г. по 2013г., общая смертность людей, перенесших инсульт, увеличилась по всему миру, во всех возрастных группах. Инсульт стал второй по значимости причиной смерти во всем мире. В 2013 г. почти 25,7 миллиона человек перенесли инсульт, из них 71% случаев приходился на ишемический инсульт (ИИ) [3]. По данным этого же источника летальность при этом составила около 6,5 миллиона человек, более чем в 51% случаев причиной смерти явился ИИ.

Потеря трудоспособности вследствие инсульта опережает все остальные ее причины, так среди больных после перенесенного инсульта более половины становятся инвалидами [3,4].

В последние десятилетия в развитых странах мира частота инсульта снижается, в основном из-за усилий по контролю артериального давления (АД) и отказу от курения [5]. Однако по мнению многих исследователей, старение населения в сочетании со снижением смертности, приведет к увеличению распространенности инсульта на 3,4 миллиона человек в период с 2012 по 2030 год [2-6].

Сосудистые заболевания головного мозга наносят также огромный ущерб государственной экономике. Ориентировочная стоимость диагностики и лечения инсульта США в 2010 году составила 73,7 млрд. долларов, а в 2050 году она увеличится до 1,52 триллиона долларов [6].

В нашей стране инсульт также является основной причиной заболеваемости и смертности, возлагая огромные трудности и усилия на пациентов, работников здравоохранения и общество. Согласно официальной статистике Министерства здравоохранения Республики Казахстан ежегодно в нашей стране регистрируется более 40 тысяч случаев инсульта, из которых 5 тысяч пациентов погибают в один из первых 7 дней от начала инсульта и еще 5 тысяч в течение 30 дней после выписки домой [7].

Таким образом, огромные цифры заболеваемости, приводящие к высокой смертности, инвалидизации, социальным последствиям и значительным материальным потерям во всем мире и в нашей стране дают достаточно оснований для определения инсульта как медико-социальной проблемы государственного уровня.

В научных исследованиях изучается роль многочисленных факторов риска развития инсульта, включая как немодифицируемые, такие как возраст, пол, раса, так и модифицируемые факторы риска: артериальная гипертензия (АГ), фибрилляция предсердий (ФП), атеросклероз, ишемическая болезнь сердца (ИБС), хроническая сердечная недостаточность (ХСН), сахарный диабет (СД) и курение и т.д. [3,4,5,8].

Особое внимание заслуживают прогрессирующее клинической картины заболевания в течение первых дней или недель после ИИ, которые могут привести к повышению летальности. Неврологические осложнения, такие как отек головного мозга или геморрагическая трансформация, возникают раньше, чем другие осложнения, и могут повлиять на результаты с потенциальными серьезными краткосрочными и долгосрочными последствиями [8,9].

Мы предполагаем, что различные механизмы могут влиять на неврологическое ухудшение в острой ранней фазе по сравнению с поздней фазой ишемического инсульта.

Несмотря на многочисленные исследования инсульта, все еще недостаточно изучены факторы, приводящие к утяжелению клинической симптоматики в остром периоде, приводящие к прогрессированию, в том числе летальному исходу пациентов, госпитализированных с ИИ. Некоторые из этих осложнений могут быть предотвращены или, если это невозможно, раннее их выявление и надлежащее лечение могут быть эффективными для снижения отрицательных влияний на тяжесть ИИ, чтобы обеспечить безопасное и эффективное лечение пациентов с инсультом.

Имеющиеся исследования по оценке прогностических факторов приводящих к прогрессированию ИИ в острейшем периоде, проводились за рубежом. В нашей стране работ в таком аспекте нет. С позиций практической медицины большой интерес представляет определение прогностического значения ряда маркеров, ИИ в наших условиях, т.к. сложившаяся ситуация диктует поиск новых стратегических подходов как лечения, так и профилактики раннего прогрессирования неврологических симптомов.

Исследования патогенеза ИИ показали, что ишемическое повреждение мозга вызывает цепь патологических процессов, к которым относятся развитие глутаматной эксайтоксичности, окислительного стресса, воспаления, апоптоза, нарушение внутриклеточного ионного гомеостаза или некроза в результате повреждения гематоэнцефалического барьера [10].

Существующие фармакологические разработки потенциального лечения инсульта в клинических испытаниях не удалось. Внутривенное введение рекомбинантного тканевого активатора плазминогена (rtPA) является единственным одобренным FDA (США) методом лечения, восстанавливающий

кровоток и который обычно вводится в первые часы при ИИ. Однако rtPA имеет множество существенных ограничений, один из них временной фактор. Продолжают оставаться предметом дискуссии некоторые осложнения при применении данного препарата. К трудностям, связанным с использованием rtPA, относят риск симптоматического внутримозгового кровоизлияния. В настоящее время только от 2% до 5% пациентов с ИИ получают лечение rtPA из-за строгих критериев отбора [64,129,130].

На сегодняшний день нет одобренных методов лечения множества патологических процессов, которые сохраняются в головном мозге уже после острой стадии инсульта. Различаются мнения исследователей в отношении степени нейропротекции. В широкомасштабных многоцентровых исследованиях, многообещающая стратегия ограничения распространения инфарктной ткани, направленная на защиту нейронов от постишемического повреждения с помощью фармакологических соединений, нейропротекторов продемонстрировала скромные эффекты нейрозащиты [65,66,67,71,129,130]. Были использованы многочисленные нейропротективные методы лечения, которые показали большие перспективы в моделях на животных. К сожалению, почти все они не смогли обеспечить нейропротекцию в клинических исследованиях людей.

Учитывая ограниченное терапевтическое окно для тромболиза и диагностики ОНМК, отсутствие эффекта от нейропротективной терапии в остром периоде ИИ необходимы новые лечебные подходы. Требуются более эффективные стратегии профилактики и лечения инсульта, чтобы остановить и в конечном итоге обратить вспять пандемию инсульта, в то время как всеобщий доступ к организованным услугам по инсульту должен быть приоритетом.

Современные инновационные направления в области молекулярных исследований позволили выявить количественные изменения в уровне экспрессии микроРНК (микроРНК), кодирующие синтез сигнальных белков.

Развитие и совершенствование этого направления молекулярно-диагностических методов открыло новые перспективы для быстрого выявления микроРНК в клинических образцах. Появились новые данные о различных биологических эффектах микроРНК на компоненты сердечно-сосудистой системы. МикроРНК являются важными регуляторами экспрессии генов и играют особую роль в иницировании и прогрессировании ряда заболеваний, в том числе и ССЗ.

В литературных источниках обобщены имеющиеся данные о корреляции микроРНК как с клинической, так и с субклинической болезнью коронарных артерий, подчеркивается необходимость изучения микроРНК в качестве потенциального диагностического и прогностического биомаркера раннего выявления ИБС у взрослого населения [74,75,261,264].

В экспериментальном исследовании Gupta S.K. и соавт. (2010) подтверждают, что при ишемическом инсульте у грызунов нарушается регуляция микроРНК. Для лучшего понимания роли микроРНК при инсульте, а также

механизмов регуляции генов вовлеченных в цереброваскулярные заболевания, требуются дальнейшие исследования [11].

Клинические исследования также доказали роль циркулирующих микроРНК как потенциальных биомаркеров, которые могли бы облегчить диагностику инсульта [261,264]. Молекулярные механизмы повреждения мозга при ИИ до конца не изучены.

В нашей стране исследования в области острейшего периода ишемического инсульта немногочисленны, а полученные данные нередко противоречивы. Все вышеизложенное послужило основанием для настоящего клинического и молекулярно-генетического исследования.

Цель: определить клинические особенности и патогенетические механизмы прогрессирования ишемического инсульта в острейшем периоде, включая анализ генетических маркеров инсульта (miRNA).

Задачи:

1. Изучить прогностические факторы (клинические, лабораторные, функциональный исход) определяющие исход при различных патогенетических подтипах ишемического инсульта, которые могут быть использованы в целях оптимизации диагностики и лечения, в острейшем периоде.
2. Рассчитать и сравнить прогноз дожития и летальность различными статистическими методами IBM SPSS Statistics 23,0 у пациентов после ишемического инсульта в зависимости от патогенетических подтипов.
3. Создать базы генов-кандидатов, участвующих в развитии инсульта, и базы микроРНК, для определения влияния микроРНК на экспрессию генов-кандидатов, участвующих в развитии инсульта.
4. Изучить количественные характеристики взаимодействия микроРНК с mRNA генов-кандидатов, участвующих в развитии инсульта и обосновать патофизиологическую значимость ассоциаций miRNA и генов-кандидатов, как биомаркеров ишемического инсульта.

Научная новизна:

1. Впервые проведено проспективное когортное исследование по изучению ранней выживаемости пациентов с различными патогенетическими подтипами ишемического инсульта в острейшем периоде в зависимости от клинических и лабораторных характеристик, факторов риска инсульта, функционального исхода и сравнение результатов по гендерным, возрастным показателям в Казахстане на примере г.Алматы.
2. Определены факторы прогрессирования неврологических симптомов, приводящих к ранней летальности. Дана оценка функциональных исходов в острейшем периоде ишемического инсульта.
3. Проведена оценка ранней выживаемости (24-72 часов) больных в зависимости от клинических и лабораторных характеристик, факторов риска инсульта, функционального исхода и патогенетических подтипов ишемического инсульта. Для оценки прогностических факторов ранних исходов ИИ в острейшем периоде впервые использованы статистические

методы: в частности проведен расчет дожития, среднее время выживания в годах пациентов по Каплан-Майеру, дискриминантный анализ, множественная регрессия Кокса, метод анализа нейронных сетей.

4. Определены ассоциации miRNA и генов мишеней, которые могут служить маркерами для диагностики ишемического инсульта.
5. Выявлены miR-1181, miR-328-5p и miR-7110-3p, которые могут влиять на экспрессию кандидатных генов инсульта и экспрессию альтернативных генов что необходимо учитывать при разработке биомаркеров, адекватно отражающих взаимодействие miRNA с mRNA при ишемическом инсульте.

Практическая значимость:

1. Проспективное когортное исследование позволило изучить прогностические факторы определяющие исход при различных патогенетических подтипах ишемического инсульта, которые могут быть использованы в целях оптимизации диагностики и лечения.
2. Определены наиболее точные клинические и лабораторные предикторы необходимые для построения моделей прогноза.
3. Адаптирован наилучший метод статистического расчета при прогнозировании выживаемости Каплан-Майера, который позволил ранжировать пациентов согласно подтипам ИИ, а также искусственные нейронные сети математического моделирования.
4. Адаптированный алгоритм: «Оценка функции глотания у больных в остром периоде инсульта» (Акт внедрения от 09.04.2018г.) является доступным к применению в практическом здравоохранении, что позволяет проводить своевременную диагностику и определить тактику ведения больных с нарушением функции глотания при ишемическом инсульте.
5. Адаптированный алгоритм: «Методы вторичной профилактики кардиоэмболического инсульта при фибрилляции предсердий» (Акт внедрения от 09.04.2018г.) является рациональным для применения в клинической практике и позволяет улучшить вторичную профилактику и прогноз для кардиоэмболического инсульта.
6. Разработанный нами «тренажер Cognitellect» (Патент на промышленный образец №2692 от 18.09.2017г.) рекомендуется для применения в клинической практике. Он позволяет улучшить моторные и когнитивные функции после перенесенного ишемического инсульта.
7. Созданы базы генов-кандидатов, участвующих в развитии инсульта, и базы миРНК, для определения влияния миРНК на экспрессию генов-кандидатов, участвующих в развитии инсульта, которые в перспективе можно использовать для разработки молекулярно-лабораторных методов диагностики и лечения ИИ.

Положения, выносимые на защиту

В соответствии с результатами исследований, мы обнаружили (может установили), что:

1. Прогрессирование неврологического дефицита в острейшем периоде ишемического инсульта является плохим прогностическим фактором. Пациенты с прогрессирующим течением имели более низкие баллы по ШКГ, высокие показатели NIHSS и Рэнкина, при поступлении. Прогрессирующее течение в острейшем периоде (24-72 часов) выявлено у 36,8% пациентов, клиническая картина у 63,1% пациентов оставалась более стабильной или регрессирующей в эти же часы. В группе с летальным исходом раннее неврологическое ухудшение было у 87.5% больных, в противоположной группе у 32.8% ($p < 0.001$).
2. Отягощающими факторами риска прогрессирования в остром периоде являются сопутствующие заболевания: АГ, ФП, ИБС, ХОБЛ, СД2, ХБП, а также гипергликемия, укорочение активированного частичного тромбопластинового времени, размеры очага инфаркта более 5 см в диаметре. Неблагоприятный исход ассоциирован с поздней доставкой пациентов в стационар, статистически значимые показатели наблюдались при доставке больных более 4-х часов < 0.001 , и наоборот благоприятный с ранней доставкой до 2-х часов.
3. Повышенный коэффициент риска госпитальной смертности в острейшем периоде ишемического инсульта зависит от: нарушения функции глотания, частоты дыхания более 28 в минуту, расстройства сознания по ШКГ до 4-9 баллов. Риск смерти увеличивается при баллах 21-42 по шкале NIHSS для пациентов с атеротромботическим подтипом ИИ (0,93) в возрасте старше 65 лет с низкими показателями САД, для пациентов с кардиоэмболическим подтипом (0,90) в возрасте старше 67 лет, с высокими показателями САД. Процент смертности при дискриминантном анализе составляет **6,7%**. Дискриминантный анализ параметров ишемического инсульта пациентов с различной этиологией выявил превалирование смертности у пациентов с кардиоэмболическим ИИ.
4. Наилучшим методом статистического расчета при прогнозировании выживаемости после ишемического инсульта является метод Каплан-Майера, который позволяет ранжировать пациентов согласно подтипам ИИ, так риск смерти начинает повышаться после 40 лет для атеротромботического инсульта, для кардиоэмболического после 56 лет. Метод прогнозирования с помощью машинного интеллекта «нейронные сети», в обучающем примере показал **9,5%** смертности от общего числа пациентов с ишемическим инсультом различной этиологии с процентом правильных ответов **97,4%**, и выявлением влияния кардиальных компонентов на состояние пациентов после ИИ. Среднее время выживаемости напрямую зависит от состояния пациента при поступлении, по Уилкоксону значимость 0,531 для шкалы NIHSS 16-20 баллов.
5. Количественные характеристики взаимодействия между миРНК и их генами-мишенями служат основой для разработки молекулярно-лабораторных методов диагностики инсульта с использованием ассоциации

миРНК и кандидатных генов: *CALM1, HTRA1, LDLR, MMP2, NOTCH3, SMARCA4, SORT1, ZDHHC22, ZFH3*.

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на:

1. «The 2nd European Stroke Organization Conference 2016» (Барселона, Испания, 10-12 мая, 2016 г.)
2. «The 10th World Stroke Congress 2016» (Хайдарабад, Индия, 26-29 октября, 2016 г.)
3. Международный образовательный форум «Neurology Update in Kazakhstan 2017» (Алматы, Казахстан, 28-30 марта, 2017 г.)
4. «Society of Vascular and Interventional Neurology 10th Annual Meeting» (Бостон, США, 8-11 ноября 2017 г.)
5. Научно-практическая конференция с международным участием «Весенняя школа Казахстанской Национальной ассоциации неврологов «Neuroscience» (Алматы, Казахстан, 27-28 апреля 2018 г.)

Апробация работы

Основные положения диссертационной работы доложены на совместном заседании сотрудников кафедры нервные болезни НАО «КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова» и научно-исследовательского института проблем биологии и биотехнологии КазНУ им. Аль-Фараби.

Опубликованные работы по результатам диссертационного исследования:

2 статьи - в издании, индексированном в информационной базе Scopus:

1. **А.М. Kondybayeva**, A.N. Akimniyazova, S.U. Kamenova, A.T. Ivashchenko. The characteristics of miRNA binding sites in mRNA of ZFH3 gene and its orthologs. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018; 22(4). ISSN 2500-0462 (Print). ISSN 2500-3259 (Online). Scopus CiteScore 2018 - 0,45. <https://doi.org/10.18699/VJ18.380> с.438-444
2. **Aida Kondybayeva**, Aigul Akimniyazova, Saltanat Kamenova, Gulsum Duchshanova, Dana Aisina, Alla Goncharova, Anatoliy Ivashchenko. Prediction of miRNA interaction with mRNA of stroke candidate genes. Neurological Sciences. Springer International Publishing 2019; 41 ISSN 1590-1874 (Print). ISSN 1590-3478 (Online). Scopus CiteScore 2018 – 1,76 PMID: 31784845. IF – 2,484. <https://doi.org/10.1007/s10072-019-04158-x>

5 статей - в изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки РК;

1. **Кондыбаева А.М.**, Шарапханова А.М., Оспанбекова Д.М., Каменова С.У., Абдикадирова Ж.Б., Харченко В.В. Инфаркт мозга вследствие тромбоза поперечного синуса. Medicine (Almaty). 2016; 11(173). с.50-54 ISSN 1728-452X (Print). ISSN 2518-1009 (Online).

http://www.medzdrav.kz/images/magazine/medecine/2016/2016-11/M_11-16_050-054.pdf

2. **А.М. Кондыбаева**, Г.А. Душанова, К.К. Кужибаева, Ж.Б. Дюсембаева, Г.А. Умутбаева. Особенности ишемического инсульта в различных возрастных группах госпитальных больных. Вестник КазНМУ 2018; 2. с.110-112 ISSN 2524-0684 (Print). ISSN 2524-0692 (Online). Индекс цитирования РИНЦ 2018г. – 403
 3. **А.М. Кондыбаева**, Г.А. Душанова, К.К. Кужибаева, Ж.Б. Дюсембаева, Г.А. Умутбаева. Роль транзиторно ишемической атаки в развитии ишемического инсульта. Вестник КазНМУ 2018; 2. с.113-115 ISSN 2524-0684 (Print). ISSN 2524-0692 (Online). Индекс цитирования РИНЦ 2018г. – 403
 4. **А.М. Кондыбаева**, С.У. Каменова, К.К. Кужибаева, Ж.Х. Желдыбаева, Ж.Б. Дюсембаева, Г.А. Умутбаева. Оценка функции глотания у больных в остром периоде инсульта. Вестник КазНМУ 2018; 3. с.85-87 ISSN 2524-0684 (Print). ISSN 2524-0692 (Online). Индекс цитирования РИНЦ 2018г. - 403
 5. T. Ivashchenko, R. Ye. Niyazova, Sh. A. Atambayeva, A. Yu. Pyrkova, D. E. Aisina, O. Yu. Yurikova, **A. Kondybayeva**, A. Akimniyazova, D. Bayzhigitova, A. A. Bolshoy. miRNA: achievements, misconceptions, perspectives. Известия НАН РК. Института биологии и биотехнологии. Серия Биологическая и Медицинская. 2018; 4(328). с.36-46 ISSN 2224-5308 (Print). ISSN 2518-1629 (Online)
- 5 тезисов – в сборниках зарубежных международных конференций (в том числе зарубежных – 5 и индексируемых в базе Scopus - 3).

1. **Kondybayeva**, S. Kamenova, K. Kuzhibaeva, M. Zhanuzakov, A. Sharaphanova. Stroke in Kazakhstan. European Stroke Journal, 2016, Vol.1(1). The 2-nd European Stroke Organisation Conference. с.59-60. ISSN: 2396-9873 (Print). ISSN: 23969881 (Online)
2. **Kondybayeva**, S. Kamenova, M. Zhanuzakov. Dementia in patients with Ischemic stroke in Almaty. International Journal of Stroke^[SEP]2016, Vol. 11(3S)_[SEP]Abstracts for the 10th World Stroke Congress, 2016. с.162. ISSN: 17474930 (Print). ISSN: 17474949 (Online). DOI: 10.1177/1747493016670567
3. **Kondybayeva**, S. Kamenova, K. Kuzhibaeva, M. Zhanuzakov. Ischemic stroke in patients with overweight, obesity and comorbid disorders. International Journal of Stroke^[SEP]2016, Vol. 11(3S)_[SEP]Abstracts for the 10th World Stroke Congress, 2016. с.251. ISSN: 17474930 (Print). ISSN: 17474949 (Online). DOI: 10.1177/1747493016670567
4. **Kondybayeva**, A.Akimniyazova, G.Duchshanova, S. Kamenova, A.Ivashchenko. The characteristics of miRNA interaction mRNA of ZFH3 gene and orthologs. Сборник тезисов Международной конференции

«Clinical Proteomics. Postgenome Medicine». 30 октября – 1 ноября 2017г. Москва, Россия. с.121-122. [ISBN: 978-5-89152-024-0](#)

5. **Aida Kondybayeva**, Saltanat Kamenova, Murat Zhanuzakov. Cerebral infarction due to thrombosis transverse sinus. *Interventional Neurology* 2017, Vol.6, suppl.1. Society of Vascular and Interventional Neurology. 10th Annual Meeting and 5th Annual Stroke Center Workshop, Boston, MA, November 2017: Abstracts. с.9. [ISSN: 1664-9737 \(Print\)](#). [ISSN: 1664-5545 \(Online\)](#). [DOI: 10.1159/issn.1664-5545](#)

Внедрение результатов исследования

Материалы исследования внедрены (Приложение А, Приложение Б) в практическое здравоохранение:

1. Оценка функций глотания у больных в остром периоде инсульта. Дисфагия – метод реабилитации в раннем периоде инсульта.
2. Методы вторичной профилактики кардиоэмболического инсульта при фибрилляции предсердий.
3. Получено свидетельство государственной регистрации на изобретение, «Тренажер COGNITELLECT», зарегистрированный в Государственном реестре промышленных образцов Республики Казахстан 18.09.2017г., патент №2692 (Приложение В).
4. Результаты диссертационного исследования используются в учебном процессе кафедры нервные болезни с курсом нейрохирургии НАО «Национальный Медицинский Университет».

Личный вклад диссертанта.

Диссертант, непосредственно участвовала в диагностике и определении тактики ведения и лечения пациентов с инсультом. В рамках диссертационной работы все исследования госпитального этапа с интерпретацией данных и наблюдением в динамике были проведены непосредственно при участии автора. Помимо этого, автор проводила оценку неврологического статуса с применением соответствующих шкал. Автор самостоятельно провела литературный поиск по данной проблеме, сбор базы данных с созданием госпитального регистра, первичной обработкой материала, интерпретацию полученных результатов.

Диссертант участвовала в проведении молекулярно-генетических исследований, статистического анализа. Диссертация написана автором самостоятельно, с составлением алгоритма диагностики и ведения пациентов с ИИ, и формулированием выводов и рекомендаций.

Объем диссертации на соискание ученой степени доктора философии (PhD).

Диссертационная работа освещена на 147 страницах машинописного текста.

Структура диссертации:

Структурные элементы диссертации состоят из: введения, основной части (обзора литературы, материалы и методы, результатов исследования, обсуждения), заключения, практических рекомендаций и приложений.

Научная работа иллюстрируется 25 рисунками, 31 таблицами, 10 приложениями. Сведения об использованной литературы при написании диссертации содержат 312 источника, на русском и английском языках.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современное состояние проблемы инсульта

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) и инсульт оказывают огромное влияние на здоровье и экономику во всем мире и в нашей стране.

Основным руководящим документом для практической реализации политических решений стал разработанный и принятый Всемирной ассамблеей здравоохранения в 2013г. «Глобальный план действий по профилактике и контролю неинфекционных заболеваний на 2013-2020», главной задачей которого является: установить стандартизированные национальные цели и показатели, в соответствии с согласованными на международном уровне механизмами мониторинга [1,2].

Инсульт стоит на втором месте среди летальных исходов [1-4], является основной причиной заболеваемости в пожилом возрасте [1,5,6] и стойкой утраты трудоспособности, приводящей к инвалидизации [3,8,9].

Ишемический инсульт в развитых странах несет огромную нагрузку на общество с существенными экономическими потерями [1,2,3]. Согласно статистической отчетности болезней сердца и инсульта Американской кардиологической ассоциации распространенность инсульта в США составляет примерно 3% взрослого населения, что составляет примерно 7 миллионов человек [12,13,14]. Каждый год в США происходят примерно 800 тысяч ОНМК. Из этого количества приблизительно: 87% приходится на ИИ, 10% - гемморрагический инсульт, 3% - субарахноидальное кровоизлияние [12,13,14,15,16]. Многие исследователи, предполагают, что частота инсульта быстро увеличивается с возрастом и удваивается за каждое десятилетие после 55 лет [17,18].

Данные литературы свидетельствуют о том, что заболеваемость увеличивается в старших возрастных группах, составляя 670-970 случаев на 100 тыс. человек в год среди лиц 65-74 лет [14,15]. При этом ИИ в возрасте до 35 лет чаще встречается у мужчин, чем у женщин, а в старших возрастных группах более высокая заболеваемость наблюдается у женщин [3,14,15].

Кроме того, в структуре острых нарушений мозгового кровообращения (ОНМК) ИИ доминируют над гемморрагическими инсультами (ГИ), примерно 85% и 15% соответственно [4,9,10,12,14,15].

Инсульт встречается и у детей, но заболеваемость по сравнению с взрослыми значительно ниже, от 1 до 2,5 случаев на 100 тыс. человек в год. При этом от 50 до 75% инсультов среди детей являются результатом кровоизлияния [16].

В ряде исследований отмечено, что уровень заболеваемости инсультом увеличился в странах с низким и средним уровнем дохода и остался стабильным или снизился в странах с высоким доходом [18-21]. В 2010 году, например, стандартизованная по возрасту, частота ИИ на 100 тыс. человек варьировалась от 52 в Катаре до 434 в Литве [17].

Согласно официальной статистике Министерства здравоохранения Республики Казахстан (МЗ РК) ежегодно в нашей стране регистрируется более 40 тысяч случаев инсульта, из которых 5 тысяч погибает в остром периоде 1-7 дней и еще 5 тысяч в течение 30 дней после выписки домой [7,22]. На основании сложившейся ситуации, в 2015 года МЗ РК было принято решение об утверждении Дорожной карты по внедрению интегрированной модели управления острыми инсультами в Республике Казахстан на 2016-2019 гг., исполнение которой было возложено на АО «Национальный центр нейрохирургии» [7].

В структуре общей смертности населения более 50% составляют болезни системы кровообращения (БСК), а именно ишемическая болезнь сердца, инсульты и другие заболевания.

По данным Акшулакова С.К. и соавт 2018г. [7] показатель летальности в стационаре по пролеченным случаям с ОНМК (геморрагический + ишемический инсульты) по РК за 12 месяцев 2017 года составил 13,3 %, наблюдается увеличение на 0,7% в сравнении с данными 2016 года (рисунок 1).

Анализ по половозрастной структуре среди всех умерших в стационаре показал, что мужчины составляют 54%, а женщины 46% (рисунок 2). Высокий уровень летальности отмечается в возрастной группе от 41 до 70 лет составляя 60% [7].

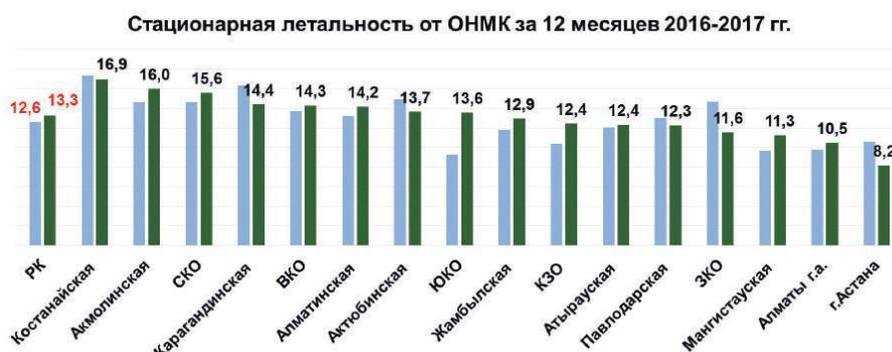


Рисунок 1 - Стационарная летальность от ОНМК за 12 месяцев 2016-2017гг.



Рисунок 2 - Половозрастная структура умерших в возрасте 16-40; 41-60; 61-70; 71 и выше.

Проблема инсульта является одной из приоритетных направлений социальной политики в Казахстане. В 2011-2015 годах была реализована государственная программа развития здравоохранения РК «Саламатты Қазақстан» по совершенствованию медицинской помощи больным с инсультом, были созданы региональные нейроинсультные центры (НИЦ).

В феврале 2016 года (приказ МЗ РК № 104) был создан Координационный совет по внедрению интегрированных моделей службы родовспоможения и детства, оказания медицинской помощи при остром инфаркте миокарда и травмах, управлений острыми инсультами и онкологическими заболеваниями в Республике Казахстан. Основной задачей, которого является: снижение смертности от основных социально-значимых, неинфекционных заболеваний и состояний, существенно влияющих на демографию населения страны. Рабочим органом Координационного совета по инсульту был определен Национальный центр нейрохирургии (НЦН) [23].

Приказом № 686 от 02.08.2016 года МЗ РК было создано структурное подразделение «Республиканский координационный центр по проблемам инсульта» (РКЦПИ). Благодаря данному приказу, впервые в Казахстане был организован центр для внедрения интегрированной модели оказания медицинской помощи больным при инсульте, улучшения качества оказания медицинской помощи, снижения смертности и предупреждения инвалидизации [24].

Для организации эффективной работы были разработаны и утверждены индикаторы инсультной службы, на основании которых ежемесячно проводится мониторинг всех регионов Казахстана с формированием и предоставлением данных в МЗ РК [24].

Медицинская помощь пациентам с подозрением на ОНМК в РК регламентирована приказом № 809 от 19.10.2015 года МЗ РК «Об утверждении стандарта организации оказания неврологической помощи в Республике Казахстан» [25].

В 2016 году в Казахстане приступили к реализации государственной программы развития системы здравоохранения «Денсаулық». Согласно данным анализа этой программы, в структуре общей смертности ведущей причиной являются БСК (22,3%), наиболее частые – ишемическая болезнь сердца, сосудистые поражения головного мозга, от которых ежегодно умирают около 30 тысяч человек. Рост первичной заболеваемости БСК составляет почти 15% (2010 год – 2086,7 на 100 тыс. населения, 2014 год – 2394,7). Главная цель программы состоит в увеличении к 2020 году ожидаемой средней продолжительности жизни населения Казахстана до 73 лет. В рамках программы предусмотрена модернизация и приоритетное развитие служб ПМСП для больных с ОНМК, развитие скорой неотложной медицинской помощи, развитие специализированной медицинской помощи с интеграцией всех служб здравоохранения [26].

Врачи при диагностике, постановки диагноза и лечении руководствуются клиническими протоколами Республиканского Центра Развития Здоровья

(РЦРЗ): Последствия инфаркта мозга (Клинический протокол МЗ РК – 2015г.); Ишемический инсульт (Клинический протокол МЗ РК – 2016г.) [27,28].

Таким образом, проблема инсульта является актуальной как во всем мире, так и в нашей стране. Следовательно, важно знать причины этого социального бремени, особенности и исходы пациентов ишемического инсульта, и факторы утяжеления в остром периоде, чтобы обеспечить безопасное и эффективное лечение больных. Многие вопросы не решены в отношении неврологического утяжеления, и это особенно касается раннего неврологического прогрессирования симптомов при различных подтипах ИИ, приводящих к летальному исходу в первые 24-72 часов.

1.2 Современные представления об этиологии и патогенезе ишемического инсульта

Важный вклад в понимании патогенеза инсульта вносит концепция гетерогенности и многофакторности ишемического инсульта [10,21].

ИИ развивается вследствие внезапной фокальной церебральной ишемии артериальной окклюзии или стеноза [31], тогда как причиной геморрагического инсульта является разрыв сосуда, с проникновением крови в пространства, окружающие клетки мозга, или разрыв мозговой аневризмы [32]. ИИ включает несколько подтипов с различными патофизиологическими механизмами, наиболее распространенными из которых являются инсульт вследствие поражения крупных сосудов, малых сосудов и инсульт кардиоэмболического характера [33,34]. Ишемические повреждения в основном вызваны тромбозом, эмболией или фокальной гипоперфузией, приводящие к снижению или прерыванию мозгового кровотока и нарушениям энергетического обмена. Это ведет к неврологической дисфункции вследствие лишения кислорода и глюкозы [34,35], потому что мозг не имеет независимого питания и не метаболизируется анаэробным образом, индуцируя высвобождение факторов, которые в свою очередь играют важную роль в разрушении мозговой ткани [31-35].

Приблизительно 45% ИИ вызвано тромбозом малой или крупной артерии, 20% по происхождению являются эмболическими, а в остальных случаях причину установить не удастся [31]. Фокальный ИИ вызван прерыванием артериального кровотока в определенной области паренхимы головного мозга, вследствие тромбоза или эмболии [31,32]. В эксперименте доказано, что в течение 10 секунд после прекращения церебрального кровотока и нарушения обмена веществ ткани мозга, электроэнцефалография (ЭЭГ) фиксирует замедление электрической активности мозга, и дисфункция становится клинически очевидной. Если кровообращение немедленно восстанавливается, то происходит полное восстановление функции мозга [33], при этом степень ишемического повреждения находится в зависимости от глубины и длительности снижения церебрального кровотока [34]. Глобальная ишемия, вызванная глубоким снижением системного артериального давления,

приводит к обструкции кровотока и, взаимодействуя с компонентами крови, вызывает тромбоз и блокаду кровотока в этом сосуде [31,32,33].

В дополнение к сосудистому стенозу или окклюзии в месте сосудистых изменений, нарушение кровоснабжения и последовательные инфаркты также могут быть вызваны эмболией, возникающей из-за сосудистых поражений, расположенных более дистально от источника или из сердца. В редких случаях существует вероятность того, что на месте окклюзии тромб развивается антероградно по всей длине сосуда [31,32,33,34,35].

Изменения в крупных артериях, снабжающих мозг, включая аорту, в основном вызваны атеросклерозом. В то время как артерии среднего калибра могут поражаться различными острыми или хроническими сосудистыми заболеваниями воспалительного происхождения, например, инфекционного генеза [36,37]. При некоторых заболеваниях, поражающих сосуды головного мозга, этиология и патогенез все еще неясны, например, болезнь Мюльля и фибромускулярная дисплазия, но эти нарушения характеризуются типичной картиной сосудистых изменений. Некоторые артериопатии являются наследственными, такими как CADASIL (церебральная аутосомно-доминантная артериопатия с подкорковыми инфарктами и лейкоэнцефалопатией). Все эти сосудистые нарушения могут вызвать обструкцию и привести к тромбозу и эмболии [38].

Сосуды головного мозга малого калибра страдают чаще от гиалиноза и фиброза. Так называемая «болезнь малых сосудов» может вызывать лакунарные инфаркты (ЛИ) и, если она широко распространена, то становится субстратом для сосудистых когнитивных нарушений и сосудистой деменции.

Этиология и патофизиология различных специфических сосудистых нарушений широко обсуждаются в литературе. Изменения в крупных артериях, снабжающих мозг, включая аорту, в основном вызваны атеросклерозом.

Основным патологическим поражением является атероматозная бляшка, а наиболее часто поражаемыми участками являются аорта, коронарные артерии, сонная артерия в месте ее бифуркации и базилярная артерия.

Артериосклероз – это более общий термин, описывающий утолщение артерий, включает в себя как склероз типа Мёнкеберга с кальцификацией в оболочечной среде и артериосклероз с пролиферативными и гиалиновыми изменениями, влияющими на артериолы. По мнению ученых, атеросклероз начинается в молодом возрасте, повреждения накапливаются и растут на протяжении всей жизни и становятся симптоматически и клинически очевидными, когда поражаются конечные органы [39,40]. Первоначальные процессы атеросклероза связаны с «жировыми отложениями» и «скоплением клеток интимы». Эти изменения происходят в детстве и подростковом возрасте и не обязательно приводят к образованию атеросклеротических бляшек. Жировые отложения являются очаговыми областями внутриклеточного липидного обмена, как в макрофагах, так и в клетках гладкой мускулатуры.

Были предложены различные концепции для объяснения прогрессирования таких поражений, приводящих к определенному

атеросклерозу [40], наиболее примечательным из которых является гипотеза ответа на травму, постулирующая клеточный и молекулярный ответ на различные атерогенные стимулы в форме воспалительного процесса [39]. Это воспаление развивается одновременно с накоплением минимально окисленных липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) [40] стимулирует сосудистые клетки гладкой мускулатуры (СКГМ), эндотелиальные клетки и макрофаги, и в результате пенные клетки объединяются с накоплением окисленного ЛПНП. На последующих стадиях развития атеросклеротической бляшки СКГМ мигрируют, размножаются и синтезируют компоненты внеклеточного матрикса на просветной стороне стенки сосуда, образуя фиброзную крышку атеросклеротического поражения [39,40].

По мере развития атеросклероза весь сосуд может меняться в диаметре. Однако, как только бляшка увеличится более 40% площади сосуда, артерия больше не увеличивается, и просвет сужается по мере роста бляшки. В уязвимых бляшках тромбоз, образующийся на нарушенном поражении, еще сужает просвет сосуда и может привести к окклюзии или быть источником эмболии [40-43].

В редких случаях бляшки уменьшают коллаген и эластин с формированием тонкой и ослабленной артериальной стенки, что приводит к образованию аневризмы, которое при разрыве может быть источником внутримозгового кровоизлияния.

В исследованиях доказано, нарушение реологических свойств крови приводит к изменению эндотелия сосудов. Тромбоциты быстро прилипают к стенке сосуда через гликопротеины тромбоцитов [42].

Поскольку тромбоциты являются источником окиси азота (NO), возникающий дефицит биологически активного NO, который является эффективным вазодилататором, способствует прогрессированию тромбоза путем увеличения активации тромбоцитов, увеличения пролиферации и миграции СКГМ и участия в неоваскуляризации [42,43]. Активированные тромбоциты также высвобождают аденозиндифосфат (АДФ) и тромбоксан А₂ с последующей активацией свертывающего каскада. Растущий тромб сужает просвет или даже окклюдует кровоток в сосуде. Атеросклеротические тромбы также являются источником эмболий, которые являются первичными патофизиологическими механизмами ишемических инсультов, особенно при патологии сонной артерии или заболеваний сердечного происхождения.

Заболевание мелких сосудов обычно поражает артериолы, и ассоциируются с АГ. Это обусловлено субэндотелиальным накоплением патологического белка - гиалина, образованного из мукополисахаридов и матричных белков, что приводит к сужению просвета или окклюзии этих мелких сосудов. Часто это связано с фиброзом, который поражает не только артериолы, но и другие небольшие сосуды: капилляры и венулы. Липогиалиноз также ослабляет стенку сосуда, предрасполагая его к образованию «милиарных аневризм». Заболевания малых сосудов приводит к развитию ЛИ [40]. В дальнейшем вокруг пораженных артерий развиваются небольшие круглые

полости «кримблоры» из-за нарушенной подачи кислорода и метаболического субстрата. Эти «полости» вместе с миллиарными аневризмами являются местами разрыва сосудов, вызывающие типичные гипертонические внутримозговые кровоизлияния [40,42,43].

Подавляющее большинство ОНМК развиваются по ишемическому типу. Имеются данные, что доля ишемического инсульта составляет 70–85% [24,28,38]. К наиболее достоверным данным можно отнести исследование Framingham Stroke Risk (FSRP) о внутрибольничной оценке инсульта: где 60% - это атеротромботический подтип ИИ, 25,1% - эмболический, 5,4% - субарахноидальные кровоизлияния, 8,3% - гемморрагический инсульт и 1,2% неопределенного генеза [44,45,46]. Кроме того, отдельно были выделены транзиторные ишемические атаки (ТИА) в 14,8% от общего объема цереброваскулярных событий [39].

Ишемические инсульты вызваны критическим снижением регионального церебрального кровотока, и если критическое снижение кровотока имеет длительную продолжительность, они вызваны атеротромботическими изменениями артерий, снабжающих мозг или эмболией.

Как указывалось выше, источником эмболий может быть сердце, аорта или другие крупные артерии. Патологический субстрат ИИ представляет собой ишемический инфаркт ткани головного мозга; местоположение, размер и форма этих инфарктов зависят от размеров окклюзированных сосудов, механизмов артериальной обструкции и компенсаторной способности сосудистого русла [39,40].

Окклюзия артерий, снабжающих определенные участки мозга атеротромбозом или эмболизацией, приводит к территориальным инфарктам различного размера. Они могут быть большими - например, вся территория, снабженная средней мозговой артерией (СМА), или небольших размеров, если ветви крупных артерий закрыты или, если компенсирующая коллатеральная перфузия, например, через Виллизиев круг или других анастомозов - эффективна в снижении площади критически уменьшенного потока [39,40].

В меньшем числе случаев инфаркты также могут развиваться на пограничных зонах между сосудистыми территориями, когда несколько крупных артерий являются стенозированными, а перфузия в этих участках не может поддерживаться выше критического порога при особом напряжении [39]. Инфаркт пограничной зоны является подтипом инфарктов с низким потоком или гемодинамически индуцированных явлений, которые являются результатом критически сниженного давления перфузии головного мозга в артериях головного мозга, расположенных дальше по течению, что приводит к снижению мозгового кровотока и доставки кислорода в некоторых уязвимых зонах мозга. Инфаркты пограничной зоны обычно расположены в областях коры головного мозга между территориями крупных церебральных артерий, а также в области подкорковых структур [39].

ЛИ отражают заболевание пенетрирующих артерий, проникающих в мозг, для обеспечения капсулы, базальных ганглиев, таламуса и парамедианных

областей мозга [47]. Чаще всего они вызваны липолиалинозом глубоких артерий (болезнь малых артерий); реже причинами являются стеноз ствола СМА и микроэмболизация на проникающие артериальные территории.

Патологически эти лакуны определяются как небольшие кистозные трабекулированные рубцы диаметром около 5 мм. Они часто встречаются на магнитно-резонансных изображениях, в виде лакун диаметром до 1,5 см. Классические лакунарные синдромы включают преимущественно моторные, преимущественно сенсорные и сенсомоторные синдромы, иногда атаксический гемипарез, неловкую руку, дизартрию и гемихорею/гемибаллизм.

Геморрагические инфаркты, то есть «красные инфаркты», определяются как ишемические инфаркты, в которых различное количество клеток крови находится в некротической ткани. Площадь очага может варьировать от нескольких петехиальных кровотечений в сером веществе коры и базальных ганглиев до крупных кровоизлияний с участием областей коры и глубокого полушария [47,48].

Геморрагическая трансформация часто появляется во время второй и третьей фазы развития инфаркта, когда появляются макрофаги и новые кровеносные сосуды в ткани, состоящей из нейронных теней и пролиферирующих астроцитов. В двух третей всех инфарктов петехиальные кровоизлияния обнаруживаются микроскопически. Макроскопически красные инфаркты содержат многофокальные кровотечения, которые более или менее сливаются и преобладают в коре головного мозга и базальных ганглиях, которые богаче капиллярами, чем белое вещество [48]. Если кровоизлияния станут слитыми, то могут развиваться гематомы, а обширный отек может способствовать масс-эффектам и привести к злокачественному инфаркту [47,48].

Согласно проведенным исследованиям, раннее выявление этиологии, патогенеза инсульта и раннее начало лечения с быстрой доставкой пациента в медицинское учреждение имеет первостепенное значение для лучшего исхода заболевания [46,47,48].

Современная теория ИИ формируется на основе огромного количества данных, полученных как путем экспериментального моделирования ишемии мозга, так и на основе длительных клинических исследований [21,32,36,37,39,48].

Таким образом, к настоящему времени сложилось четкое представление об этиологии и патогенезе ИИ как о мультифакториальном заболевании.

1.3 Патогенетические подтипы ИИ. Современная классификация ишемического инсульта

Этиология ишемического инсульта является многофакторной, поэтому его идеальная классификация должна включать все основные патологические состояния, которые могут потенциально и наиболее вероятно отражать этиологические и патофизиологические механизмы [49]. Выявление факторов развития ИИ во многом определяет не только течение заболевания, но и

прогноз, а также исходы заболевания [40]. Достижения в области нейровизуализации значительно улучшили понимание механизмов ИИ, позволяя индивидуализировать стратегии лечения в соответствии с конкретной патофизиологией инсульта [50,51,58].

Trial of Org 10172 in Acute Stroke treatment [52,53,54], была первой системой, основанной на механизмах инсульта. Согласно этой классификации выделяется несколько механизмов возникновения очаговой ишемии мозга, которые обусловлены поражением сосудов крупного, среднего и мелкого калибра.

С момента создания наиболее популярной классификации TOAST появились новые классификации, в частности GENIC (2000) [55]. В дальнейшем классификация ASCO (2009), где на основе фенотипа каждый пациент характеризуется вариантами: А- для атеросклероза, S-для заболевания малого сосуда, С- для сердечного источника, О- для других причин [56,57].

Классификация CISS (2011), позволяет выделить пациентов с множественными причинами инсульта в соответствии с «наиболее вероятной» причиной проявления цереброваскулярного события [57].

В классификации SPARKLE (2014) предложены новые критерии оценки тяжести церебрального атеросклероза. SPARKLE является надежной системой классификации ИИ, которая позволяет оценить состояние крупных артерий, и определить более специфическое лечение основных причин цереброваскулярных заболеваний, чтобы уменьшить рецидивирующие инсульты [58,59].

В настоящее время классификация TOAST наиболее широко используется в клинической практике.

1.4 Современные концепции повреждения нервной ткани в зоне ишемической полутени

За последние два десятилетия был достигнут огромный прогресс в понимании сложных клеточных и молекулярных механизмов патофизиологии как поэтапного, многокомпонентного, развернутого во времени процесса ИИ [61-70].

Большое количество исследований определяют ишемию мозга как снижение кровотока, достаточное для изменений функции нейрона [61-63]. Мозговая ткань чувствительна к ишемии, так что даже короткие эпизоды гипоперфузии для нейронов могут инициировать сложную последовательность событий, которые в конечном итоге могут завершиться клеточной смертью. Различные области мозга имеют различные пороговые значения для повреждения ишемических клеток, причем белое вещество более устойчиво, чем серое вещество [61,62,63].

Также известно, что острый ИИ вызывает необратимо поврежденный очаг некроза и окружающую ткань «пенумбра», который является фармакологической мишенью для лечения острого ишемического инсульта [61,62,63]. Успешное лечение ИИ заключается в том, чтобы спасти «пенумбру»

как можно больше и на ранней стадии. Примерно у половины всех пациентов с острой ишемией ткани мозга «пенумбра» выявляется на МРТ, что является предпосылкой для тромболитической терапии в период «терапевтического окна» [63,64].

Однако из-за умеренной частоты реканализации сосудов, ограниченного временного окна и количества противопоказаний к тромболизу, только малый процент пациентов получает рекомбинантный тканевой активатор плазминогена (rtPA). Кроме того, даже у пациентов, получающих rtPA, прогноз с более тяжелыми начальными инсультами часто не улучшается [64]. Пенумбра, нестабильная зона, допускает выживание клеток в очень короткий отрезок времени.

Развитие нейропротективного лечения ИИ затруднено гематоэнцефалическим барьером и уменьшением кровоснабжения ишемической ткани головного мозга, что приводит к повторным эпизодам [65,66]. Доставка лекарств в ишемизированную зону головного мозга, давно является технически узким местом, ограничивающим лечение острых инсультов. Прорыв в изучении этой области, возможно, принесет множество взаимосвязанных приложений.

В экспериментальных исследованиях на животных динамические изменения области полутени и расширение инфаркта проиллюстрированы в исследованиях, в которых точно контролируется время окклюзии и реперфузии. После окклюзии средней мозговой артерии (СМА) инфаркт быстро развивается в первые несколько часов, поддерживая концепцию, что «время - мозг» [67-69].

Согласно исследованиям церебральная ишемия вызывает нарушение энергетического обмена. Существующая концепция эксайтотоксичности глутамата, согласно которой уже через несколько секунд после прекращения кровотока в область головного мозга начинается ишемический каскад, вызвала большую надежду на новые методы лечения инсульта [10, 70-89].

Из-за нарушения кровотока существует ограничение доставки кислорода и метаболитических субстратов в нейроны, что вызывает снижение АТФ и истощение энергии [70-75]. Этот механизм включает в себя ряд последующих патологических биохимических событий, которые в конечном итоге приводят к распаду клеточных мембран и гибели нейронов в зоне инфаркта [70, 72-75]. При глобальной ишемии уровни АТФ головного мозга снижаются примерно до 60% от базовой линии за одну минуту [72,76,82]. В дальнейшем тяжелая церебральная ишемия приводит к потере запасов энергии, приводящей к ионному дисбалансу и высвобождению нейротрансмиттеров и ингибированию обратного захвата. Особенно это касается глутамата, основного эксайтотоксического нейротрансмиттера. Эксайтотоксичность считается основным механизмом, способствующим нейродегенерации во время ишемии центральной нервной системы. Синаптическая гиперактивность приводит к чрезмерному высвобождению глутамата, основного возбуждающего нейротрансмиттера в центральной нервной системе млекопитающих. Глутамат активирует ряд рецепторов постсинаптических клеточных мембран, которые

после активации открывают свою пороговую часть ионного канала, чтобы вызвать приток ионов или отток. Это приводит к нарушению внутриклеточной ионной среды, лучшей характеристикой которой является приток натрия, хлорида и Ca^{2+} , избыток которых активирует внутриклеточные Ca^{2+} зависимые сигнальные каскады, которые в конечном итоге приводят к гибели нейронов [73,74,75]. Кроме того, глутаматные рецепторы способствуют чрезмерному притоку натрия и воды с сопутствующим отеком клеток, отеком и сокращением внеклеточного пространства [76,77]. Массивный приток кальция активирует катаболический процесс, опосредуемый протеазами, липазами и нуклеазами [77].

Высокий уровень содержания кальция, натрия и аденозиндифосфата (АДФ) в ишемических клетках стимулирует чрезмерное производство радикалов митохондриального кислорода в других источниках производства свободных радикалов, таких как синтез простагландинов и деградация гипоксантина [81-89]. В дальнейшем реактивные виды кислорода непосредственно повреждают липиды, белки, нуклеиновую кислоту и углеводы [85,86]. Оксидантный стресс является основным механизмом повреждения головного мозга и гибели нейронов при ишемическом инсульте [89]

Сразу же после ишемии происходит нарушение клеточных энергозависимых процессов, и нейроны неспособны сохранить нормальный трансмембранный ионный градиент, что приводит к дисбалансу между ионами и водой, эти мультимодальные каскады приводят к апоптозу и некрозу клеток [86,87,88].

В результате церебральная ишемия вызывает несколько патологических процессов (эксайтотоксичность, окислительный стресс, воспаление и апоптоз) в зоне полутени, что приводит к гибели нейронов [86,87,88]. Эти процессы рассматриваются как центральные механизмы, лежащие в основе гибели нейронов при ишемическом инсульте [86,87,88]. В конечном счете, блокирование интегрированных механизмов смерти нейронов в ишемическом каскаде происходят в чрезвычайно узких временных параметрах, в клинической практике блокирование этих патологических цепей затруднительно.

Таким образом, потенциально спасаемая ткань мозга - «пенумбра» при ишемии является направлением для инновационных исследований в целях предотвращения необратимых процессов нейрона.

Современная концепция повреждения нервной ткани в зоне ишемической полутени, а также попытки изучить и доказать генетическую природу большинства заболеваний, привели к открытию новых маркеров [88].

Особый интерес представляют исследования молекулярных основ развития ишемического повреждения мозга и поиски возможностей управления экспрессией генов, вовлеченных в реализацию клеточной гибели в условиях ишемии, в том числе роль микроРНК. [261,278].

1.5 Влияние факторов риска ишемического инсульта на тяжесть течения в остром периоде

Инсульт считается заболеванием, которое может развиваться в результате длительного воздействия факторов риска, связанных с образом жизни. Последние четверть века в целом ряде стран были предприняты значительные усилия по снижению смертности населения от неинфекционных заболеваний, которые позволили в конечном итоге существенно повлиять в них на общую смертность. Однако проблема демографического и экономического бремени неинфекционных заболеваний, в том числе инсульта для большинства стран остается очень актуальной. Основным вопросом и настоящим вызовом для многих государств стала нерешенная проблема с факторами риска, быстро растущая распространенность ожирения, которое порождает рост артериальной гипертонии, сахарного диабета, и их инвалидизирующих и фатальных осложнений, таких как инсульт.

Несколько популяционных исследований, отмечают, что коррекция факторов риска сосудистых заболеваний в течение последнего десятилетия умеренно снизила показатели заболеваемости инсультом в развитых странах [101,102,103,104,105,106,107], так контроль АД связан со значительным снижением риска инсульта [107,108,109,110,111]. Однако в остром периоде ИИ, нарастание неврологических симптомов и ухудшение состояния пациентов обосновано снижением АД, которое часто встречается при поступлении в стационар и связано со значительной смертностью [107, 111].

Большая роль отводится немодифицируемым факторам риска инсульта, которые включают возраст, пол, расовую принадлежность. Немодифицируемые факторы риска служат маркерами для высокого риска инсульта, например, частота развития инсульта увеличивается с возрастом, с удвоением заболеваемости за каждое десятилетие после 55 лет [108,109]. Средний возраст больных с ИИ приходится на 69,2 года, но в последнее время увеличилась заболеваемость и распространенность ИИ в возрасте до 50 лет, в частности по данным разных авторов от 12,9% до 18,6% [112-117].

Влияние пола пациента на риск возникновения инсульта зависит от возраста. В молодом возрасте женщины имеют более высокий риск развития инсульта, в старших возрастных группах относительный риск несколько выше для мужчин [118,120,121]. Высокий риск инсульта среди молодых женщин, связывают с беременностью и послеродовым состоянием, а также применением гормональных контрацептивов. В этих же исследованиях отмечены, гендерные различия риска инсульта у женщин. [118,120,121].

Большое количество работ, посвящено модифицируемым изменяемым факторам риска, которые имеют первостепенное значение, поскольку поддаются вмешательству, для снижения риска инсульта при раннем их выявлении [110-112,116,117,119,122,125].

Знания о факторах риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) были получены в основном из исследований в европейских группах населения. В

этих исследованиях было выявлено несколько потенциальных факторов риска ССЗ как курение, высокое артериальное давление и ожирение [132,133].

В крупных международных исследованиях «INTERSTROKE 2007-2015гг.» [8], а также «GBD1990-2013гг.» [4] был проведен анализ модифицируемых факторов риска инсульта. Результаты, полученные в этих эпидемиологических исследованиях, показали, что факторы риска развития инсульта и их ассоциации с инсультом были одинаковыми в разных частях мира.

Важность проблемы мозгового инсульта кроется не столько в самом заболевании как таковом, сколько в его исходах. Прогрессирование неврологической картины при остром ишемическом инсульте является распространенным явлением, и такое ухудшение варьирует от 13% до 38% [155].

Основные механизмы течения в остром периоде неоднородны. В исследованиях выявлено несколько причин клинического ухудшения начального периода инсульта, которые включают тяжесть начального периода инсульта, окклюзию крупного сосуда, СД, гипотензию и ФП [156].

По результатам международного исследования INTERSTROKE включающего 3000 случаев инсульта показано, что примерно 90% инсультов можно объяснить десятью факторами риска: АГ, диабет, болезни сердца, курение, абдоминальное ожирение, гиперлипидемия, низкая физическая активность, злоупотребление алкоголем, нарушение питания, стресс и депрессия [8,135]. АГ является самым важным модифицируемым фактором риска развития для всех типов инсульта в диапазоне 35 - 52%, в зависимости от определения гипертензии и подтипов инсульта [8,135,137]. В этом же исследовании у лиц с АГ (АД выше 160/90 мм рт.ст.) в 2,8 раза чаще развивался инсульт по сравнению с группой без гипертензии [8]. Кроме того, было обнаружено, что при АГ в два раза чаще выявлялся инсульт, в сравнении с ИБС [8]. Более сильные различия среди пациентов инсультом и АГ были обнаружены у лиц моложе 45 лет, чем у лиц в возрасте старше 45 лет, с разницей коэффициентов 8,5 и 3,9 соответственно [8]. В других систематических исследованиях выяснилось, что АГ способствует развитию инсультов в 60% случаев несколькими механизмами, такими как атеротромбоз в сонных артериях, позвоночных артериях и дуге аорты; поражение мелких мозговых артерий; дисфункция левого желудочка и ФП [139-141].

Существующие данные свидетельствуют о значительных преимуществах снижения АД для профилактики инсульта. Результаты метаанализа клинических испытаний 2009 года за период с 1966 по 2007 год продемонстрировали уменьшение инсульта на 41% при снижении АД на 10 мм рт.ст. систолического и 5 мм рт.ст. диастолического независимо от АД [137].

Доказано, что более низкие уровни АД могут не всегда приводить к лучшим результатам у пациентов с СД второго типа или при другом клинически выраженном сосудистом заболевании [108].

Исследования Cushman W.C., Evans G.W., Byington R. Et al. (2010г) показали, что достижение систолического АД ниже 120 мм рт.ст. у пациентов с СД второго типа или с нарушениями толерантности к глюкозе уменьшило риск инсульта по сравнению с АД ниже 140 мм рт.ст [144].

В опубликованных в 2011г. результатах метаанализа 13 клинических исследований, выявлено, что у пациентов с СД второго типа или нарушениями глюкозы натощак приемлемые уровни систолического АД находятся в диапазоне от 130 до 135 мм рт.ст. [145].

В многоцентровом проспективном исследовании пациентов с недавним некардиоэмболическим ишемическим инсультом очень низкое нормальное АД (<120 мм рт.ст.) по сравнению с высоким нормальным (130-139 мм рт.ст.) коррелирует с повышенным риском развития и утяжеления инсульта [146].

В обсервационном исследовании INVEST при анализе пациентов с ИБС и СД второго типа не наблюдалось снижения риска инсульта с САД <130 мм рт.ст., по сравнению с САД от 130 до 140 мм рт.ст. [147].

В исследовании ONTARGET, в котором участвовали пациенты с высоким риском ССЗ, контроль АД <140/90 или <130/80 мм рт.ст. был связан с постепенным снижением риска инсульта у больных СД второго типа. Однако в этом исследовании достижение цели <130/80 мм рт.ст. мало повлияло на риск общих сердечно-сосудистых событий или сердечно-сосудистой смертности [148].

Результаты метаанализа, который включал 25 клинических исследований, показали, что антигипертензивное лечение способствовало снижению риска инсульта на 23% среди пациентов с ССЗ [149]. Однако только в нескольких исследованиях, включенных в этот метаанализ, сообщается о базовых уровнях АД и, таким образом, ассоциации между уровнями АД и риском возникновения или повторения сердечно-сосудистых событий не были оценены. Как отмечали авторы, наблюдаемое преимущество, на фоне использования антигипертензивной терапии, может быть связано с понижением АД, а также с другими тканевыми или нейрогормональными механизмами [149].

Снижение риска развития инсульта на 35% наблюдалось при метаанализе рандомизированных контролируемых исследований среди пациентов АГ старше 80 лет с или без ранее существовавшего сердечно-сосудистого заболевания, а также имелась обратная связь между общей смертностью и более высокой интенсивностью антигипертензивного лечения [150]. Также были высказаны опасения, что снижение диастолического АД ниже оптимального (80 мм рт.ст.) может увеличить риск развития коронарных событий, ухудшая коронарную перфузию, особенно у пожилых пациентов, пациентов с гипертрофией левого желудочка и/или ИБС [151]. Есть и другие исследования, где не найдено достаточных доказательств в пользу зависимости низкого диастолического АД с инсультом, указывая на то, что мозговой кровоток не может существенно зависеть от низкого диастолического АД [152].

В руководстве Американской ассоциации кардиологов по профилактике инсульта (2006г.) отмечено, что у пациентов с ИИ повышение АД в течение

первых 24 часов после начала инсульта связано с нарушениями цереброваскулярной ауторегуляции. Мозговой кровоток очень чувствителен к колебаниям АД. АД после острого инсульта увеличивает мозговой кровоток в ишемизированной зоне головного мозга. Повышенное артериальное давление увеличивает риск развития отека мозга и геморрагической трансформации инфаркта [153]. Клинические исследования также показали, что безопасно начинать повторное введение антигипертензивной терапии через 24 часа после инсульта у пациентов с уже существующей АД, только при стабильной неврологической симптоматике [153,154].

Таким образом, достижения в области визуализации мозга и оценки степени вовлечения сосудов позволили понять основные механизмы течения инсульта, тем самым предоставили возможность использовать профилактические и терапевтические вмешательства, специально направленные на них, хотя некоторые вопросы все еще остаются без ответа.

Согласно проведенным исследованиям, один из шести ишемических инсультов связан с фибрилляцией предсердий (ФП). ФП является значимым фактором риска инсульта и по некоторым оценкам в США 2,7-6,1 миллиона человек страдают этим недугом [12,160]. По результатам различных исследований около 2% людей моложе 65 лет имеют ФП, в то время как в возрасте старше 65 лет уже 9% [3,4,82,113,119,160,161]. Поскольку распространенность ФП увеличивается с возрастом, связанный с этим риск развития инсульта является самым высоким в старших возрастных группах [161-163].

Причинная связь между ФП и инсультом считается обусловленной застоем крови в фибриллирующем левом предсердии, что вызывает образование тромба и эмболизацию мозга [157,158].

Однако существуют данные противоположные этому предположению. Во-первых, имеется нечеткая зависимость между ФП, которая может возникать нерегулярно, нечасто и временем возникновения инсульта [164]. В частности, одна треть пациентов не имеет признаков ФП до момента инсульта, несмотря на месяцы предшествующего непрерывного мониторинга сердечного ритма [165]. Во-вторых, другие пароксизмальные наджелудочковые тахикардии, без фибрилляции, также были связаны с риском возникновения инсульта [165,166]. В-третьих, у пациентов с генетическими мутациями, ассоциированными с ФП (например, в гене для предвестника натрийуретического пептида А), инсульт возникает еще до наступления ФП [167].

В других исследованиях были обнаружены ассоциации между маркерами дисфункции предсердий и эмболическим инсультом у пациентов без диагноза ФП, так как левопредсердная тромбоэмболия может возникать в отсутствие ФП [167].

Некоторые аномалии ЭКГ, в частности широкие двугорбые зубцы Р в отведении V1, отражали деятельность левого предсердия, и были связаны с риском инсульта [169,170]. ФП может быть просто еще одним маркером риска инсульта, связанного с дисфункцией левого предсердия [171]. После инсульта,

риск последующей ФП может быть дополнительно увеличен за счет автономных расстройств и воспалительного состояния [171]. Существует доказательство, основанное на результатах анализа рандомизированных исследований, что антикоагуляция может принести пользу пациентам ИИ с повышенным NT-proBNP, у которых нет ФП [172].

Лица с наличием ИБС имеют двойной риск развития инсульта примерно 12%. У больных ИБС с гипертрофией левого желудочка в 3 раза выше риск развития инсульта, а у пациентов с сердечной недостаточностью этот риск увеличивается в 4 раза [173,174]. После перенесенного инфаркта миокарда в течение 5 лет сохраняется риск инсульта, и он составляет 8,1%, а пожилые пациенты или пациенты с фракцией выброса сердца менее 28% подвергаются более высокому риску развития инсульта [175,176].

Высказана точка зрения, что ФП возникает в результате взаимодействия между генетической предрасположенностью, эктопической электрической активностью и аномальным субстратом ткани предсердия [159].

В проспективном когортном исследовании при оценке раннего рецидива в остром периоде ИИ у пациентов с пароксизмальной ФП частота ранних ухудшений была выше, чем у пациентов с устойчивой ФП [166].

СД второго типа, один из основных факторов риска, приводящих как к лакунарному, так и атеротромботическому инульту [177, 178,179,180]. СД увеличивает риск первого инсульта на 11% и повторного инсульта на 9,1% [181].

В проспективном когортном исследовании с многоэтническим, городским пожилым населением Северного Манхэттена (NOMAS), диабет выявлялся у 50% среди лиц с инсультом и у 35% с ССЗ [182].

Пациенты с СД 2 типа имеют более высокую смертность, более тяжелую инвалидность и более медленное восстановление после инсульта, а также более высокие показатели утяжеления инсульта в остром периоде по сравнению с пациентами с недиабетическим инсультом [162,181].

Развитие инсульта вдвое выше у курильщиков по сравнению с некурящими людьми. Риск, связанный с курением, присутствует у всех возрастов, обоих полов и среди разных расовых и этнических групп. Патологический путь, способствующий повышенному риску, включает изменения связанные со стенозированием артерий, и в динамике крови: повышенными уровнями фибриногена, повышенной агрегацией тромбоцитов, снижением уровня холестерина липопротеидов высокой плотности и более высоким гематокритом. Примерно 18% инсульта связаны с активным курением сигарет. Даже пассивное курение сигарет повышает прогрессирование атеросклероза [162]. Framingham Stroke Risk (FSRP) - постоянно обновляемое исследование показало, что риск инсульта, связанный с курением, значительно уменьшается при отказе от курения, однако риск развития инсульта может быть на уровне некурящих в течение 5 лет после прекращения курения [183,184]. Курение изменяет влияние оральных контрацептивов на риск инсульта. В 7 раз

повышается риск среди женщин, которые курят и используют оральные контрацептивы [185].

Результаты исследований Chong J., Sacco R. (2005г.) показали, что злоупотребление алкоголем связано с повышенным АД, повышенной коагуляцией, сердечными аритмиями и уменьшением мозгового кровотока [162]. С другой стороны, потребление алкоголя до умеренного уровня связано с повышенным уровнем эндогенного тканевого плазминогена [181]. В этих же исследованиях показана, что физическая активность связана с уменьшением фибриногена, гомоцистеина и тромбоцитов, а также повышением липопротеидов высокой плотности и активатора плазминогена [162,181].

В многочисленных наблюдательных исследованиях выявлено, что физическая активность связана с меньшим риском инсульта, тогда как малоподвижный образ жизни связан с повышенным риском инсульта [186,187,188]. В опубликованных результатах метаанализа 23 исследований, показано, что у лиц с достаточной физической активностью на 27% меньше риск развития инсульта или смертности по сравнению с группой лиц без достаточной физической активности [189,190].

В руководстве Американской кардиологической ассоциации по профилактике инсульта (2014г.) говорится, что региональные клинические исследования могут выявить группы лиц с повышенным риском развития инсульта, могут лучше понять естественную историю определенных состояний и продвинуть направление терапевтических возможностей для идентификации людей, подвергающихся повышенному риску заболевания для снижения частоты инсульта [191].

В ряде исследований высказано мнение, что распространенность инсульта и стоимость его лечения, несомненно, будут возрастать по мере увеличения стареющего населения. Кроме того, заболеваемость и смертность от инсульта увеличиваются в менее развитых странах, где быстро меняется образ жизни и реструктуризация населения. В этих странах необходимы исследования для оценки заболеваемости, факторов риска и результатов лечения [192-197].

Таким образом, изучение в Республике Казахстан факторов риска ишемического инсульта и их влияние на тяжесть течения в остром периоде позволит разработать программы и более эффективные подходы ведения больных на госпитальном этапе для снижения смертности и инвалидизации больных.

Многочисленные исследования подтверждают, как и в случае с другими факторами риска развития инсульта, генетические риски являются немодифицируемыми и варьируются в зависимости от возраста, пола и расы [122,123,124,131].

В то же время, по результатам исследований некоторые генетические факторы могут быть модифицируемыми, если не излечимыми; например, пациентов с серповидно-клеточной анемией можно лечить обменным переливанием крови для снижения риска инсульта [198, 199,200].

По мнению многих исследователей, генетическая изменчивость может вносить вклад в риск инсульта через несколько потенциальных механизмов [201]. Нарушения одного гена могут вызывать редкие наследственные болезни, для которых инсульт является первичным и основным проявлением (например, аутосомно-доминантная артериопатия мозга с подкорковыми инфарктами и лейкоэнцефалопатией или CADASIL) [199].

С другой стороны расстройства с одним геном могут вызывать мульти системное расстройство, у которого инсульт - это всего лишь одно проявление (например, серповидноклеточная анемия) [200,201]. Некоторые общие варианты генетических полиморфизмов были связаны с риском инсульта, хотя индивидуальный вклад таких полиморфизмов считается скромным [201].

Генетические причины обычных факторов риска инсульта, такие как ФП, диабет и АГ, также связаны с риском развития инсульта [201]. Ожирение ассоциируется с некоторыми из главных факторов риска ССЗ, такими как АГ и низкая концентрация холестерина ЛПВП, а также с мелкодисперсным холестерином ЛПНП. Относительные риски наиболее тяжелых клинических проявлений ССЗ (инфаркт миокарда и инсульт) у людей с ожирением составляют 1,5–2,5 по сравнению с людьми нормального веса [204,205]. Фактором риска развития инсультов приводящего к атеросклерозу экстракраниальных и внутричерепных кровеносных сосудов является гиперлипидемия [206, 207]. Отношения между липидами плазмы и липопротеидами и риск возникновения ССЗ атеросклеротического генеза были отмечены в популяционных исследованиях в течение многих лет. Существует огромное количество доказательств того, что вмешательства, направленные на липиды и липопротеиды, могут снизить риск ССЗ. Однако связь между липидами и инсультом сложна. В большинстве эпидемиологических исследованиях существует прямая связь между уровнями холестерина и ишемическим инсультом, зависящая от подтипа инсульта.

Взаимосвязь между липидами и ИБС хорошо установлена, результаты же исследований, изучающих ассоциации между липидным профилем и инсультом, менее убедительны. В мета-анализе долгосрочных перспективных исследований, в основном в Европе и Северной Америке, холестерин ЛПНП был лишь незначительно связан с ишемическим инсультом и не связан с геморрагическим инсультом [208]. Несмотря на то, что была обнаружена корреляционная связь ЛПНП для АГ инфарктов, отрицательная связь наблюдалась при КЭ инфаркте [209]. Также обратные ассоциации общего холестерина в крови, а также концентрации ЛПНП прослежены с геморрагическим инсультом. Интенсивная терапия препаратами, которые приводят к низким уровням ЛПНП, может увеличить риск геморрагического инсульта [210].

В некоторых исследованиях отмечено, что низкие уровни ЛПНП, достигнутые во время интенсивного лечения статинами, не связаны с повышенным риском геморрагического инсульта, за исключением пациентов имевших в анамнезе геморрагический инсульт [211,212]. Результаты других

систематических исследований показывают, что пациенты, использующие терапию статинами, со снижением уровня ЛПНП на 1 ммоль/л приводит к уменьшению частоты ИИ на 16-17% независимо от возраста и АД [213,214]. Согласно результатам многих рандомизированных клинических исследований у пациентов с диабетом второго типа, фибраты не уменьшали риск развития инсульта [214]. Связь между дислипидемией и атеротромботическим подтипом крупных артерий показана, во многих исследованиях [213-216].

В то время как дислипидемия является фактором риска развития ИБС, большинство исследований не выявили связи между дислипидемией и эмболическим инсультом. Не все исследования показали зависимость между дислипидемией и ЛИ [217-220].

Таким образом, липиды имеют сложную связь с цереброваскулярными заболеваниями. Существует прямая зависимость между уровнями холестерина и ишемическим инсультом и, в частности, атеросклеротической болезнью, и ассоциации наиболее сильны для общего холестерина и ЛПНП.

Согласно рекомендациям Американской кардиологической ассоциации и Американской ассоциации инсульта необходимо назначать высокоинтенсивную статиную терапию для пациентов с ишемическим инсультом, предположительно связанных с атеросклерозом, независимо от уровня ЛПНП. Высокоинтенсивная терапия статинами определяется как, достаточная для снижения уровня ЛПНП на 50%. Рекомендации по использованию терапии статинами у пациентов с неатеросклеротическими механизмами инсульта должно основываться на их общем риске ССЗ и сопутствующих заболеваниях [221].

Согласно многочисленным исследованиям, фактором риска предотвратимого инфаркта головного мозга является атеросклеротическая болезнь крупных сосудов, в частности стеноз внутренней сонной артерии (ВСА) [222-224,226].

У мужчин с бессимптомным стенозом сонных артерий (без эпизодов инсульта или ТИА на стороне стеноза) с более чем 60%, каротидная эндартерэктомия (КЭЭ) была полезной [223]. Согласно рекомендаций американской ассоциации кардиологов пациентам с ТИА или ишемическим инсультом в течение последних шести месяцев и с ипсилатеральным стенозом рекомендуется каротидная эндартерэктомия, если стеноз составляет от 70% до 99% [224]. По мнению других авторов эндартерэктомия не приносит пользы у бессимптомных пациентов со стенозом менее 50% [225,226]. В тоже время клинические исследования каротидной реваскуляризации, эндартерэктомии и стентирования продолжаются [228].

Поиск эффективных методов лечения инсультов в остром периоде выявил множество неудач в клинических испытаниях [3,4,8]. Напротив, профилактика инсульта достигла больших успехов в последние годы и остается жизнеспособным средством снижения бремени этого заболевания в обществе, особенно, с учетом большого числа случаев инсульта во всем мире, его факторов риска и недостаточности доказанной терапии острых инсультов.

Примерно у трети пациентов, страдающих от острого ишемического инсульта, наблюдается клиническое ухудшение через несколько дней после госпитализации [229,230]. При этом выявленные ухудшения определяют как краткосрочный, так и долгосрочный прогноз [231,232]. Неврологическое ухудшение у пациентов с острым ишемическим инсультом часто коррелирует со значительной заболеваемостью и смертностью. По результатам некоторых исследований распространенность неврологического ухудшения у пациентов варьируется от 13% до 38% [231,232,234,235].

В более поздней стадии инсульта, имеют значение системные факторы, такие как инфекция, электролитные нарушения, ишемия миокарда, венозная тромбоэмболия и т. д. [230,232].

Несколько факторов риска для неврологического ухудшения были ранее описаны. Механизмы, лежащие в основе раннего ухудшения, в основном неврологические. По данным авторов разных стран, к этим факторам риска относятся тяжесть инсульта в остром периоде [230,231], а также повышение уровня глюкозы в сыворотке при поступлении [230].

В других работах придают значение повышению количества лейкоцитов [233,234], низкому уровню гемоглобина в сыворотке [235].

Среди основных причин ухудшения также выделяют окклюзию внутренней сонной артерии [236], инфаркт в области ствола мозга [236], значительное снижение систолического АД [237] или повышение систолического АД [237,238], СД [236], ФП [231,239] и многие другие факторы [240,241].

Особую актуальность приобретают исследования, посвященные раскрытию механизмов влияния факторов риска, усугубляющих течение ишемического инсульта в острейшем периоде, или приводящих к летальному исходу. Необходимы эффективная тактика ведения и стратегии лечения, чтобы уменьшить его частоту и влияние на выздоровление. К сожалению, нет подтверждений подобных исследований, которые проводились бы в нашей стране и СНГ.

1.6 Роль микроРНК в регуляции нейрогенеза, ангиогенеза и нейропротекции

В 2006 г. Craig Mello и Andrew Fire были удостоены Нобелевской премии в области физиологии и медицины за исследование способа передачи генетической информации на посттранскрипционном уровне. Одними из молекул, принимающих участие в РНК-интерференции являются малые некодирующие рибонуклеиновые кислоты (миРНК).

МикроРНК представляют собой небольшие, некодирующие РНК, которые включают около 20-24 нуклеотидов, которые сохраняются в высокой степени в эволюции [242].

Достигнуты большие успехи в понимании роли микроРНК в регуляции многочисленных клеточных процессов, включая развитие, пролиферацию, дифференцировку и пластичность [242,243].

Экспериментальными работами доказано вовлечение в патогенез ишемического инсульта, профилей экспрессии мкРНК и соответствующих генов-мишеней в ткани мозга и крови крыс с фокальной ишемией мозга и больных с острым периодом инсульта для оценки возможности их использования в качестве биомаркеров ишемического повреждения, что имеет существенное значение для медицины. [244].

Доказано, что микроРНК играют центральную роль в контроле баланса между самообновлением стволовых клеток и изменении экспрессии регуляторов стволовых клеток [245-255].

Нейронные стволовые клетки являются подмножеством недифференцированных предшественников, которые сохраняют способность к пролиферации и самообновлению и способны генерировать нейронные и глиальные сети в нервной системе [256]. Нейрогенез, из нервных стволовых клеток является фундаментальным процессом как для эмбрионального развития, так и для пластичности взрослого мозга.

Следовательно, процесс создания правильно функционирующего нейрона, включая самообновление нервных стволовых клеток и миграцию, созревание и интеграцию нейронов, регулируется динамическим взаимодействием между факторами транскрипции, эпигенетическим контролем, регуляторами микроРНК и клеточными внешними сигналами из «ниши», где проживают стволовые клетки [257].

МикроРНК регулируют множественные стадии нейрогенеза. Нейрогенез включает в себя самообновление и определение судьбы нейронных стволовых клеток, миграцию и созревание молодых нейронов, и функциональную интеграцию новых нейронов в нейронные схемы. МикроРНК координирует все эти стадии нейрогенеза путем спаривания оснований с мишенями для регулирования экспрессии гена-мишени. МикроРНК также регулируется факторами транскрипции, ядерным рецептором (TLX), и эпигенетическими факторами, такими как MeCP2 и MBD1, играя важную роль в модуляции нейрогенеза у взрослых [258,259].

МикроРНК в избытке представлены в нервной системе, где они играют ключевую роль в развитии и, вероятно, будут важными медиаторами пластичности. Высоко консервативный путь биогенеза miRNA тесно связан с транспортом и трансляцией мРНК в нейронах. Идентификация мРНК-мишеней, обещает дать новое представление о многих аспектах функционирования нейронов [260]. Исследования показали, что многие патологические состояния значительно изменяют профили miRNA головного мозга, которые могут оказать глубокое влияние на исход заболевания.

На основании современных данных становится очевидной важная роль микроРНК в качестве ключевых медиаторов в молекулярных процессах, лежащих в основе ишемии головного мозга и связанных с ним заболеваний [242-247].

Нейротрофными факторами являются небольшие молекулы полипептида, которые участвуют в пролиферации клеток, миграции, дифференцировке и развитии нервной системы [261,262].

Jessell T., Sanes J. (2000г.) предположили, что в ЦНС взрослых нейротрофические факторы играют важную роль в выживании и поддержании нейронных клеток путем активации генов выживаемости клеток и ингибирования генов суицида. Именно по этой причине лишение этих факторов в ишемической зоне полутени может спровоцировать апоптоз нейронов и привести к гибели клеток [260].

В экспериментальных исследованиях были отмечены нейротрофические факторы, такие как фактор роста нервов, нейротрофический фактор мозга и инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1), которые уменьшают размер инфаркта у животных [262].

Дальнейшие исследования показали, что ишемически активированная микроглия может выделять различные цитопротекторные вещества путем продуцирования нейротрофических молекул, таких как IGF-1, BDNF и нескольких других факторов роста [263,264].

Установлено, что miR-Let7f влияет на сигнализацию IGF-1 для активации трансляции, которая может альтернативно способствовать нейропротекции IGF-1 в моделях ишемического инсульта [255]. Снижение активности miR-134 уменьшает ишемическое повреждение за счет усиления экспрессии нейротрофического фактора мозга BDNF и Bcl-2 в нейронах после лишения кислородом глюкозы [266,267].

Сообщалось, что гиперэкспрессия miR-210 может вызвать нейрогенез в мозге взрослых мышей, что связано с усилением фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [248]. VEGF является важным нейрогенным фактором с терапевтическим потенциалом при ишемическом инсульте [268,269].

По мнению исследователей, после церебральной ишемии можно активировать нейронные стволовые клетки и клетки-предшественники для миграции в поврежденные области. Следовательно, фармакологическая регуляция этих miRNAs может быть потенциальным агентом в послеишемическом нейрогенезе [270-274].

Ангиогенез и нейрогенез являются важными процессами восстановления и ремоделирования мозговой ткани после повреждения головного мозга. Введение различных факторов роста в ранней постишемической фазе стимулирует ангиогенез и нейрогенез и приводит к улучшению функционального восстановления после инсульта [278].

VEGF являются наиболее мощным ангиогенным фактором для нейроваскуляризации, и нейрогенез при ишемическом повреждении может модулироваться различными способами, можно использовать в качестве терапии при инсульте. В ответ на ишемическое повреждение VEGF высвобождается эндотелиальными клетками по естественному механизму и приводит к ангиогенезу и васкуляризации [278,279]

В эксперименте на мышах было показано, что miR-210 является ключевым фактором на уровне микроРНК в стимулировании ангиогенеза и нейрогенеза, с локальным повышенным уровнем VEGF [275,276]. Авторы предположили, что miR-210 может быть потенциальной мишенью для терапии ишемического инсульта, который чувствителен к гипоксическим стимулам почти во всех клетках [275,276].

В исследованиях показано, что miR-92a регулирует ангиогенез, нацеленный на несколько проангиогенных белков, включая субъединицу интегрина альфа-5 [267].

Кроме того, было продемонстрировано, что miR-107 способствует постишемическому ангиогенезу посредством прямой регуляции экспрессии Dicer-1, которая представляет собой ген, который кодирует важный фермент в обработке miRNA [280,281].

Последние годы появляются все больше работ, посвященных роли мРНК в регуляции атеросклеротического процесса, мРНК способствуют не только формированию уязвимых атеросклеротических бляшек [282,283], но также усиливают процесс ангиогенеза.

Опубликованы новые представления о клеточных механизмах зависящей от потока регуляции сосудистой функции, которая приводит к ССЗ, таким как атеросклероз, атеротромбоз и инфаркт миокарда [284,285].

Установлено, что гемодинамическое напряжение сдвига эндотелия, сила трения, действующая на сосудистые эндотелиальные клетки, имеет решающее значение для эндотелиального гомеостаза в нормальных физиологических условиях. Атеросклероз преимущественно встречается в артериальных областях, подверженных нарушению кровотока, из-за изменений в экспрессии генов.

Изменение условий потока регулирует экспрессию miRNAs в эндотелиальных клетках как *in vitro*, так и *in vivo* [287,288]. Механо-miRs, регулируют экспрессию эндотелиальных генов и могут регулировать эндотелиальную дисфункцию и атеросклероз [282,283]. Установлено, что клетки эндотелия с увеличенной экспрессией miRNAs больше подвержены напряжению сдвига [282,283].

Высказано также предположение, что мРНК могут предоставлять информацию о сети коллатерального кровообращения пациентов с хронической общей окклюзией. Показано, что miR423-5p, miR10b, miR30d и miR126 у пациентов с окклюзией ствола коронарной артерии коррелируют с недостаточной коллатеральной функцией артерии [292,293].

Отдельного внимания заслуживает роль микроРНК в патогенезе повреждения нервной ткани в зоне ишемической полутени. Доказано, что после перенесенного ИИ гиперэкспрессия miR-107 приводит к подавлению экспрессии глутамата-транспортера-1 (GLT-1) и повышенному накоплению глутамата, которые определяют степень эксайтоксичности [294].

В другом исследовании замечено, что после транзиторной ишемии мозга, увеличение miR-29a защищает астроциты, приводит к ослаблению окислительного стресса и выживаемости нейронов [296].

Narraz M.M. et al. (2012) обнаружили, что miR-223 контролирует реакцию на повреждение нейронов, регулируя функциональную экспрессию субъединиц рецептора глутамата GluR2 и NR2B в головном мозге. Гиперэкспрессия miR-223 снижает уровни GluR2 и NR2B путем нацеливания на целевые сайты 3'-UTR (TS) в GluR2 и NR2B, ингибирует индуцированный NMDA приток кальция в нейронах гиппокампа и защищает мозг от гибели нейронов после кратковременной глобальной ишемии и эксайтотоксического повреждения. Недостаток miR-223 приводит к более высоким уровням NR2B и GluR2, усиленному индуцированному NMDA притоку кальция, и увеличению миниатюрных возбуждающих постсинаптических токов в гиппокампальных нейронах. Кроме того, отсутствие miR-223 приводит к контекстуальному, но не вызванному дефициту памяти и увеличению гибели нейронов после кратковременной глобальной ишемии и эксайтотоксичности. Эти данные идентифицируют miR-223 в качестве основного регулятора экспрессии GluR2 и NR2B и предлагают терапевтическую роль miR-223 при инсульте [295].

Во время церебральной ишемии циклооксигеназа-2 (ЦОГ2) усиливается окислительный стресс из-за повышенных реакционноспособных видов кислорода, которая является мишенью miR-101 [297-302]. В эксперименте miR-23a-3p постепенно снижалось после ишемии и реперфузии у мышей, что приводило к окислительному стрессу ишемии [299].

Остаются не изученными многие аспекты роли как микроРНК, так и генов, вовлеченных в биогенез микроРНК, в формировании условного развития ИИ и его осложнений у человека [88].

Разработка методов ранней диагностики и прогноза при помощи микроРНК как возможных маркеров ишемического инсульта явились бы также перспективным терапевтическим подходом. Идентификация miRNA и их соответствующих мишеней может предложить новые терапевтические стратегии в период «терапевтического окна» для успешного лечения и спасения «пенумбры». Поэтому необходимы дальнейшие исследования для выяснения роли микроРНК и терапевтической применимости при острой ишемии мозга человека.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Общий план исследования

Таблица 1- Параметры, методы, объем исследования

Параметры исследования	Методы	Область исследования
Информационно-аналитический	Сбор и анализ литературных данных. Анализ международного и отечественного опыта по изучению проблемы ишемического инсульта на раннем госпитальном этапе.	310 литературных источников
Проспективное когортное, по времени продольное исследование	Госпитальный регистр, на базе нейроинсультного отделения №1, ГКБ№7 г.Алматы – одного из крупных центров Республики Казахстан. За период с 31 мая 2017г. по 31 марта 2018г.	Истории болезни, анамнез.
Клиническое исследование.	Исследование стационарных пациентов с ИИ первые 24-72 часа, изучение влияния факторов и механизмов развития ИИ, системы лечения на утяжеление и летальность в раннем периоде. Клинико-неврологический осмотр: шкала NIHSS, ШКГ, модифицированная шкала Рэнкина. Нейровизуализационные и лабораторные характеристики.	979 человек- общее число больных госпитальной группы в остром периоде ОНМК 663 больных с диагнозом ИИ. Разделили на две группы сравнения: первая группа 615 человек, выжившие больные в остром периоде инсульта; вторая группа 48 человек с летальным исходом.
Молекулярно – генетическое исследование	Исследование взаимодействия миРНК с мРНК кандидатных генов инсульта. Выявление ассоциаций миРНК и их генов мишеней с помощью программы MiRTarget на суперкомпьютере КазНУ им. Аль-Фараби..	Изучено взаимодействие 134 кандидатных гена инсульта с 6266 миРНК человека.

Статистический метод	Обработка данных проводилась с помощью пакета анализа данных табличного процессора «Excel 2016» Microsoft® Office, «IBMSPSS Statisticsversion 23» для Windows	Сбор и ввод данных, трансформация и кодировка переменных, анализ и интерпретация данных.
----------------------	---	--

Таким образом, в нашей работе, мы использовали информационно-аналитический, проспективный, клинический и современные методы молекулярно-генетического и статистического исследования. Собранный материал позволяет получить достоверные данные.

2.2 Общая характеристика клинического материала

Работа выполнена на кафедре неврологии с курсом нейрохирургии КазНМУ им. Асфендиярова (зав. кафедрой доктор медицинских наук Жанайдаров Ж.С.), на базе нейроинсультного отделения №1 городской клинической больницы (ГКБ) №7 г.Алматы-одного из крупных центров Казахстана. Диагноз инсульта устанавливался на основании МКБ-10, ВОЗ 1992г.

Критерии включения в исследование

- Возраст пациентов более 25 лет
- Всеми пациентами или их законными представителями подписывалось информированное согласие на исследование
- Впервые возникший ишемический инсульт атеротромботический, кардиоэмболический или лакунарный (1-е сутки), подтвержденный методами нейровизуализации.
- Исследование было одобрено этическим комитетом НАО “КазНМУ” (протокол №5 (56) от 31 мая 2017г)

Критерии исключения из исследования

- Ишемический инсульт с геморрагическим пропитыванием;
- Субарахноидальное кровоизлияние.
- Системные заболевания соединительной ткани;
- Наличие в анамнезе онкологических заболеваний,
- Наличие в анамнезе туберкулеза,
- Наличие в анамнезе алкогольной или наркотической зависимости, психических заболеваний;
- Тромбозы глубоких вен.
- Наследственные тромбофилии;
- Отсутствие собственноручно подписанной (или же иным независимым свидетелем при отсутствии физической возможности подписания пациентом) формы информированного согласия.

2.3 Клинические и лабораторные методы исследования

Для решения вышеизложенных задач нами проведено данное проспективное когортное исследование.

Первый этап исследования – клинический. Мы проанализировали все случаи госпитализированных пациентов в 1-е нейроинсультное отделение ГКБ№7 г.Алматы-одного из крупных центров Казахстана, по оказанию специализированной помощи больным с ОНМК.

Методом сплошной выборки проведен анализ всех 979 больных поступивших в стационар с ОНМК в острейшем периоде заболевания, за период с 31 мая 2017г. по 31 марта 2018г.

Нами проводилось детальное клиническое, лабораторное и инструментальное обследование соответственно алгоритму действий на уровне приемного покоя и диагностическим критериям, и алгоритму действий на уровне блока интенсивной терапии, отделения нейрореанимации больных с ишемическим инсультом.

Обследование и лечение осуществлялось согласно утвержденному клиническому протоколу МЗ и СР РК (27.12.2014г., Протокол №18), а также стандарту организации оказания неврологической помощи в Республике Казахстан (Приказ МЗ и СР РК № 809 от 19 октября 2015 года).

С целью получения более подробной клинической картины, методом исключения была отобрана группа больных с ишемическим инсультом 663 пациентов. Средний возраст пациентов составлял $62,5 \pm 5,6$ лет для мужчин и $71,4 \pm 5,1$ для женщин.

После поступления больного в стационар строго по клиническому протоколу в короткий срок (45 минут), проводилась диагностика и дифференциальная диагностика ишемического инсульта.

Диагностический процесс был организован максимально в приемном отделении и включал в себя следующие элементы: сбор жалоб и анамнеза, общий физический осмотр, неврологическое обследование со вспомогательными оценочными шкалами, экстренные лабораторные (клинические, биохимические анализы, коагулограмма) обследования, электрокардиограмма (ЭКГ) и рентгенологическое исследование грудной клетки при необходимости, консультации специалистов. Обязательные экстренные специфические исследования: КТ или МРТ, транскраниальное дуплексное доплеровское исследование.

Согласно клиническому протоколу в течение первых суток госпитализации, при необходимости – в динамике проводились обязательные плановые обследования.

2.3.1 Оценка тяжести и прогрессирования ишемического инсульта

В работе мы использовали следующие оценочные шкалы неврологического статуса больных:

- для оценки уровня сознания использовали шкалу комы Глазго,

- неврологический статус с оценкой неврологического дефицита оценивали по шкале NIHSS
- стандартизированное скрининговое тестирование функции глотания
- модифицированную шкалу Рэнкина-MRS

Шкала Глазго для оценки тяжести комы [35].

Шкала комы Глазго (ШКГ) является наиболее распространенной системой оценки, используемой для описания уровня сознания

В основном используется, чтобы помочь оценить серьезность нарушений на момент поступления пациента в стационар. Тест прост, надежен и хорошо коррелирует с результатами после повреждения головного мозга.

Шкала комы Глазго представляет собой практический метод оценки нарушения сознания в ответ на определенные раздражители. Оценка (ШКГ) выражается в форме:

Интерпретация результатов:

- 15-Ясное сознание
- 13-14 - Оглушение
- 9-12 - Сопор
- 4-8 - Кома
- Смерть мозга

NIHSS – шкала для оценки неврологического статуса[125].

NIHSS является наиболее широко применяемой шкалой оценки неврологического статуса

NIHSS стал золотым стандартом для оценки тяжести инсульта, шкала унифицирует неврологическое обследование [125,136].

NIHSS был признан быстрым и последовательным количественным показателем тяжести инсульта. Максимально возможный балл - 42, минимальный балл - 0 [136].

NIHSS легко выполняется; он фокусируется на следующих 6 основных областях неврологического обследования:

- Уровень сознания
- Визуальная функция
- Двигательная функция
- Сенсорная функция
- Мозжечковая функция
- Навыки речи

Согласно общепринятым критериям NIHSS: легкая степень 1-4 балла, средняя степень 5-15 баллов, тяжелый инсульт 15-24 балла, крайне тяжелая степень 25-42 балла[136].

Раннее прогрессирование симптомов было определено как повышение показателя NIHSS на два или более баллов (или летальный исход, связанный с инсультом) между поступлением и 3-м днем. Согласно международно-признанному определению, мы исследовали ухудшение в течение 24-72 часов

после поступления один из следующих пунктов NIHSS: уровень сознания, глотание, речь, движение глазных яблок, двигательную функцию руки и ноги. Пациенты с ранним неврологическим ухудшением сравнивались с пациентами с неизменными или улучшенными показателями NIHSS [136].

Модифицированная шкала Рэнкина (mRS).

Модифицированная шкала Рэнкин является широко используемой мерой клинического исхода для клинических исследований инсульта.

Шкала от 0 до 6, от идеального здоровья без симптомов до смерти.

0 - нет симптомов.

1 - Нет значительной инвалидности. Способен выполнять все обычные действия, несмотря на некоторые симптомы.

2 - легкая инвалидность. Умеет заботиться о себе без посторонней помощи, но не может выполнять все предыдущие действия.

3 - Умеренная инвалидность. Требуется некоторая помощь, но может ходить без посторонней помощи.

4 - Умеренно тяжелая инвалидность. Невозможно удовлетворить собственные телесные потребности без посторонней помощи и не может ходить без посторонней помощи.

5 - тяжелая инвалидность. Требуется постоянного ухода и внимания, прикованный к постели, недержание мочи.

6 – смерть

Стандартизированное скрининговое тестирование функции глотания [134,135].

Тест на глотание воды часто используется в клинической практике в качестве функциональной оценки для выявления аспирации и предотвращения пневмонии. Это стандартизированный тест, используемый во всем мире, но количество воды, которое дают, варьируется [134,135].

Модифицированная классификация TOAST [52].

Мы выделили патогенетические варианты ИИ среди обследуемых пациентов:

- вследствие поражения крупных артерий атеротромботический подтип (АТИ);
- с кардиоэмболическим инсультом (КЭИ) причиной которых были сердечные заболевания;
- с лакунарным инсультом (ЛИ), связанный с поражением артерий мелкого калибра;
- неустановленного генеза.

Эмболический инсульт является наиболее распространенным типом, и существует две возможные этиологии (кардиоэмболическая и атеротромботическая, обусловленные эмболией артерий к артериям, возникающим из атероматозного налета), в дополнение к тромбозу, вызванному изменениями сосудистой стенки, липохиалинозу при инфаркте лакуны.

Критерии атеротромботического инсульта (атеросклероз большого сосуда)

Диагноз установлен по результатам УЗДГ при выявлении повреждений стенок артерий (стеноз и окклюзия) в крупных сосудах, как экстракраниальных, так и внутричерепных (средний, передний), задняя мозговая артерия или основной ствол). Нормальные результаты, минимальные изменения или невыполнение этих исследований исключают диагноз.

Основные критерии

- Значительный стеноз (более 50%), окклюзия или язвенная бляшка (толщиной более 2 мм) во внутричерепной артерии или ипсилатеральной внекраниальной артерии, продемонстрированные дуплексным доплером или ангиографическим исследованием (обычные, МР-ангиография или КТ-ангиография)
- Отсутствие кардиогенной эмболии или порока сердца какой-либо другой этиологии
- *Клинические критерии.*
- Наличие шумов, ипсилатеральных к инфаркту
- Наличие предыдущего ТИА, ипсилатерального к инфаркту
- Наличие в анамнезе ишемической болезни сердца, перемежающейся хромоты нижних конечностей

Критерии кардиоэмболического ишемического инсульта

Основные критерии:

- наличие кардиогенной эмболии. Должны быть исключены: цереброваскулярные атероматозные поражения. Внезапный максимальный неврологический дефицит (возникающий за секунды или несколько минут)
- Внезапная потеря сознания в начале, множественные одновременные инфаркты мозга, инфаркты головного мозга или ТИА в разных сосудистых территориях. В случае ССЗ низкого риска, исключения других причин инсульта, это состояние будет классифицировано как «возможный» кардиоэмболический инсульт.
- Компьютерные томографические изображения, показывающие инфаркт размером более 1,5 см, обычно кортикальный, иногда геморрагический или множественные инфаркты на разных сосудистых территориях
- Ангиографические признаки преходящих ангиографических окклюзий, изолированной артериальной окклюзии без признаков атеросклеротического поражения или дефекта центрального наполнения в проксимальной части артерии без атеросклеротических изменений

Лакунарный инсульт (болезнь малого сосуда)

Максимальный диаметр инфаркта 1,5 см, расположенный на артериальной территории или перфорирующих церебральных артериолах, вследствие липогиалиноза. Клиническое течение - это один из классических лакунарных синдромов (чистый гемипарез, чистый сенсорный синдром, сенсомоторный синдром, атаксический гемипарез или дизартрия - неуклюжий

синдром кисти). Наличие гипертонии или сахарного диабета подтверждает диагноз.

По определению не должно быть никаких корковых признаков или симптомов в ипсилатеральных экстракраниальных артериях не должно быть потенциальных сердечных источников эмболии или стеноза более 50%.

Наличие стеноза более 50% или атероматозных бляшек в средних или крупных артериях не исключает наличия лакунарного инфаркта.

Инсульт неустановленного генеза - к этой категории относили пациентов с неустановленной причиной ишемического инсульта, а также у пациентов с двумя и более потенциальными причинами инсульта.

2.3.2 Метод нейровизуализации

Всем пациентам проводили специфические исследования: КТ или МРТ, с участием дежурного невролога экстренно в течение 25 минут после поступления больного в стационар (с получением результата в течение 40 минут). Нейровизуализацию проводили для определения размера и локализации поражения (Компьютерный томограф – 6, Philips 2008г при необходимости в 30% случаях МРТ 1,5Тл, Philips 2007г).

Размер поражения был классифицирован по общепринятой методике следующим образом:

- При сканировании не видно очага инфаркта, но клинические симптомы сохраняются 24 часа и более.
- очаг инфаркта <1,5 см в диаметре,
- размер очага до 1/3 территории СМА или 1,5-5 см в диаметре.
- очаг поражения 1/3-2/3 СМА или диаметром > 5 см, но без эффекта занимаемого пространства.
- 5 – очаг > 2/3 территории СМА или > 5 см в диаметре плюс эффект занимаемой площади [120].

Расположение инфаркта также оценивали при визуализации головного мозга и классифицировали как «левый» и «правый» для левой и правой передней области кровообращения, «задний» для поражений только на позвоночно-базилярной территории, «множественный» для множественных поражений в более чем одна заранее определенная область и «неопределенная» в случае, если не было обнаружено определенного нового поражения.

2.4 Лечение больных ишемическим инсультом

Лечение осуществлялось согласно вышеуказанному утвержденному клиническому протоколу МЗ и СР РК (27.12.2014г., Протокол №18), а также стандарту организации оказания неврологической помощи в Республике Казахстан (Приказ МЗ и СР РК № 809 от 19 октября 2015 года).

Тромболитическую терапию (ТЛТ) рекомбинантным тканевым активатором плазминогена (tPA) провели всего 7 пациентам. Низкий охват больных ТЛТ связан с ограниченным узким терапевтическим окном, а также противопоказаниями. Учитывая низкий охват 1,04% (7) пациентов

тромболитической терапией рекомбинантным тканевым активатором пламиногена (tPA) все они были из данного исследования исключены. Результаты лечения по ним представлены отдельно.

Большей части больным проводились альтернативные методы лечения, которые включали использование антитромботических средств (аспирин, клопидогрел), антикоагулянтную терапию, реперфузионную терапию, а также антигипертензивные, симптоматические препараты.

2.5 Молекулярно-генетические исследования

Второй этап работы - молекулярно генетическое исследование, который выполнялся в Научно-исследовательском институте проблем биологии и биотехнологии Казахского национального университета имени аль-Фараби (выражаем благодарность за активную помощь в вопросах организации и проведения всех этапов этой части проекта д.б.н., профессору Иващенко А.С. и научному сотруднику Акимниязовой А.К.).

Исследование было профинансировано МОН РК, грант №AP05132460.

Анализ взаимодействия миРНК с мРНК кандидатных генов ишемического инсульта

Большинство из выбранных нами 134 генов, вовлеченных в развитие инсульта (кандидатных генов), являются мишенями для 6266 миРНК. Сайты связывания миРНК определяли в 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA генов-кандидатов (таблицы 27, 28, 29). Значения RPKM в таблицах 1-3 показывают экспрессию генов в коре головного мозга согласно HumanProteinAtlas (<https://www.proteinatlas.org>).

В большинстве mRNA сайты связывания миРНК случайным образом распределены по длине mRNA. Однако в некоторых мРНК сайты связывания миРНК расположены с перекрывающимися нуклеотидными последовательностями. Такие сайты mRNA, содержащие два или более сайтов связывания miRNA с перекрытием нуклеотидов, называются кластерами.

Нами были загружены нуклеотидные последовательности генов-кандидатов на инсульт из NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Нуклеотидные последовательности миРНК были заимствованы из miRBase (<http://www.mirbase.org>). Нуклеотидные последовательности 3707 миРНК были взяты из публикации Londin et al. 2015 [303].

Значение RPKM [304] приведено в данных Human Protein Atlas [305]. Взаимодействие miRNAs с mRNA нескольких генов было предсказано с помощью программы MirTarget [306]. Эта программа определяет следующие особенности связывания: а) начало инициации связывания миРНК с мРНК; б) локализация сайтов связывания миРНК в 5'-нетранслируемых областях (5'UTR), последовательностях кодирующих доменов (CDS) и 3'-нетранслируемых областях (3'UTR) мРНК; в) свободная энергия взаимодействия миРНК и мРНК (ΔG , кДж/моль); и г) схемы нуклеотидных взаимодействий между миРНК и мРНК. Отношение $\Delta G/\Delta G_m$ (%) было определено для каждого сайта (ΔG_m

равна свободной энергии связывания миРНК с ее совершенной комплементарной нуклеотидной последовательностью). Отношения $\Delta G/\Delta G_m$ взяты в предположении, что члены семейства миРНК обычно различаются не более чем на 1-2 нт, что при длине миРНК 22 нт значение $\Delta G/\Delta G_m$ составляет более 90%. С большей разницей в количестве несовпадающих нуклеотидов вероятность того, что две или более миРНК будут связываться в одном сайте, увеличивается. С большей разницей в количестве несовпадающих нуклеотидов вероятность того, что две или более миРНК будут связываться в одном сайте, возрастает, что исключает естественное свойство миРНК селективно взаимодействовать с мРНК гена-мишени. Программа MirTarget идентифицирует положения сайтов связывания мРНК, начиная с первого нуклеотида мРНК 5'UTR. Программа MirTarget находит водородные связи между аденином (A) и урацилом (U), гуанином (G) и цитозином (C), G и U, A и C. Расстояния между A и C равны расстояниям между G и C, A и U, G и U равны 1,02 нм [307, 308]. Найдено, что число водородных связей во взаимодействиях G-C, A-U, G-U и A-C составляет 3, 2, 1 и 1 соответственно. Программа MirTarget не работает напрямую с базами данных miRBase и NCBI. Поиск целевых генов из 17494 генов в специальном формате от NCBI для известных миРНК из miRBase будет доступен по запросу на mirtarget8@gmail.com

2.6 Статистические методы

Использовали сравнительный анализ дисперсий в исследуемых группах, в большинстве случаев совокупности подчинялись нормальному закону распределения.

Для описания количественных данных использовался показатель среднего значения (M) \pm стандартное отклонение (SD), а также медиана (Me) и нижний, верхний квартили ($LQ;UQ$); номинальные показатели описывались абсолютными и относительными частотами (%). Категориальные переменные в некоторых диаграммах были представлены в процентах и сравнивались с использованием точного критерия хи-квадрат или точного критерия Фишера, где это уместно. Непрерывные переменные были представлены как среднее \pm стандартное отклонение и по сравнению с использованием Student t тест. Сравнение количественных данных производилось с использованием непараметрического критерия Манни-Уитни для независимых совокупностей и критерий Фрэнка Вилкоксона для зависимых групп, при $p < 0,05$ нулевая гипотеза об отсутствии различий групп отклонялась. Достоверность различий номинальных показателей выполнялось с помощью теста χ^2 Пирсона и точного критерия Фишера. Для сравнения нескольких независимых групп использовали непараметрический однофакторный дисперсионный анализ ANOVA, а для нескольких, зависимых анализ Фридмана-Кендала.

Для определения линейных связей в парах показателей проводился корреляционный анализ. Анализ корреляций в парах выполнялся с помощью

критерия Спирмена, при $p < 0,05$ нулевая гипотеза об отсутствии связи между показателями отклонялась.

Категориальные данные были представлены в процентах, а сравнение между группами проводилось с помощью критерия хи-квадрат или точного критерия Фишера. Числовые данные были представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение или медиана (межквартильный диапазон), а сравнения проводились с помощью t -критерия с 2 выборками. Анализ данных между событиями проводился с использованием модели пропорциональных рисков Кокса. С целью исследования выживаемости применялся метод Каплана-Майера [Bland, 1998]. В нашем случае был выбран уровень значимости α , равный 0,05. Вероятность ошибки первого рода (вероятность ошибочного заключения о существовании различий между группами) составила $< 5\%$, что в медицинских исследованиях считается допустимым.

Многофакторная модель пропорциональной регрессии рисков Кокса использовалась для оценки скорректированной связи между смертностью и факторами риска. Для модели Кокса, одномерный анализ каждого из возможных предикторов результата были проверены. Переменные, которые были значимы при $p < 0,05$, для определения независимых предикторов исходных переменных.

При этом для всех типов данных, значения P-value меньше чем 0.05, было обозначено как статистически значимое.

Обработка данных проводилась с помощью пакета анализа данных табличного процессора «Excel 2016» Microsoft® Office, «IBMSPSS Statistics version 23» для Windows.

2.7 Соответствие этическим требованиям клинического исследования

Данное диссертационное исследование «Клинические и патогенетические особенности инсульта в Казахстане» было одобрено локальной этической комиссией (ЛЭК), в соответствии с процедурами в Казахском национальном медицинском университете имени С.Д. Асфендиярова, протокол заседания №5 (56) от 31 мая 2017г. Все пациенты принимали участие на добровольной основе и подписали информированное согласие.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Результаты клинического исследования

Для решения вышеизложенных задач нами проведено данное проспективное когортное исследование инсультных больных Казахстана на примере (г. Алматы) в острейшем периоде. На первом этапе исследования методом сплошной выборки проведен анализ всех 979 больных, поступивших с ОНМК в 1-нейроинсультное отделение, за период с 31 мая 2017г. по 31 марта 2018г.

На рисунке 3 представлена характеристика пациентов с ОНМК, поступивших в острейшем периоде заболевания на стационарное лечение.

Мы проводили детальное клиническое, лабораторное и инструментальное обследование соответствующим клиническим протоколам РЦ РЗ МЗ РК от 2016г., а также алгоритмам действий и диагностическим критериям на этапе приемного покоя, блока интенсивной терапии, отделения нейрореанимации.

Методом исключения из общего числа больных ОНМК была отобрана группа больных с ишемическим инсультом (ИИ), составившая 663 человека. В дальнейшем данная группа пациентов наблюдалась в течении всего времени пребывания в стационаре. Все пациенты были разделены на 2 группы. Группа 1 включала 615 пациентов с благоприятным исходом ИИ. В группу 2 вошли 48 пациентов с неблагоприятным или летальным исходом.

Госпитальная летальность от ИИ составила 55,8% (48) из общей, представляя самую большую группу среди всех пациентов умерших в остром периоде ОНМК в нейроинсультном отделении №1. Причиной же летальности остальных (38) больных явились: геморрагический инсульт 36,1% (31), субарахноидальное кровоизлияние в 5,8% (5) случаях, и другие причины составили 2,3% (2).



Рисунок 3 - Характеристика пациентов с диагнозом ОНМК

Данный анализ был обусловлен отсутствием исследований в нашей стране, связанной с госпитальной летальностью, и влиянием факторов на раннее ухудшение и прогрессирование ишемического инсульта в остром

периоде, а также определением выживаемости, прогностической значимости маркеров, ассоциированных с неблагоприятным прогнозом.

В рандомизированных и проспективных контролируемых клинических исследованиях, сравнивающих стационарное лечение инсульта, с альтернативной службой доказано, что лечение инсульта в специализированных отделениях улучшает конечный результат-выживаемость [13,14].

Прогрессирование симптомов после прибытия в стационар представляет собой серьезную проблему для исхода заболевания [31].

Инсульт в остром периоде относится к неотложным, зачастую критическим состояниям, требующий срочной медицинской помощи, и первоочередные действия, предпринимаемые первые часы, имеющие основополагающее значение для дальнейшего восстановления поврежденной мозговой ткани и благоприятного прогноза для пациента [31]. Считается, что положительная динамика достигается с помощью тщательного мониторинга и поддержания физиологического гомеостаза [13,14,31].

По результатам многочисленных исследований доказано, что эффективность лечения тромболитическими препаратами рекомбинантным тканевым активатором плазминогена (rtPA) наблюдаемый впервые часы (3-4 часа после начала инсульта) применима только для небольшого процента пациентов, и попытки расширить это окно лечения пока не принесли результатов [67,68,69]. Осложнения при введении rtPA, особенно с задержкой, связаны с повышенным внутричерепным кровоизлиянием, геморрагической трансформацией и смертностью.

Среди наших пациентов всего 1,04% (7) больных получили лечение рекомбинантным тканевым активатором плазминогена (rtPA), из которых положительный результат наблюдали только в 3 случаях. Такой низкий охват лечения rtPA связан, прежде всего, поздним обращением, более чем у половины пациентов, были легкие (NIHSS менее 5) или тяжелые и крайне тяжелые симптомы (NIHSS больше 22), применение пероральных антикоагулянтов, наличие сопутствующих заболеваний, и возраст старше 80 лет.

По данным литературы фармакологическое нейропротекторное лечение не продемонстрировало клиническую эффективность в клинических исследованиях людей [65,66,67,71,129,130]. В клиническом протоколе РЦ РЗ МЗ РК от 2016г. «Ишемический инсульт» лечение нейропротекторами не предусмотрено.

Следует отметить, что ряд физиологических функций, обычно участвующих в церебральном метаболизме (контроль артериального давления, ЧСС, температуры, гликемии), играют ключевую роль в развитии ишемического процесса, а также могут усугубить процесс повреждения головного мозга первые часы ишемического инсульта [65,66,67].

Исходя из вышеизложенного, мы сфокусировали наше исследование на неврологическом ухудшении в течение первых 24-72 часов у пациентов с острым ишемическим инсультом, поступивших в стационар после появления

первых симптомов, потому что это время имеет решающее значение для возможного прогрессирования инфаркта мозга [37,64].

Для оценки прогностического значения основных факторов, которые могут влиять на острую фазу ишемического инсульта первые 24-72 часов мы провели данное исследование. Определение факторов внутрибольничной смертности способствует дальнейшему развитию медицинской помощи при инсульте. [37,64,65,66,67].

3.1.1 Характеристика больных в раннем периоде ишемического инсульта

Как было отмечено, в предыдущих главах, ишемический инсульт - это острое нарушение мозгового кровообращения вследствие внезапного ограничения кровоснабжения части мозга, характеризующееся дисфункцией мозговой ткани в этой зоне с развитием инфаркта мозга. Основные причины ИИ: тромбоз или эмболия кровеносного сосуда местным сгустком крови, системная гипоперфузия, тромбоз венозного синуса головного мозга. [3,14,15].

Ишемический характер инсульта подтверждали клиническими критериями, данными КТ или МРТ исследования, при необходимости данными анализа спинномозговой жидкости, результатами исследования глазного дна. Диагноз инсульта устанавливался на основании МКБ-10, ВОЗ 1992г.

Обследовано 663 пациентов госпитализированных в нейроинсультное отделение городской клинической больницы (ГКБ) №7, из которых было 52,9% (351) женщин и 47,1% (312) мужчин. Для определения факторов прогрессирующего течения заболевания мы использовали клинические, демографические, нейровизуализационные, результаты лабораторных исследований больных с различными подтипами ишемического инсульта, в общей сложности 38 параметров. Демографические характеристики, факторы риска, клинические данные пациентов, патогенетические подтипы ишемического инсульта, результаты лабораторных исследований представлены в таблицах (2-13) и рисунках (3-19).

Таблица 2 - Характеристика больных с ишемическим инсультом по возрасту

возраст	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	90 +
всего (n = 663) n (%)	12 (1,7%)	50 (7,5%)	151 (22,7%)	209 (32,1%)	162 (23,7%)	71 (11,2%)	8 (1,1%)

В таблице 2 представлена характеристика больных ИИ по возрасту. Статистически значимый показатель по возрастным характеристикам среди обследуемых больных пришелся на возраст от 50 до 79 лет ($p < 0,001$), причем 22,7% были в возрасте 50-59 лет, 32,1% у лиц от 60 до 69 лет и 23,7% от 70 до 79 лет. Максимальный возраст приходился на возраст 60-69 лет. Лица от 30 до

39 лет составили 1,7%, от 40 до 49 лет – 7,5%, от 80 до 89 лет - 11,2%, 90 лет и старше - 1,1%. (таблица 3). Средний возраст пациентов ИИ составил $65,3 \pm 11,7$ лет.

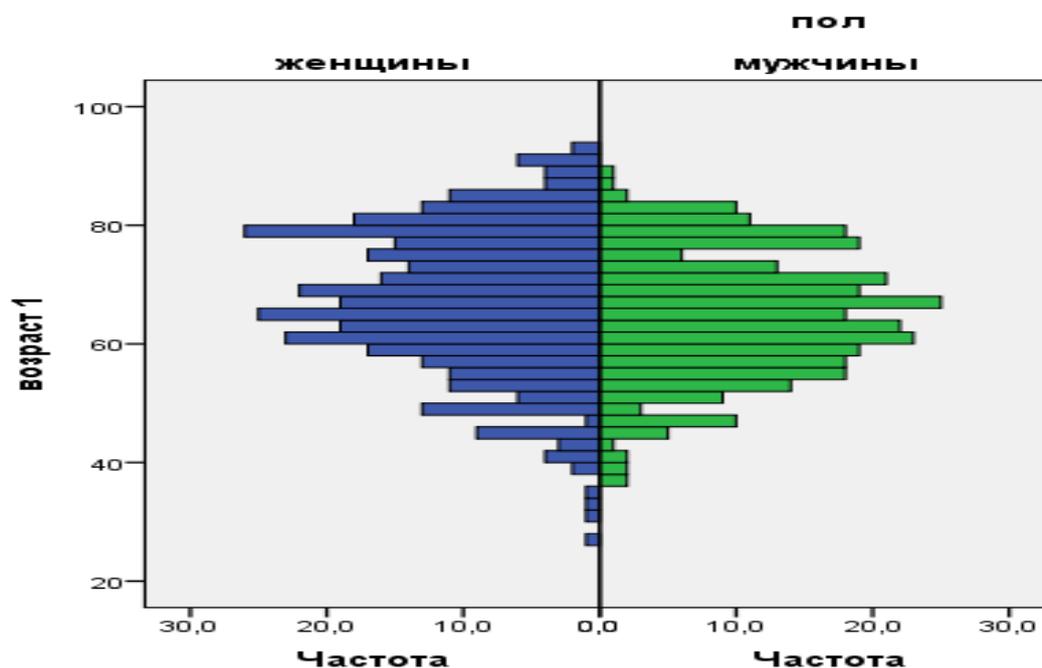


Рисунок 4 - Характеристика пациентов с ИИ по полу и возрасту. (Диаграмма Парето)

Распределение пациентов ($n=663$) среди мужчин и женщин анализируется с помощью анализа Парето, для того чтобы исследовать роль возраста и гендерные различия в развитии ИИ. Диаграмма наглядно показывает преобладание ишемического инсульта в возрасте 60-80 лет.

В настоящем исследовании мы не наблюдали половых различий среди госпитализированных больных вследствие ишемического инсульта было 52,9% (351) женщин и 47,1% (312) мужчин. Однако полученные результаты показателей соотношения частоты ИИ у женщин и у мужчин свидетельствует, что в возрастном диапазоне 30 - 39 лет, а также среди пациентов старше 90 лет достоверно чаще наблюдается среди женщин (рисунок 4).

Результаты анализа ишемическим инсультом показал, что лица трудоспособного молодого и среднего возрастов составляют большую часть группы 32,1% (213), из них 9,3% (62) пациентов представили возрастную группу 30-49 лет. Больные моложе 70 лет составляют 63,6%.

Полученные результаты исследования свидетельствуют о чрезвычайно важной социальной значимости проблемы ишемического инсульта. Это связано с тяжестью проблем, которые необходимо решать органам здравоохранения, обществу, родственникам пациента и самому больному в связи с последствиями сосудистой катастрофы.

Для выявления взаимосвязи между характеристиками пациентов и развитием ишемического инсульта мы провели анализ ФР.

Таблица 3 - Анализ факторов риска среди больных с ишемическим инсультом

Факторы риска	(n = 663) n (%)
Артериальная гипертензия	531 (80,1)
Ожирение (ИМТ)	118 (17,8)
Фибрилляция предсердий	129 (19,5)
Инфаркт миокарда	72 (10,8%)
ИБС	169 (25,5)
ХСН	384 (57,9%)
ТИА	58 (8,7%)
Сахарный диабет 2 типа	83 (12,5)
ХОБЛ	11 (1,7)
ХБП	3 (0,5)

В нашем исследовании среди 663 пациентов с ИИ наиболее значимыми факторами риска оказались: артериальная гипертензия – 80,1%, ХСН - 57,9%, ишемическая болезнь сердца - 25.5%, фибрилляция предсердия -19.5%, сахарный диабет 2 типа - 12.5%. В анамнезе инфаркт миокарда был у 10,8% пациентов. У 8,7% больных развитию инсульта предшествовали ТИА. Выявлены также: хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) у 1,7% больных, хроническая болезнь почек (ХБП) 0.5%. (таблица 3).

На основании полученных данных клинической картины заболевания, сопоставления с результатами инструментальных и лабораторных методов обследования в соответствии с международными критериями TOAST [52] у пациентов был определен патогенетический механизм развития ИИ (таблица 4).

Таблица 4 - Патогенетический подтип ишемического инсульта, согласно модифицированной классификации TOAST (1993)

Подтипы ишемического инсульта	(n= 663)n (%)
Атеротромботический (АТ)	303 (45,7%)
Кардиоэмболический (КЭ)	185 (27,9%)
Лакунарный (ЛИ)	167 (25,2%)
Неопределенного генеза	8 (1,2%)

Атеротромботический (АТ) инсульт развился у 303 (45,7%), кардиоэмболический инсульт (КЭИ) у 185 (27,9%) больных, лакунарный инсульт (ЛИ) или болезнь мелких сосудов у 167 (25,2%) больных, неопределенного генеза инсульт у 8 (1,2%) больных, что соответствует данным международных исследований. В структуре подтипов ишемического инсульта статистически значимых различий по полу не выявлено (рисунк 5).

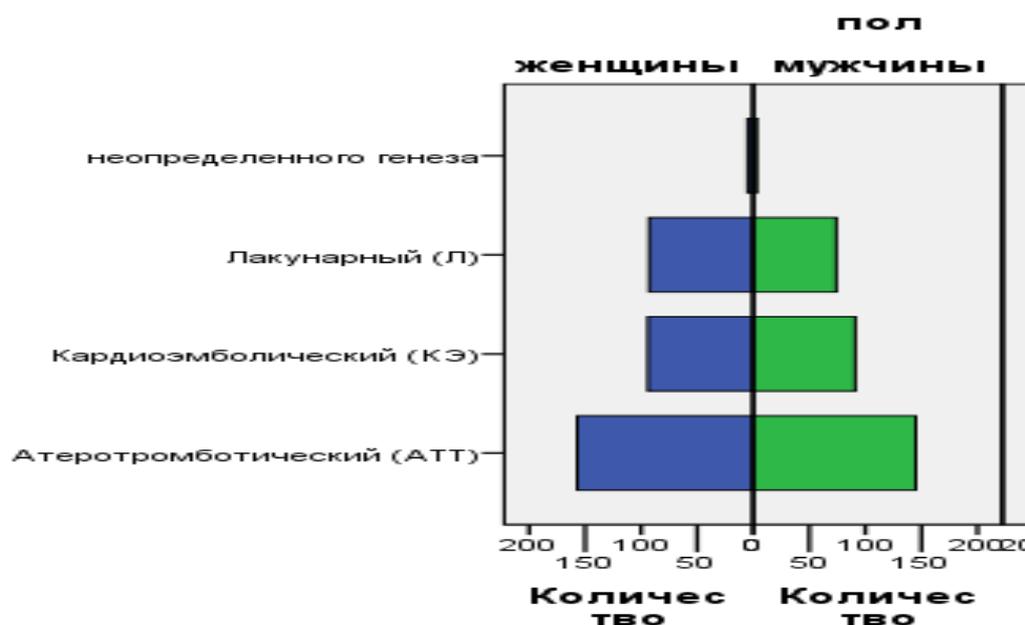


Рисунок 5 - Структура патогенетических подтипов ишемического инсульта по полу (Диаграмма Парето).

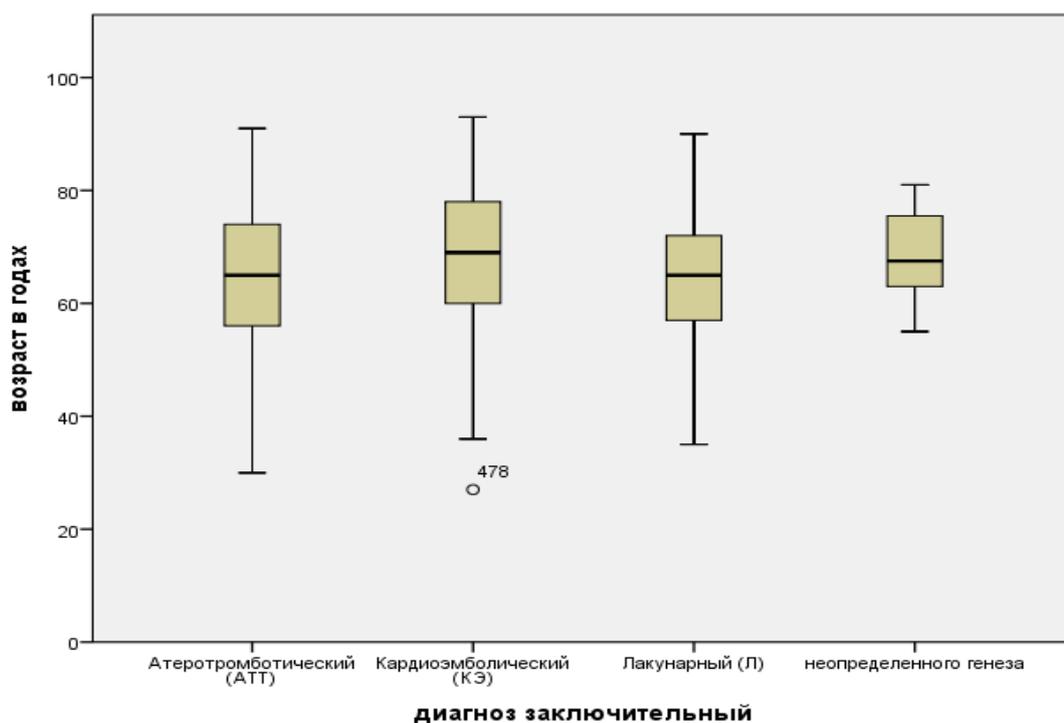


Рисунок 6 - Характеристика патогенетических подтипов ИИ в зависимости от возраста (ящичные диаграммы).

Результаты оценки исходного состояния пациентов при поступлении по оценочным шкалам: ШКГ, NIHSS, модифицированной шкале Рэнкина (mRS) показана на рисунке 7.

Состояние неврологического статуса пациентов на момент поступления (по шкалам ШКГ, NIHSS, mRS)

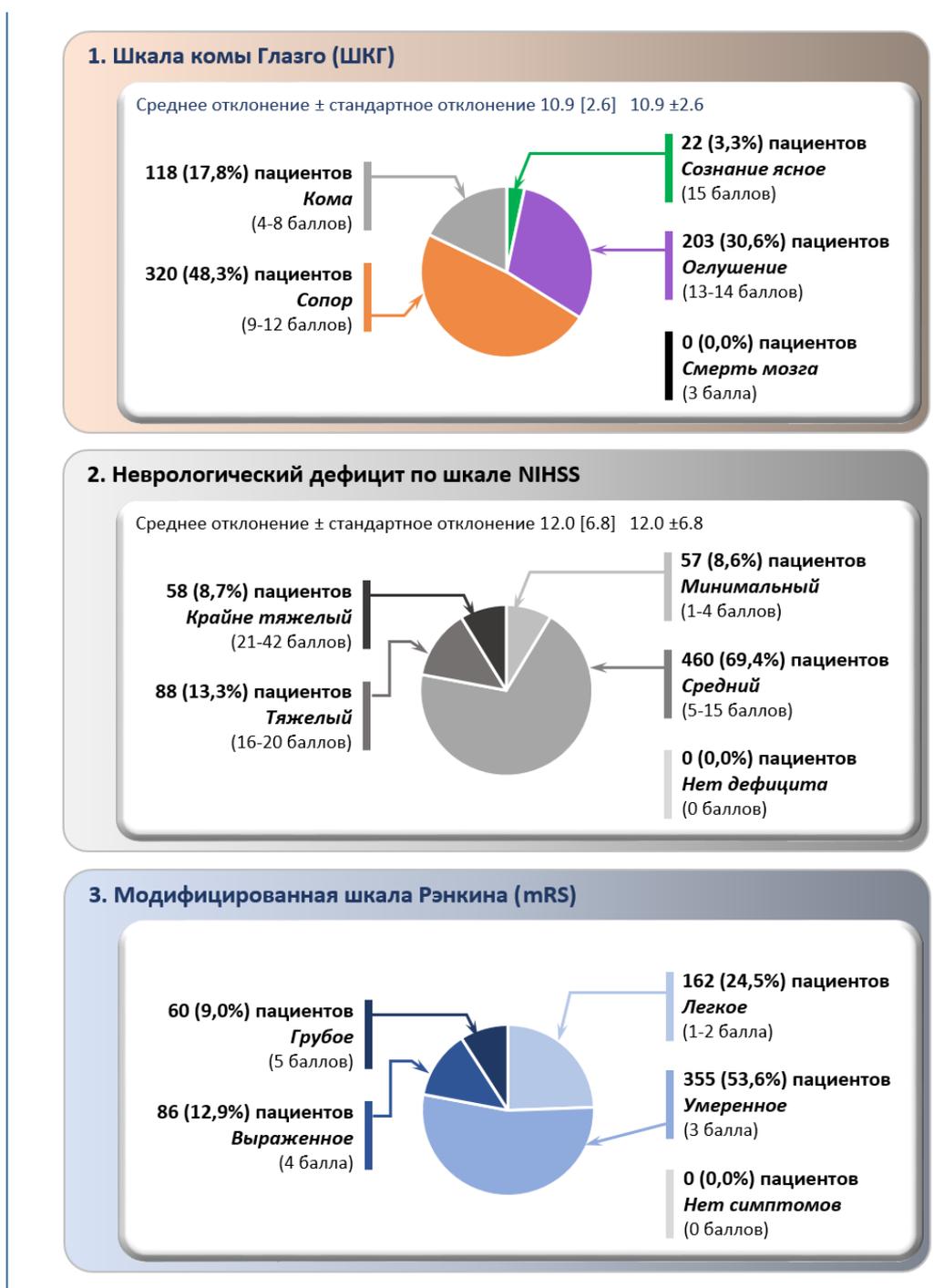


Рисунок 7 - Состояние неврологического статуса пациентов на момент поступления (ШКГ, NIHSS, MRS).

Из 663 больных ИИ почти 96,7% в остром периоде имели нарушение сознания от оглушения до комы. Среднее значение баллов по ШКГ больных ИИ на момент поступления составило $10,9 \pm 2,6$.

При этом оценка по ШКГ выглядела следующим образом: у 15,2% (101) больных была тяжелая степень угнетения сознания менее 8 баллов на момент

поступления, 48,2% (320) пациентов находились в состоянии сопора с оценкой 9-12 баллов, а у 30,6% (203) уровень сознания по ШКГ 14-13 баллов соответствовал оглушению.

С целью выделения характера естественного течения ИИ и особенностей функционального исхода инсульта острого периода пациенты были оценены по шкале Рэнкина (mRS). Результаты считали удовлетворительным (благоприятным) при полном или частичном восстановлении способностей пациента к передвижению и самообслуживанию соответствующей оценке от 0-2 балла (24.5%) до 3 балла (53.6%). Неудовлетворительный исход – сохранение выраженных инвалидизирующих нарушений потребность в постороннем уходе от 4 баллов (12.9%) – до 5 баллов (9.0%) или смерть пациента 6 баллов.

Таблица 5 - Оценка уровня сознания у больных с различными патогенетическими подтипами ИИ

подтипы ИИ	n=663	ШКГ баллы±среднее отклонение	Стандартная ошибка	95% ДИ для среднего значения
Атеротромботический (АТИ)	303	10±0,656	0,038	9-12 баллов
Кардиоэмболический(КЭИ)	185	8 ±0,813	0,060	4-10 баллов
Лакунарный (ЛИ)	167	14±0,459	0,036	12-14 балл
Неопределенный генез	8	9±0,354	0,125	4-10 балл
Всего	663	11±0,827	0,032	9-13 балл

Наиболее тяжелые пациенты с угнетением сознания при поступлении выявлены с КЭИ (8±0,813) и неопределенным патогенетическим подтипом (9±0,354) баллов (таблица 5).

Определение степени тяжести ИИ, проведенное по шкале оценки NIHSS показало, что при поступлении тяжесть неврологической симптоматики в среднем составляет 12,0 ± 6,8 баллов. Из всего количества больных с ИИ легкая степень тяжести по шкале NIHSS выявлена у 57 (8,6%) пациентов, средняя степень у 460 (69.4%), тяжелая степень у 88 (13.3%), крайне тяжелая степень тяжести установлена у 58 (8.7%) больных.

При анализе неврологического статуса больных выявлялись различной степени выраженности двигательные и чувствительные расстройства, поражения черепно-мозговых нервов, симптомы орального автоматизма, бульбарный и псевдобульбарные синдромы, дисфония, дизартрия, нарушения речи, нарушения гнозиса и праксиса, депрессия и т.д.

На момент поступления больные с КЭИ отличались выраженностью неврологических нарушений. У больных с лакунарным инсультом были менее выраженные неврологические расстройства по сравнению с пациентами остальных групп. Но у больных лакунарным инсультом достоверно чаще превалировала моторная афазия, что усугубляла инвалидизацию.

Раннее неврологическое ухудшение связано с повышенной смертностью в течение 7 дней от начала инсульта [64-67].

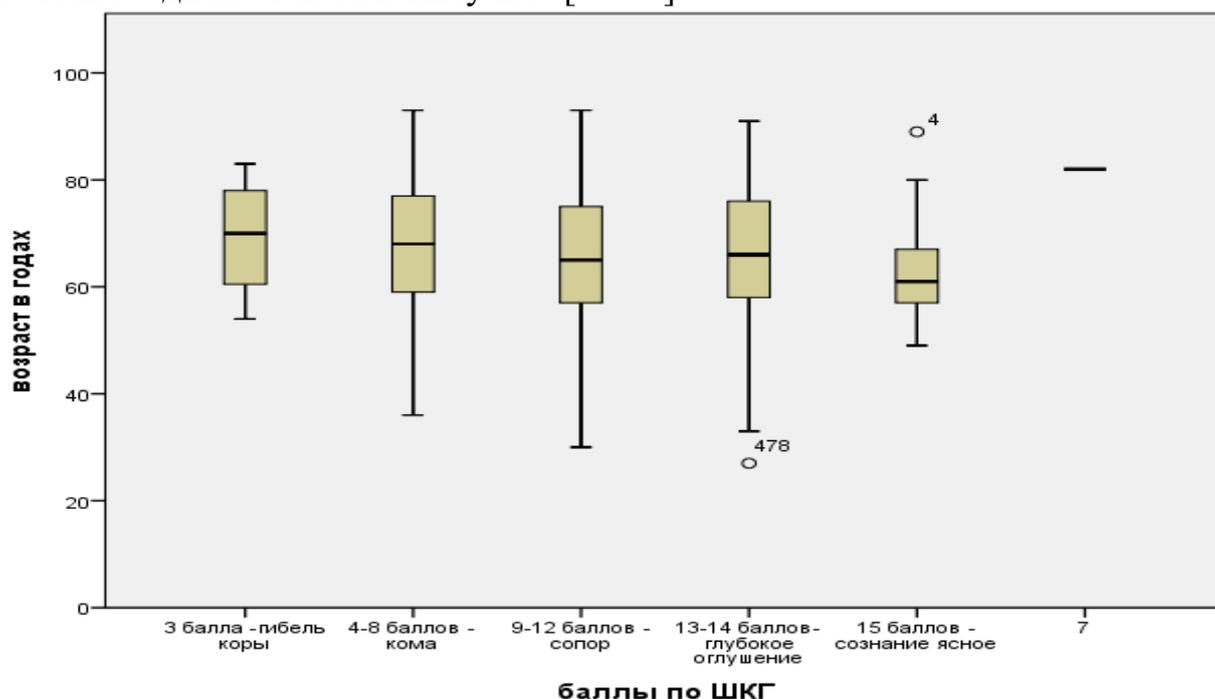


Рисунок 8 - Характеристика уровня сознания пациентов в зависимости от возраста (Ящичная диаграмма. IBM SPSS Statistics 23,0).

Из общего числа больных ИИ (663) почти у 7,2% (48) пациентов в остром периоде наступил летальный исход, количество мужчин 45,8% и женщин 54,2% (таблица 6).

Таблица 6 - Характеристика больных группы-2 с учетом возраста и пола

возраст	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	90≤ лет
жен. (n= 26) n=(54,1%)	1(2,1%)	4(8,4%)	3(6,3%)	11(22,9%)	7(14,7%)	-
муж. (n= 22) n=(45,8%)	1(2,1%)	6(12,6%)	7(14,7%)	5(10,4%)	2(4,2%)	1(2,1%)
Всего (n= 48) n (100%)	2 (4,2%)	10 (20,8%)	10 (20,8)	16 (33,3%)	9 (18,8%)	1 (2,1%)

Анализ ранней летальности показал, что статистически значимый показатель по возрастным характеристикам среди обследуемых больных

группы-2 пришелся на возраст от 70 до 79 лет ($p < 0,001$).

Из них 64,6% (31) человек умерли в первые сутки (до 24 часов) пребывания в стационаре. У 16,7% (8) пациентов летальность наступила в последующие 3-е суток (72 часа), у 18,75% (9) в течении первой недели.

Средний возраст больных группы-2 с неблагоприятным летальным исходом составил $68,3 \pm 12,0$, в том числе у женщин $75,6 \pm 5,8$ и у мужчин $67,6 \pm 3,2$.

Обращает на себя внимание высокая летальность почти 27,1% среди лиц трудоспособного молодого и среднего возраста до 60 лет, однако летальность в старших возрастных группах выше.

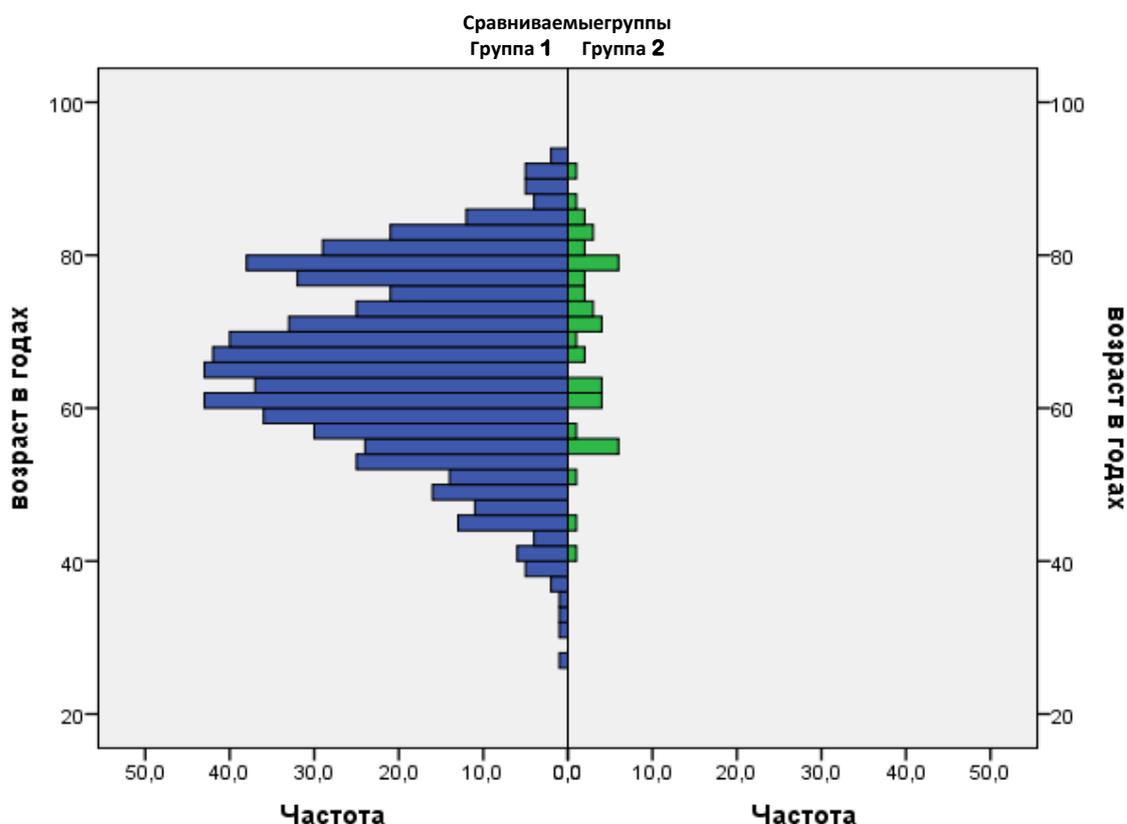


Рисунок 9 - Характеристика смертности и выживаемости по возрасту пациентов с ИИ (Диаграмма Парето)

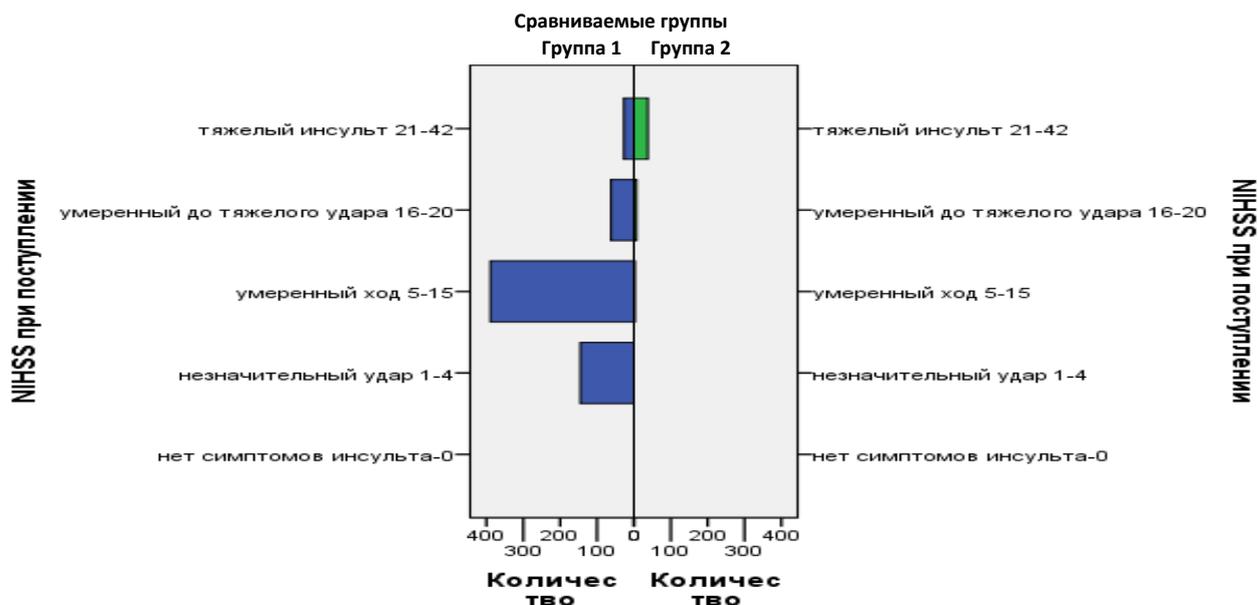


Рисунок 10 - Характеристика смертности и выживаемости по NIHSS при поступлении (Диаграмма Парето)

Как видно из рисунка 8 на момент поступления все пациенты в группе 2 с летальным исходом по шкале NIHSS оценены как тяжелый инсульт (от 21 до 42 баллов). Нами получено статистически значимое различие балльной оценки по шкале NIHSS уже при поступлении в сравниваемых группах. Именно у этих пациентов в группе-2 с неблагоприятным исходом, ухудшения продолжали нарастать.

3.1.2 Сравнение основных параметров ишемического инсульта в группах с благоприятным и неблагоприятным исходом

В наши задачи входило выявление возможных механизмов и причин, приводящих к ишемическому инсульту, а также изучение факторов, ассоциированных с прогрессированием и ранним неврологическим ухудшением в острой фазе инсульта. Для этого мы сравнили две группы больных с ИИ: группа-1 (n=615) с благоприятным прогнозом, и группа-2 с неблагоприятным летальным исходом (n=48) в остром периоде инсульта (рисунок 11).

Сравнительная характеристика выживших / умерших больных с ишемическим инсультом с учетом возраста
Всего 663 чел.

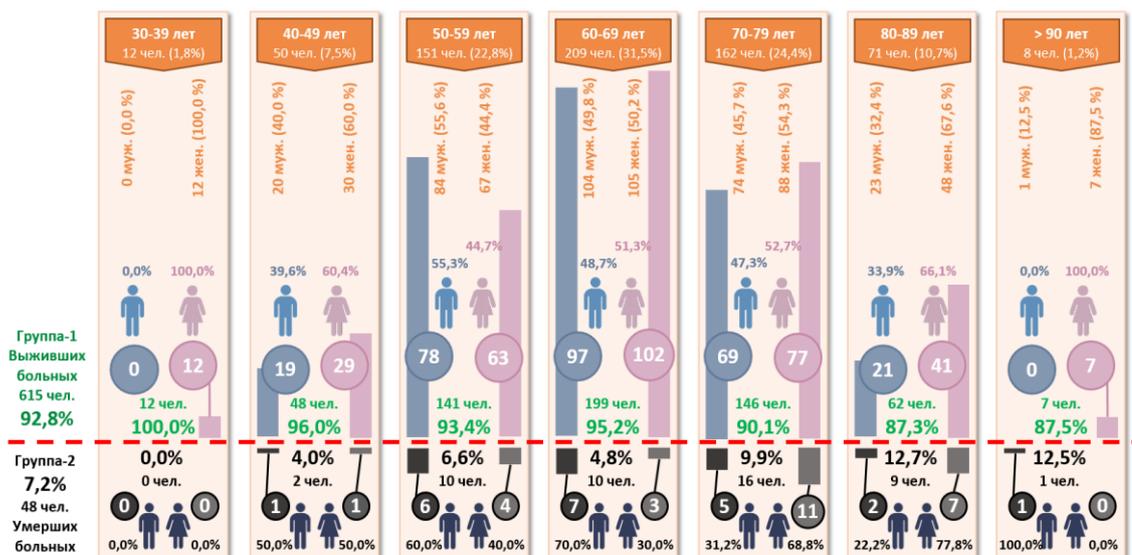


Рисунок 11 - Сравнительная характеристика обеих групп больных по полу и возрасту.

Мы провели сравнение демографических характеристик, предикторов риска, данных лабораторно-инструментального обследования, коморбидных заболеваний у пациентов с диагнозом ишемический инсульт в остром периоде обеих групп.

Демографические и клинические данные обеих групп больных показывают, что при сопоставлении групп по возрасту и полу оказались сопоставимы. Средний возраст группы-1 составил 65.0 ± 11.7 и группы-2 составил 68.3 ± 12.0 лет соответственно. Женщин в 1-группе было 53,8% во второй группе 54,1%, мужчин 46,1% и 45,8% соответственно. В группе-1 достоверно преобладали женщины в возрасте до 39 лет и старше 90 лет.

В сравнении средних значений и стандартных отклонений группы-2, с группой-1, преобладают лица старше 70 лет, которые составили 54,2%, в противоположной 35,3% соответственно (p -value= 0,014).

При сравнении показателей тяжести неврологических и функциональных нарушений у больных обеих групп в первые 24 - 72 часа получены статистически значимые отличия. Так кардиоэмболический патогенетический подтип ишемического инсульта встречался чаще 56,3% (27) в группе-2 с летальным исходом чем в первой группе - 25,7% (158) соответственно ($p < 0,001$).

В группе-2 с летальным исходом атеротромботический (АТИ) подтип ИИ выявлен у 43,8% (21) и 45,9% (282) в противоположной группе. Лакунарный подтип 27,2% (167) и неопределенного генеза 1,3% (8) диагностирован только в группе-1.

Выявлено статистически значимое прогрессирование степени тяжести неврологических симптомов по ШКГ и шкале NIHSS, и функциональных нарушений по шкале Рэнкина во второй группе при сравнении средних

Прогрессирующее течение инсульта, сопровождающееся нарастанием неврологической симптоматики в течении 24-72 часов по шкале NIHSS на ≥ 1 баллов наблюдалось у 245 (36,8%), у 418(63,1%) пациентов неврологический статус оставался более стабильным в эти же часы. Причем среди группы-2 с летальным исходом 42 (87.5%) больных имели раннее неврологическое ухудшение (оценка NIHSS ≥ 1 балла), в течение первых 24 часов после начала инсульта, в противоположной группе 202 (32.8%)($p < 0.001$). Степень прогрессирования по шкале NIHSS через 72 часа пребывания в стационаре достоверно чаще выявлена в этой же группе $p < 0,001$ ($X^2 = -8,035$).

При оценке неврологического статуса в группе-2 чаще выявлялись нарушение речи, парез 7 и 12 пары черепномозговых нервов. Установлено, что нарушение функции глотания наиболее часто встречается у пациентов группы-2 в 75% (36), в противоположной группе 0.7%(4) $p < 0.001^{**}$

При оценке неврологической симптоматики через 24-72 часа пребывания в стационаре. Во второй группе достоверно чаще наблюдалось нарастание очаговых и общемозговых симптомов, включая изменение сознания (до уровня глубокой комы) $p < 0,001$, $X^2 = -16,745$ (equal).

Таблица 7 - Анализ времени доставки пациентов в стационар в сравниваемых группах

Время доставки в стационар	Группа-2 (n = 48)n (%)	группа-1 (n = 615)n (%)	² /t
до 1 час	-	17(2,8%)*	
до 2 час	-	36(5,9%)*	
до 3 час	5 (10,4%)	96(15,6%)*	
до 4 час	9 (18,8%)	242(39,%)	
до 7 час	16 (33,3%)	121(19,7%)	
до 10 час	11 (22,9%)	71(11,5%)	
более 10 час	2 (4,2%)	14(2,3%)	
нет сведений	5(10,4%)	18(2,9%)	
*$p < 0,001$			
Сравнение средних - t-test для независимых групп (количественные данные). Сравнение долей – X^2			

Статистически значимые показатели неблагоприятного исхода наблюдались при доставке больных позднее 4-х часов $< 0,001$.

Количество поступивших в течение первых 4 часов после появления симптомов в группе-1 было 63.3% (391) в противоположной группе 29.2% (14) (таблица 7). Задержка доставки пациентов в стационар достоверно чаще ($p < 0,001$) выявлена во второй группе. Основная причина, которой недостаток знаний о симптомах инсульта среди населения. Поздняя доставка пациентов в стационар ассоциируется с тяжелым инсультом, которые оценены по шкале NIHSS как тяжелый инсульт (от 21 до 42 баллов). Для достижения

положительных результатов рекомендуется максимально сократить время оказания помощи при инсульте.

Таким образом, наиболее важными факторами напрямую связанными с высокой летальностью в остром периоде ишемического инсульта (24-72 часа) являются ($p < 0,001$): возраст больных старше 67 лет. Позднее поступление в стационар от момента начала инсульта 59,2% против 32,3% группы с благоприятным исходом ($p < 0,001$).

Кардиоэмболический патогенетический подтип ишемического инсульта (2 группа 27 (56,3%) 1 группа 158 (25.7%) соответственно, $p < 0,001$). Кроме того, поздняя доставка в стационар, клиническая тяжесть при поступлении с более высокими баллами NIHSS (23.5 ± 7.3 против 11.3 ± 5.9 , $p < 0,001$), с более высокими баллами функциональных грубых нарушений жизнедеятельности с оценкой в 5 баллов по шкале Рэнкина mRS наблюдались у 77.8% (35) пациентов 2-группы при поступлении, с более низкими баллами по шкале GCS 2-группа 5.7 ± 2.8 против 1-группы 11.3 ± 2.1 , ($p < 0,001$). Также нарушение функции глотания наиболее часто встречалось у пациентов группы-2 в 75% (36) чем в противоположной группе 0.7% (4). $p < 0.001^{**}$

Всем больным в первые сутки заболевания для верификации диагноза проводилась КТ или МРТ головного мозга, при этом учитывали локализацию и размер очага (Таблица 8). Установлено, что тяжесть ишемического инсульта больного находилось в прямой статистически значимой связи с размером очага поражения ($p < 0,001$).

Таблица 8 - Размер очага в сравниваемых группах

Размер очага	группа 1 n=615	группа 2 n=48	X ²	p-value
инфаркта нет, но клинические симптомы сохраняются ≤ 24 часа	34 (5,5%)	0 (0.0%)		
инфаркт $< 1,5$ см в диаметре	209 (34.0%)	2 (4.2%)		< 0.001
инфаркт до 1/3 территории СМА или 1,5-5 см в диаметре	313 (50.9%)	3 (6.3%)		< 0.001
инфаркт 1/3-2/3 СМА или > 5 см, без эффекта заним. площади	44 (7.2%)	20 (41.7%)	212.7 (X ²)	< 0.001
инфаркт 2/3 территории СМА или > 5 см в диаметре плюс эффект занимаемой площади	15 (2.4%)	23 (47.9%)		< 0.001

Синдром внутричерепной гипертензии, выраженность отека головного мозга и инсульта был объективизирован на МРТ или КТ при поступлении (в течение 24 часов) или во время поступления в стационар у 102 пациентов. Внутричерепная гипертензия наблюдалась при обширных инсультах (диаметр очага превышал 5 см).

Крупные очаги диаметром более 5 см выявлены в первой группе в 9,6% (59) случаях из них 2,4%(15)с перифокальным отеком, в группе-2 с летальным исходом 89,6% (43), причем с перифокальным отеком было 23 (47,9%) пациентов ($p<0,001$). Очаги средних размеров также превалировали в первой группе 50,9% (313) против второй группы 6,3% (3)

Лакунарные очаги <1,5 см в диаметре выявлены в первой группе в 34,0% (209). Во второй группе лакунарные очаги выявлены в 4,2% (2) оба очага располагались в стволе головного мозга($p<0,001$).

Таблица 9 - Локализация очага инфаркта и бассейна пораженной артерии

МРТ		Частота	Проценты	Валидный процент	Накопленный процент
Валидные	левое	237	35,7	35,7	35,7
	правое	196	29,6	29,6	65,3
	ствол	207	31,2	31,2	96,5
	множественное	21	3,2	3,2	99,7
	Всего	663	100,0	100,0	
УЗДГ					
		Частота	Проценты	Валидный процент	Накопленный процент
Валидные	изменений нет	178	26,8	26,9	26,9
	изменение в БЦА	48	7,2	7,3	34,1
	изменение во внутренней сонной артерии	231	34,8	34,9	69,0
	изменения в позвоночной артерии	60	9,0	9,1	78,1
	множественные изменения	143	21,6	21,6	99,7
	Всего	662	99,8	100,0	
Пропущенные	Системные	1	,2		
Всего		663	100,0		

Отек головного мозга, сопровождающийся сдавлением ствола мозга, приводил к смерти.

Артериальная гипертензия и геморрагическая трансформация на МРТ (у больных с кардиоэмболическим инсультом) способствовал утяжелению прогноза.

При проведении исследования мы считали важным провести анализ распределения больных по локализации очага инфаркта (МРТ) и локализации пораженной артерий по данным УЗДГ, с возможностью определить зависимость прогрессирования неврологических симптомов в остром периоде ИИ. Достоверных различий в степени прогрессирования неврологических симптомов и локализацией очага и бассейном пораженной артерий не выявлено (таблица 9).

Согласно модифицированной классификации TOAST в группе-1, причина церебральной ишемии была как атеросклеротическая или болезнь крупных сосудов у 282 (45.9%) пациентов, кардиоэмболический подтип у 158 (25.7%) пациентов, лакунарный инсульт или болезнь мелких сосудов у 167 (27.2%) пациентов, и не определено у 8 (1.3%) пациентов.

Среди группы с летальным исходом атеротромботический подтип диагностирован у 21 (43.8%) и кардиоэмболический инсульт у 27 (56.3%) больных.

Таблица 10 - Оценка влияния факторов риска в остром периоде ИИ

Факторы риска	Группа-1 (n = 615) n (%)	Группа-2 (n =48) n (%)	X ²	p-value
Артериальная гипертензия	491 (79.8)	40 (83.3)	0.157	0.692
ХСН	355 (57,7%)	29(60,4%)	0.163	0.704
Инфаркт миокарда	65 (10,5)	7 (14,5)	0.192	0.685
Фибрилляция предсердий	107 (17.4)	22 (45.8)	21.194 X ²	<0.001
Ишемическая болезнь сердца (ИБС)	133 (21.6)	36 (75%)	64.004 X ²	<0.001
Сахарный диабет 2 типа	67 (10.9)	16 (33.3)	18.473 X ²	<0.001
ХОБЛ	6 (1.0)	5 (10.4)		0.001**
ХБП	2 (0.3)	1 (2.1)		0.202**

* t-test

**Точный критерий Фишера

Сравнение средних - t-test для независимых групп (количественные данные), при неравенстве дисперсий

Сравнение долей – X² тест

Важно отметить, что фибрилляция предсердий, ИБС, СД2, ХОБЛ были

достоверно чаще ($p<0.001$), ХБП ($p=0.202^{**}$) причинами ухудшения состояния, приводящие к летальным исходам (таблица 10).

При сравнении частоты встречаемости факторов риска ДАД встречалось в равной степени в обеих группах без достоверной разницы в группе выживших $91,7 \pm 9.5$ мм.рт. ст. и в противоположной группе 93.1 ± 16.0

САД было значительно выше в группе с летальным исходом среднее значение равное $172,7 \pm 44,27$ мм.рт.ст.

Нами выявлена связь между тяжелым инсультом (NIHSS 16-42 балла) и высоким САД более 180 мм.рт.ст. почти у 50% больных с летальным исходом в остром периоде инсульта. При поступлении в стационар в этой же группе больных в 18,6% (9) случаях тяжелый инсульт был связан с низким САД менее 90 мм.рт.ст. и низким ДАД менее 60 мм.рт.ст.

В группе-1 у больных среднее САД было равным $167,1 \pm 31.12$ и у 57.7% больных САД было ниже 180 мм.рт.ст.

Нами прослежена АГ в группах с различными подтипами ИИ 95% доверительный интервал (ДИ) для среднего значения (Таблица 11).

Таблица 11 - АД при различных патогенетических подтипах ишемического инсульта

АД	подтип ИИ	n=663	АД мм.рт.ст. ср.откл±станд. ошибка	(95% ДИ)
САД	Атеротромботический (АТИ)	303	$158,45 \pm 26,387$	155,47-161,43
	Кардиоэмболический (КЭИ)	185	$152,32 \pm 28,236$	148,23-156,42
	Лакунарный (ЛИ)	166	$201,57 \pm 17,649$	198,86-204,27
	Неопределенного генеза	8	$153,75 \pm 26,152$	131,89-175,61
	Всего	663	$167,49 \pm 31,950$	165,05-169,93
ДАД	Атеротромботический (АТИ)	303	$91,01 \pm 8,634$	90,04-91,99
	Кардиоэмболический (КЭИ)	185	$89,43 \pm 13,056$	87,54-91,33
	Лакунарный (ЛИ)	167	$95,93 \pm 7,457$	94,79-97,07
	Неопределенного генеза	8	$92,50 \pm 8,864$	85,09-99,91
	Всего	663	$91,83 \pm 10,115$	91,06-92,60

Пациенты с самым высоким и самым низким уровнями артериального давления в первые 24 часа после инсульта с большей вероятностью имели раннее неврологическое ухудшение и летальный прогноз. У пациентов с САД при поступлении ниже 120 мм рт. ст. был повышенный риск смерти по сравнению с пациентами с САД между 140-150 мм рт.ст.

Также выявлена связь между высокими показателями САД при поступлении и смертностью только при кардиоэмболических, а низкие цифры

САД при атеротромботических подтипах ИИ (рисунок 13).

По данным литературы предполагается, что повышение АД после ишемического инсульта представляет собой адаптивный ответ, который помогает поддерживать церебральный кровоток и перфузию ишемической полутени, несмотря на потерю церебральной ауторегуляции. И наоборот, существует мнение, что чрезмерное повышение АД может привести к неврологическому ухудшению от геморрагической трансформации, особенно, при наличии поврежденного гематоэнцефалического барьера [111,112,126].

Таким образом, отягощающими факторами прогрессирования в остром периоде ИИ связанные с ранней смертностью являются сопутствующие заболевания: неконтролируемая артериальная гипертензия, фибрилляция предсердий, сахарный диабет, хроническое обструктивное заболевание легких.

В группе-1 среднее значение ЧСС составил $82,73 \pm 11,8$ ударов в минуту, но при этом ЧСС более 120 в минуту регистрировался у 1,0% пациентов, в группе-2 с летальным исходом среднее ЧСС $88,3 \pm 21,2$ в минуту было более чем у 10,4%, ЧСС 120 в минуту у 89,6% больных ($p < 0,001$, $X^2 = -1,804$)

При поступлении в стационар лиц с нарушением дыхания в группе-2 с летальным исходом с ЧДД > 28 в минуту было 79,2% (38).

При сравнении выявлено, что частота дыхания (< 20 против > 28 , $p < 0,001$) были значительно выше в группе с летальным исходом, чем в группе выживших (рисунок 13). Из общего количества 118 больных с тяжелым инсультом (ШКГ 4-8 баллов) 35 пациентов были интубированы, 32 из которых пациенты группы-2 и только трое из группы-1.

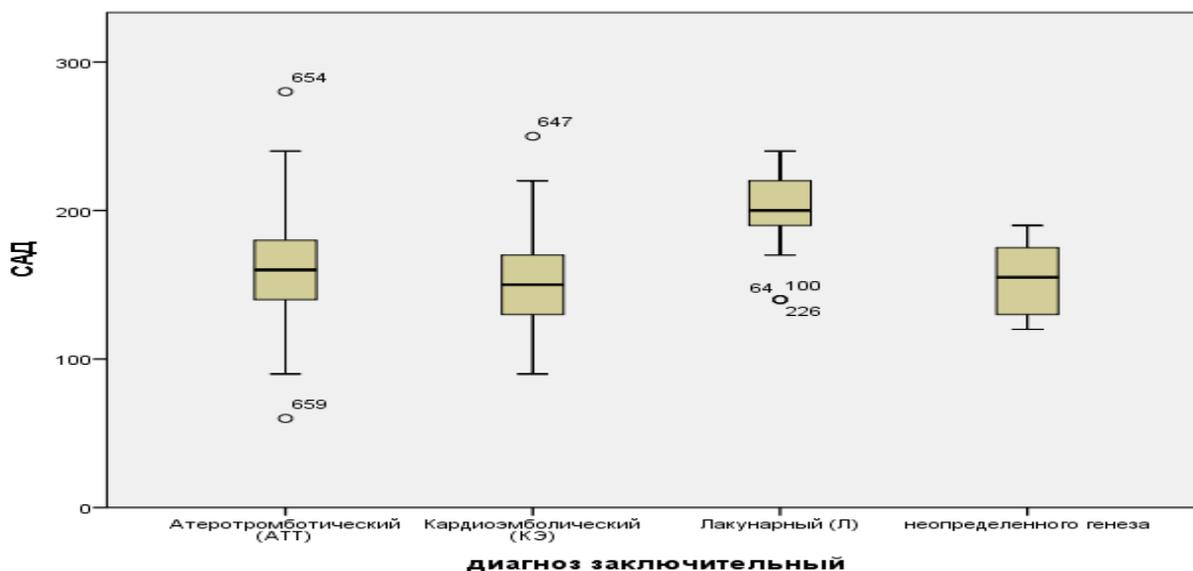


Рисунок 13 - САД у пациентов с различными патогенетическими подтипами ишемического инсульта в обеих группах (Ящичные диаграммы).

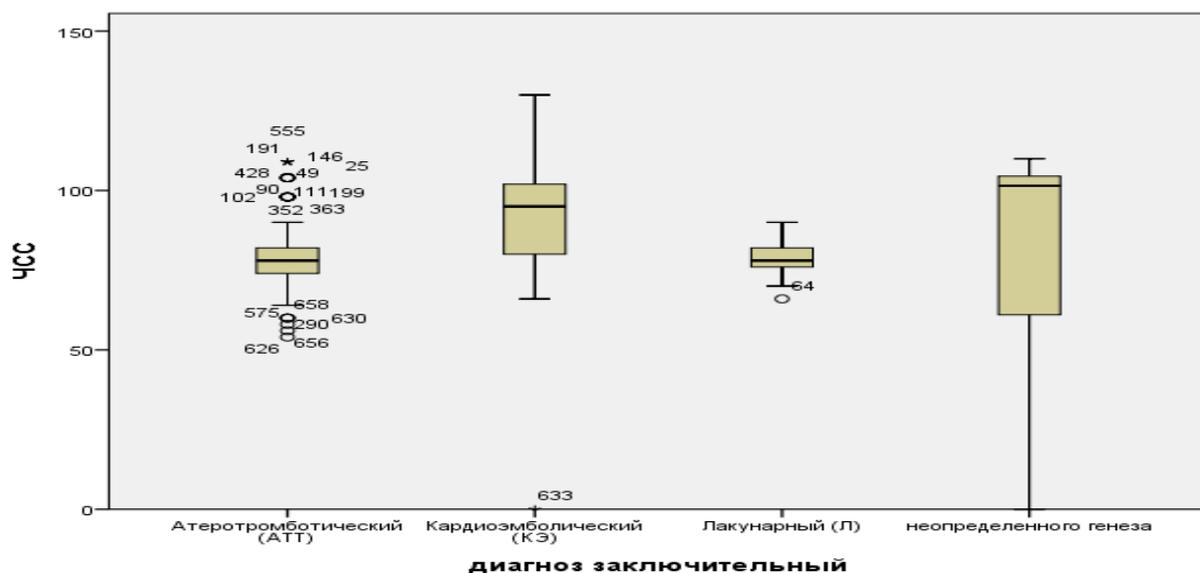


Рисунок 14 - ЧСС у пациентов у пациентов с различными патогенетическими подтипами ишемического инсульта (Ящичные диаграммы)

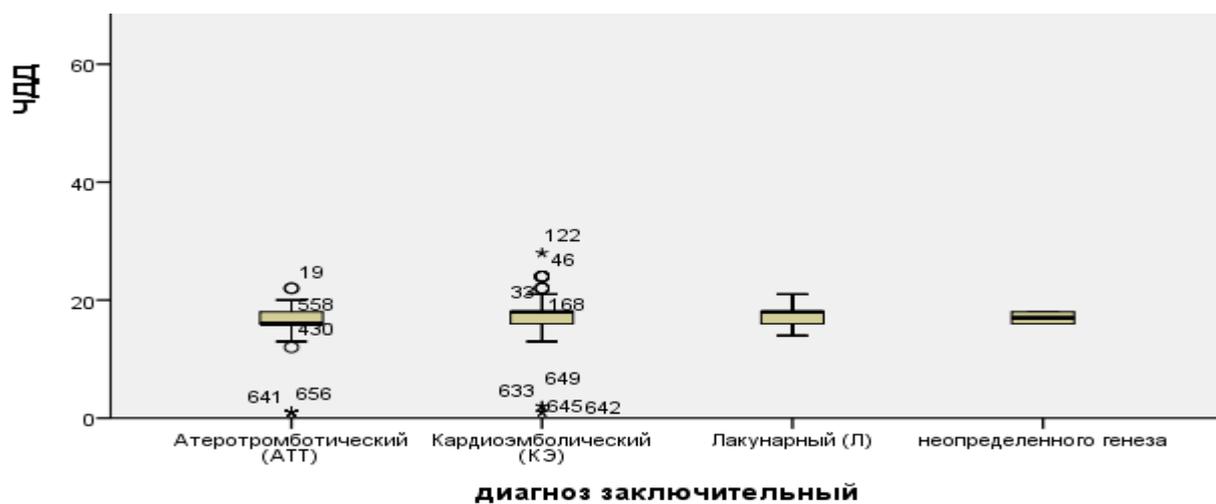


Рисунок 15 - ЧДД у пациентов при различных патогенетических подтипах ИИ (Ящичные диаграммы).

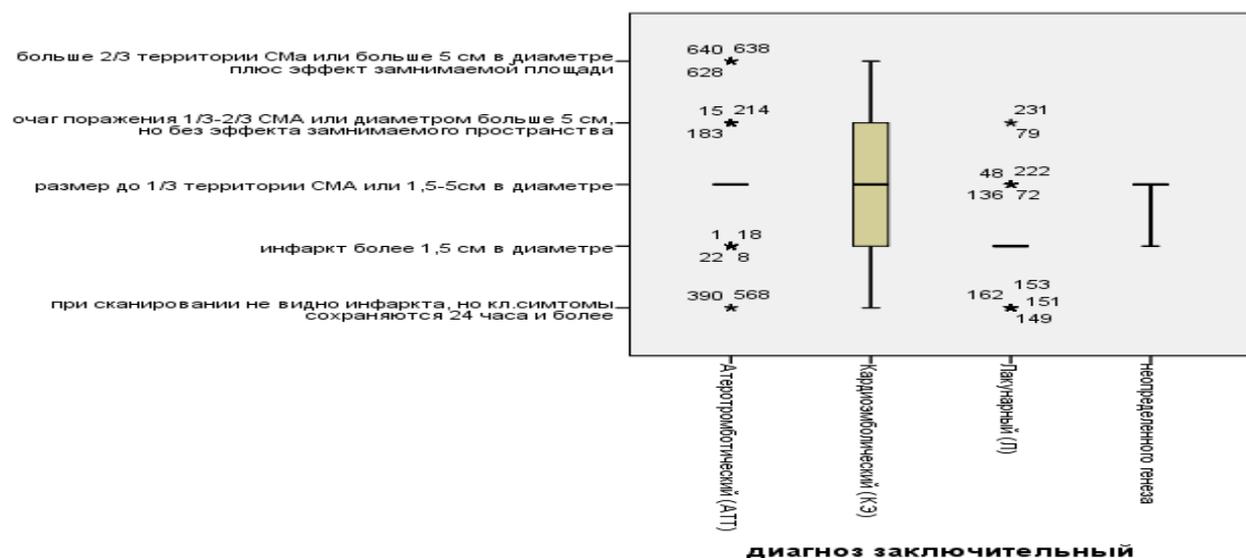


Рисунок 16 - Размеры очага у пациентов при различных патогенетических подтипах ИИ (Ящичные диаграммы).

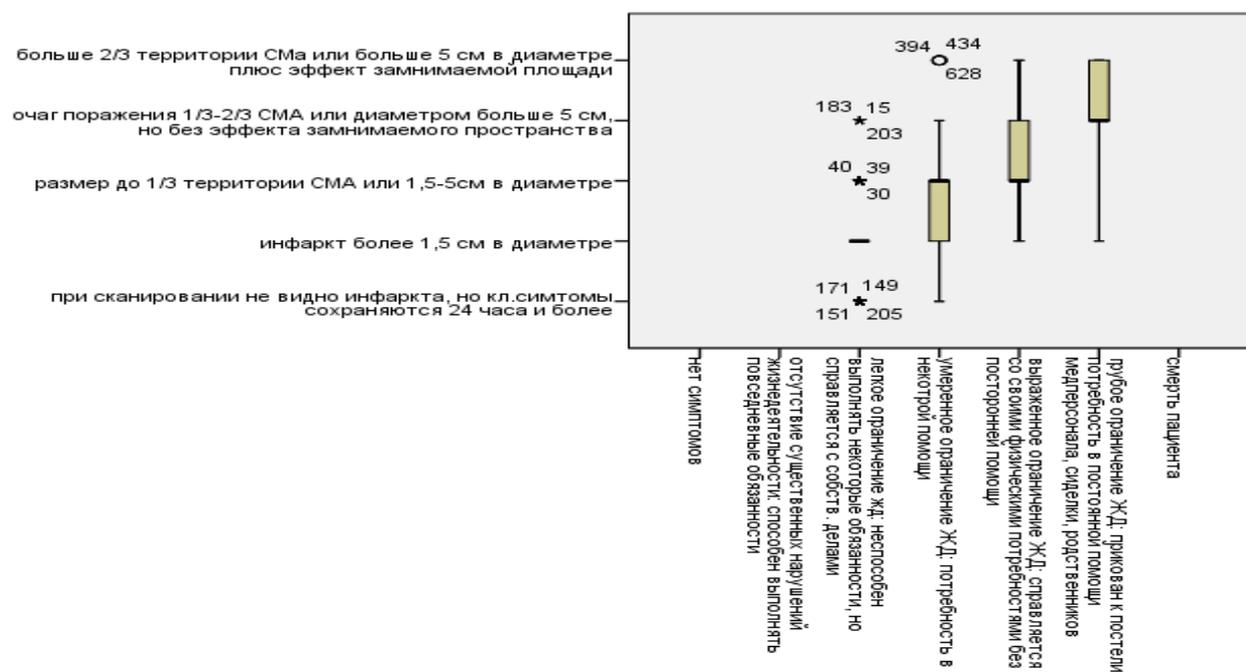


Рисунок 17 - Размеры очага у пациентов при различных оценках по шкале Рэнкина (Ящичные диаграммы).

Кардиоэмболический инсульт является тяжелым состоянием из-за большого размера инфаркта, с высоким уровнем внутрибольничной летальности (56.3%) и значительной неврологической дисфункцией с более грубыми нарушениями жизнедеятельности с оценкой в 5 баллов по шкале Рэнкина mRS (рисунок 14).

Отек головного мозга является основной причиной раннего ухудшения состояния и смерти у пациентов с большими инфарктами.

В нашем исследовании выявлено, что опасный для госпитальной смертности в остром периоде ишемического инсульта отек головного мозга

обычно развивается первые семь дней после госпитализации, но 37,5% (18) пациентов умерли в первые 24 часа после появления симптомов.

В результате однофакторного анализа было выявлено, что наиболее значимыми предикторами ухудшения с повышенным коэффициентом риска госпитальной смертности в остром периоде ишемического инсульта при поступлении являются: нарушение функции глотания (0,734), нарушения функции дыхания (32 пациента были на ИВЛ), угнетенного сознания по ШКГ до 4-10 баллов. пациенты с кардиоэмболическим подтипом (0,90) в возрасте до 67 лет, с высокими показателями САД (выше 160 мм.рт.ст.), а также пациенты с атеротромботическим подтипом ИИ (0,93) в возрасте старше 65 лет ($p < 0,000$) с низкими цифрами САД (ниже 118 мм.рт.ст.).

Данные лабораторных показателей (общий анализ крови, глюкоза крови и коагулограмма) пациентов двух групп наблюдения приведены в сравнительной таблице 13.

Лейкоцитоз достоверно чаще встречался во второй группе 87,5% (42) со средними показателями $10,0 \pm 5,1$ в сравнении с первой группой 19,5% (120) при средних показателях $7,8 \pm 1,9$ $p < 0,001$.

Гипергликемия выявлена в группе-2 почти у 87,5% (42) в группе-1 только у 26,5% $p < 0,001$ при средних показателях $10,2 \pm 5,2$ и $5,7 \pm 1,7$ $p < 0,001$.

Показатели активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) менее 35 сек обнаружено во второй группе у 84,8% (39) в сравнении с первой группой 35,6% (219) $p < 0,001$ при средних показателях $28,9 \pm 4,2$ и $37,2 \pm 5,4$ соответственно $p < 0,001$. Уменьшение протромбинового индекса менее 80% выявлено в обеих группах, в тоже время в группе-2 у 8,3% (4) отмечается повышение ПТИ выше 120%

Гематокрит был значительно выше у пациентов группы 2 более 47,9% (23) в сравнении с первой группой 40% (246).

Таким образом, наиболее достоверными по Стьюденту являются показатели АЧТВ менее 35 сек у 84,8% (39), глюкоза больше 6 ммоль/л у 87,5% пациентов второй группы ИИ.

АЧТВ менее 35 сек и уменьшение протромбинового индекса можно объяснить с повышенным потреблением протромбина.

Таблица 12 - Характеристики лабораторных показателей в сравниваемых группах.

Показатели среднее [стандартное отклонение]	Группа-1 (n= 615) n(%)	Группа-2 (n= 48) n(%)	χ^2/t	p-value
Глюкоза	5,7 [1,7]	10.2 [5.2]	-5.923*	<0,001
>6 ммоль/л	163 (26.5)	42 (87.5)	(notequal)	
<=6 ммоль/л	452 (73.5)	6 (12.5)	74.726(χ^2)	<0,001
АЧТВ	37.2 [5.4]	28.9 [4.2]	7.164*	<0,001
>35 с	396 (64.4)	7 (15.2)	(notequal)	

<=35с	219 (35.6)	39 (84.8)	41.445	<0,001
МНО	1.6 [0.6]	1.2 [0.3]	7.663 (χ^2)	<0.001
Протромбиновый индекс	77.4 [14.8]	80.2 [25.7]	-0.736* (notequal)	<0.001
<80 %	322 (52.4)	25 (52.1)		
80-120 %	293 (47.6)	19 (39.6)		
>120 %	0 (0.0)	4 (8.3)		
Фибриноген	2.7 [0.7]	2.8 [1.1]	-	0.398
<2 г/л	46 (7,4)	13(27)	0,853	<0,001
2-4 г/л	537(87,3)	29(60,4)		
>4 г/л	32(5,2)	6(12,5)		<0,001
Лейкоциты	7.8 [1.9]	10,0 [5,1]	-	0.004
>9*10 ⁹ /л	120 (19.5)	21 (43,8)	3.037	
<9*10 ⁹ /л	495 (80.5)	27 (56,3)	14,208	<0.001
Гематокрит	46.1 [11.6]	42.6 [6.6]	3,270* (notequal)	0.002
<35	58 (9.4)	7 (14.6)		
35-45	311 (50.6)	18 (37.5)		
>45	246 (40.0)	23 (47.9)		
Эритроциты *10 ¹² /л	4.8 [0.7]	5.0 [0.8]	-1.682 (equal)	0.093
Тромбоциты *10 ⁹ /л	233.1 [68.1]	202.5 [77.3]	2.691	0.010
Сравнение средних - t-test для независимых групп (количественные данные)				
Сравнение долей – Хи-квадрат тест				

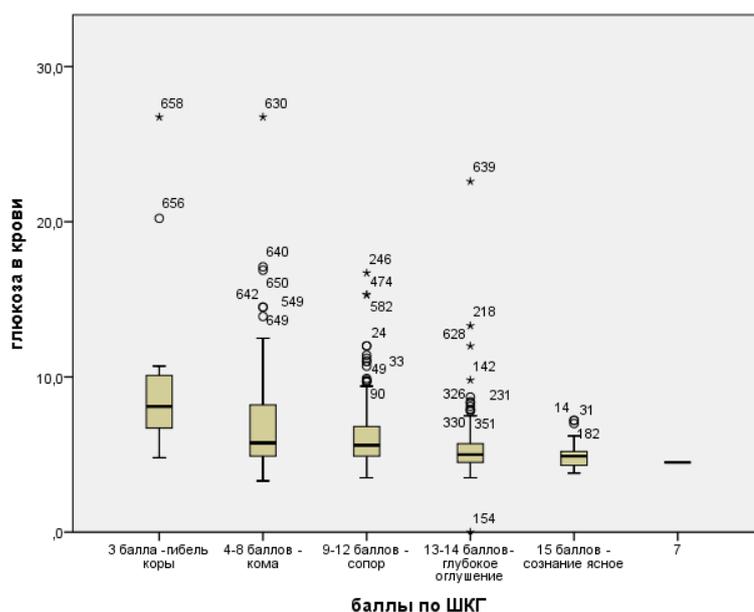


Рисунок 18 - Уровень глюкозы у пациентов с различным уровнем сознания (Ящичные диаграммы).

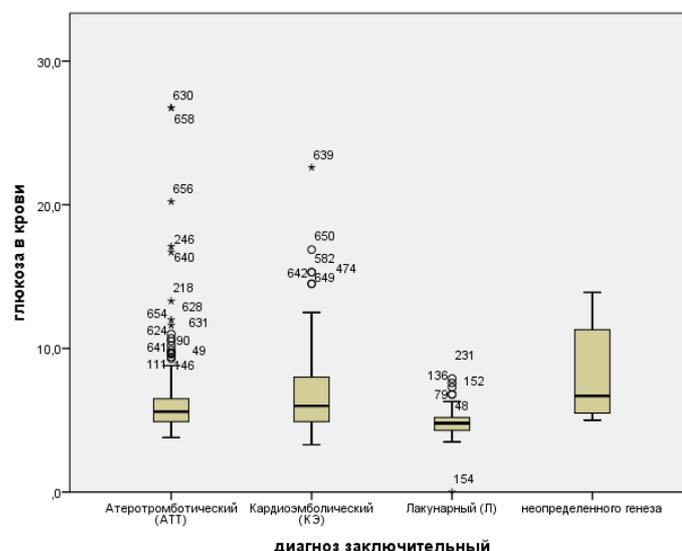


Рисунок 19 - Уровень глюкозы у пациентов с различным патогенетическим подтипом ИИ (Ящичные диаграммы).

Таким образом, отягощающими факторами прогрессирования в остром периоде являются сопутствующие заболевания: ФП, ИБС, ХСН, ХОБЛ, СД2, ХБП, а также гипергликемия, удлинение активированного частичного тромбопластинового времени, размеры очага инфаркта более 5 см в диаметре с эффектом занимаемой площади, поздняя доставка пациентов в стационар.

3.2 Прогнозирование выживаемости пациентов при различных подтипах ИИ

При оценке результатов по исследуемым группам были выявлены достоверные различия показателей в группе с кардиоэмболическим инсультом при сравнении с атеротромботическим, в то время как данные по другим видам ИИ отличий не имеют.

Таблица 13 - Перцентили выживаемости

выжил/ умер	диагноз заключительный	25,0%		50,0%		75,0%	
		Оценка	Стандартн ая ошибка	Оценка	Стандартн ая ошибка	Оценка	Стандартна я ошибка
умер	Атеротромботический (АТТ)	77,000	1,952	72,000	4,536	60,000	4,830
	Кардиоэмболический (КЭ)	81,000	2,010	66,000	5,099	61,000	4,707
	Все	79,000	,899	70,000	1,710	60,000	2,325
выжил	Атеротромботический (АТТ)	73,000	1,197	65,000	,743	56,000	1,171
	Кардиоэмболический (КЭ)	78,000	,950	69,000	1,399	60,000	1,085
	Лакунарный (Л)	72,000	1,664	65,000	1,345	57,000	1,256

	неопределенного генеза	71,000	7,348	67,000	2,828	62,000	5,511
	Все	75,000	,817	65,000	,587	58,000	,676
Все	Все	75,000	,796	66,000	,593	58,000	,626

При сопоставлении значений процентилей, 25-, -50 и 75-процентилей показателей смертности и выживаемости у пациентов, перенесших ИИ, установлены пороговые величины возраста для каждого подтипа ИИ.

Так, для группы с атеротромботической - выживаемость 56 лет, для группы с кардиоэмболическим инсультом - 60, для лакунарного и неопределенного подтипа соответственно - 62 и 57 лет. Средний возраст выживших - 58 лет.

Следует отметить, что за период с 31 мая 2017г. по 31 марта 2018г. от начала проведенного исследования общая летальность составила 48 человек на 663 человека (7,2%). В группе с атеротромботическим подтипом - 22 (3,14%), в группе кардиоэмболическим – 26 (3,88%). Различия в исследуемых группах носили достоверный характер.

При рассмотрении структуры летальности у пациентов исследуемых групп было отмечено преобладание причин, связанных с факторами риска: артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, фибрилляция предсердия, сахарный диабет 2-го типа, хроническая обструктивная болезнь легких, хроническая болезнь почек, ТИА различия носили достоверный характер.

Отметим, что летальным случаям наиболее часто (94,7%) предшествовало развитие тромбоэмболических осложнений (3,22%) с последующим развитием отека мозга (9,67%); реже – повторное ОНМК (6,45%).

3.2.1 Многофакторный регрессионный анализ Кокса

Максимальные различия между двумя группами больных с инсультом (с благоприятным и неблагоприятным исходом) были оценены с помощью пошагового дискриминантного анализа.

Многофакторный регрессионный анализ Кокса показал, что прогнозирование выживаемости пациентов в стационаре зависит от большого количества факторов (мы проанализировали 38 переменных). Пожилые люди (≥ 70 лет) в 1,5 раза чаще умирают во время госпитализации. Более высокие показатели шкалы Рэнкина при поступлении, более низкий показатель ШКГ при поступлении, АТИ и КЭИ подтипы ишемического инсульта, СД2 типа, сердечно-сосудистые заболевания, фибрилляция предсердий, ХОБЛ повышают риск госпитальной смертности.

Средние оценки шкал NIHSS, ШКГ, Рэнкина во время поступления, как признак тяжести инсульта, сравнивались для разных переменных, и в результатах (рисунки 20-27) сравниваются графики выживаемости для возрастной группы и типа инсульта.

Пожилые (≥ 70 лет) пациенты с атеротромботическим подтипом инсульта имели коэффициент риска госпитальной смертности, 0,93 (95% ДИ: 0,90-0,96)

по сравнению с пациентами с кардиоэмболическим инсультом 0,90 (95% ДИ: 0,85-0,94) и возрастом до 65 лет, после учета других факторов. Госпитальная смертность коррелирует с нарушением глотания (0,734**), коррелирует с NIHSS при поступлении (-,557**) и через 72 часа (-,552**) и шкалой Рэнкина (-0,506**)

В соответствии с результатами исследований, мы обнаружили, что смертность в стационаре у пациентов, перенесших инсульт, была связана с более старшим возрастом, тяжестью инсульта (NIHSS, ШКГ, Рэнкина), подтипом ишемического инсульта (кардиоэмболический, атеротромботический) и сопутствующими заболеваниями (ФП, ХОБЛ, СД2 типа, ХБП).

Анализ клинических проявлений в острейшем периоде ИИ в группе с летальным исходом показал, что усугубление неврологического статуса связано с размерами очага, в частности положительно коррелирует со шкалой Рэнкина (0,625*) и состоянием NIHSS при поступлении (0,531*), для АТИ со степенью снижения САД в первые 24 часа (0,580*), приводящее к повышению внутричерепного давления, которое в дальнейшем привело к отеку мозга, с прогрессирующим течением инсульта, а также рецидивирующей ишемией головного мозга и вторичным паренхиматозным кровоизлиянием

Анализ выживаемости показал, что среднее время выживаемости напрямую зависит от состояния пациента при поступлении.

Таблица 14 - Среднее время выживания в зависимости от подтипа ИИ

Управляющие элементы второго порядка (баллы)		Управляющие элементы первого порядка	Среднее время
NIHSS при поступлении	незначительный инсульт 1-4	Атеротромботический (АТТ)	90,00
		Кардиоэмболический (КЭ)	75,00
		Лакунарный (Л)	90,00
		неопределенного генеза	65,00
	умеренный 5-15	Атеротромботический (АТТ)	90,00
		Кардиоэмболический (КЭ)	90,00
		Лакунарный (Л)	85,00
		неопределенного генеза	80,00
	От умеренного до тяжелого 16-20	Атеротромботический (АТТ)	80,00
		Кардиоэмболический (КЭ)	90,00
		Лакунарный (Л)	75,00
	тяжелый инсульт 21-42	Атеротромботический (АТТ)	73,63
Кардиоэмболический (КЭ)		81,87	

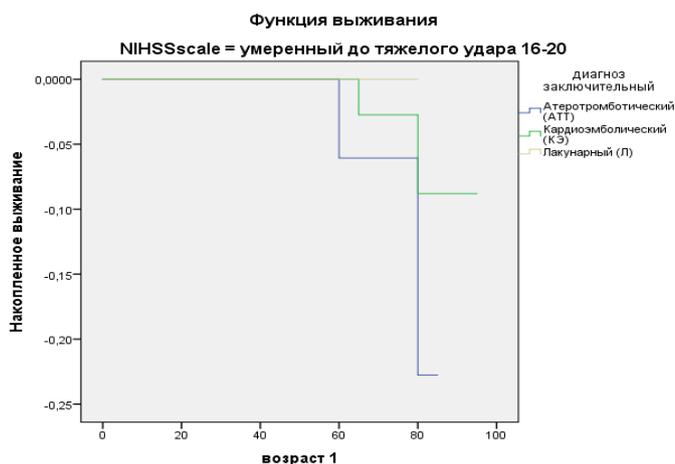


Рисунок 20 - Функция выживания при баллах шкалы NIHSS 16-20

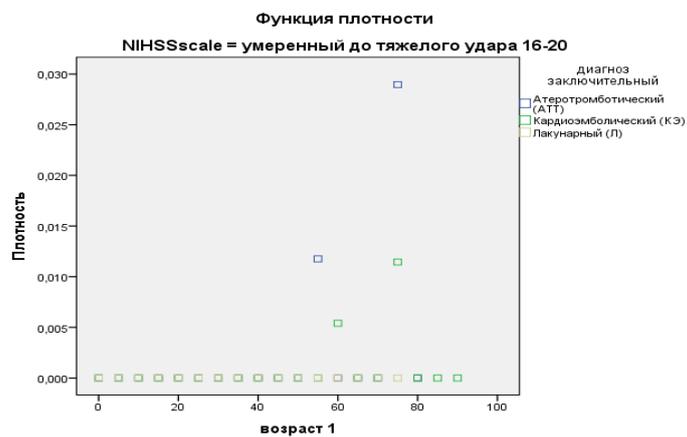


Рисунок 21 - Функция плотности смертности при баллах шкалы NIHSS 16-20

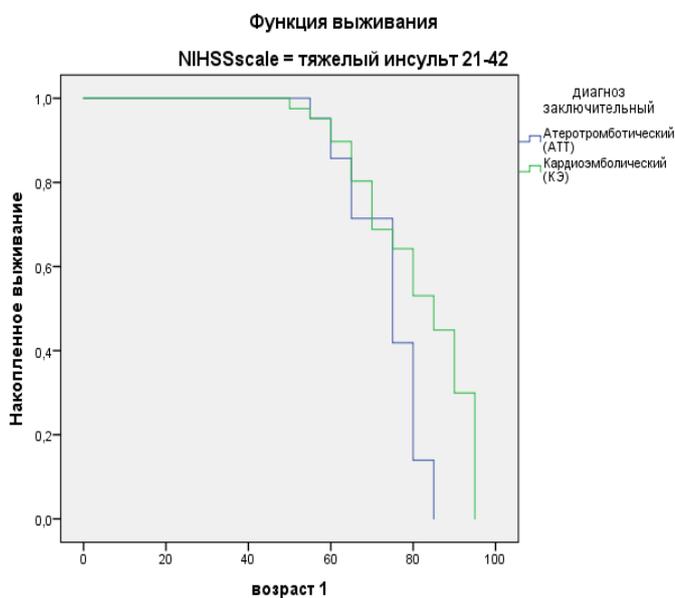


Рисунок 22 - Функция выживания при баллах шкалы NIHSS 21-42

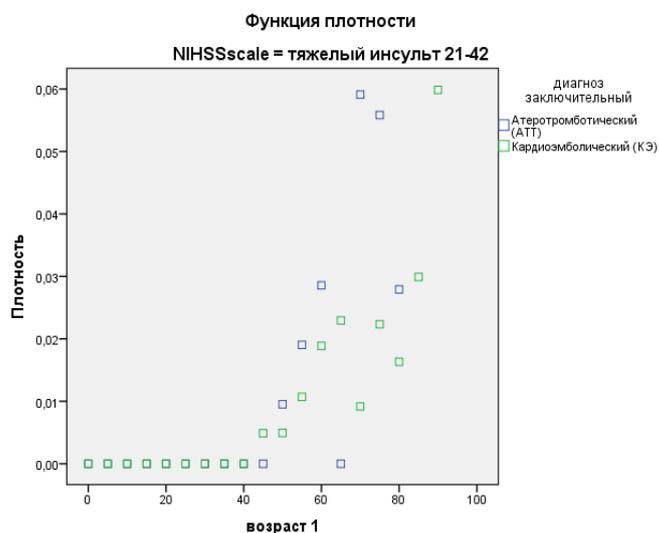


Рисунок 23 - Функция плотности смертности при баллах шкалы NIHSS 21-42

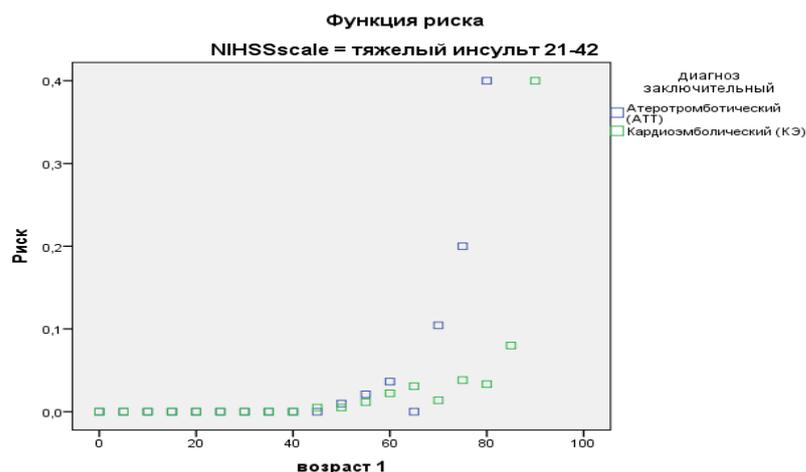


Рисунок 24 - Функция риска смерти при баллах шкалы NIHSS21-42

По Уилкоксоу значимость 0,531 для баллов шкалы NIHSS 16-20

3.2.2 Метод Каплан Майера

В медицинской практике одним из наиболее достоверных показателей является оценка результатов по показателям кумулятивной выживаемости.

Результаты статистических расчётов отражены в таблицах 13-15 и на рис.20-24. Анализ оценки результатов, включенных в таблице 16, показал, что по всем трём критериям Log Rank, Breslow и Tarone-Ware значение 2 (выжил) больше критического значения 13,497. Таким образом, в отдаленном периоде кумулятивная выживаемость пациентов в исследуемых группах с высокой степенью достоверности различалась между собой ($p > 0,003-0,004$).

Таблица 15 - Статистические критерии для таблиц выживаемости по Каплану-Мейеру: полные сравнения

выжил/умер		Хи-квадрат	ст.св.	Значимость
умер	Log Rank (Mantel-Cox)	,436	1	,509
	Breslow (Generalized Wilcoxon)	,000	1	,983
	Tarone-Ware	,074	1	,785
выжил	Log Rank (Mantel-Cox)	14,137	3	,003
	Breslow (Generalized Wilcoxon)	13,497	3	,004
	Tarone-Ware	14,177	3	,003

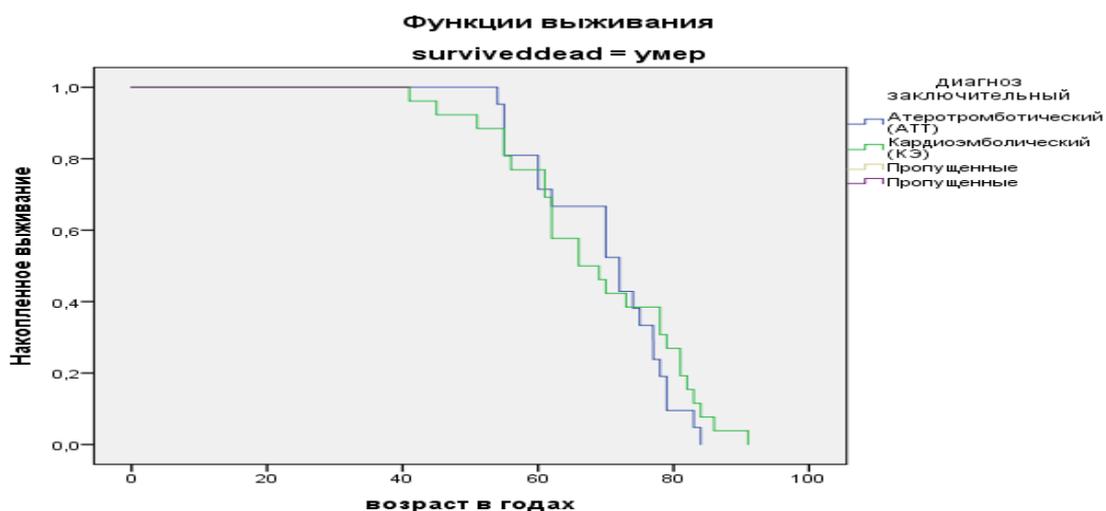


Рисунок 25 - Функция выживания по страте «умер» пациентов методом Каплан-Майера при ИИ в зависимости от диагноза.

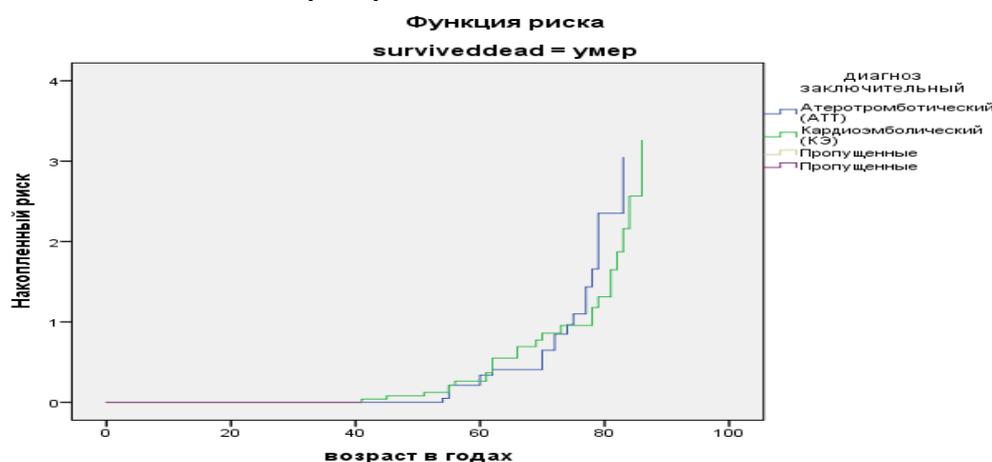


Рисунок 26 - Функция риска по Каплан-Майеру при ИИ в зависимости от патогенетического подтипа ИИ.

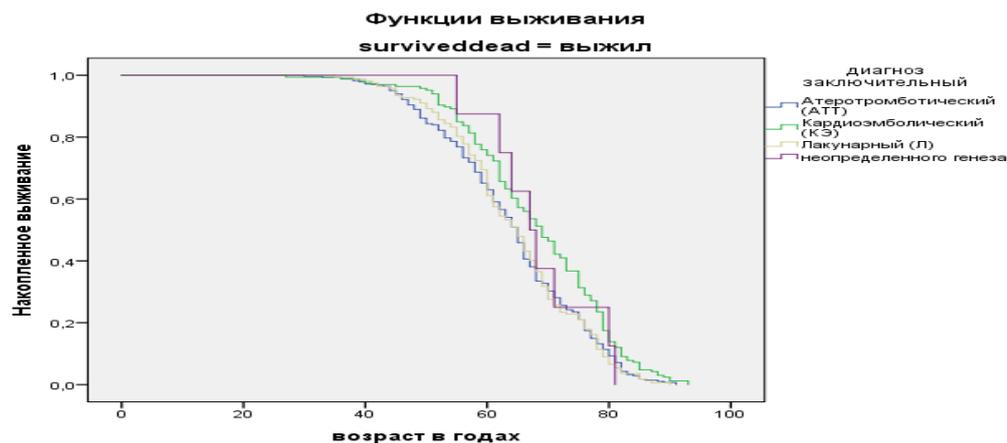


Рисунок 27 - Функция выживания по страте «выжил» по Каплан-Майеру при ИИ в зависимости от патогенетического подтипа ИИ.

Таблица 16 - Таблица дожития по Каплан-Мейеру в зависимости от патогенетического подтипа ИИ

Средние значения и медианы для времени выживания									
выжил /умер	Патогенетический подтип ИИ	Среднее ^а				Медиана			
		Оценка	ошибка стандарт.	95% ДИ		Оценка	ошибка стандарт.	95% ДИ	
				Нижняя гр.	Верхняя гр.			Нижняя гр.	Верхняя гр.
умер	Атеротромботический (АТТ)	69,571	2,143	65,371	73,772	72,000	4,536	63,110	80,890
	Кардиоэмболический (КЭ)	68,385	2,619	63,252	73,518	66,000	5,099	56,006	75,994
	Все	68,915	1,721	65,542	72,288	70,000	1,710	66,648	73,352
выжил	Атеротромботический (АТТ)	64,075	,712	62,679	65,470	65,000	,743	63,545	66,455
	Кардиоэмболический (КЭ)	68,235	,929	66,414	70,056	69,000	1,399	66,258	71,742
	Все	65,354	,474	64,425	66,282	65,000	,587	63,850	66,150
	Лакунарный (Л)	64,491	,862	62,801	66,181	65,000	1,345	62,364	67,636
	неопределенного генеза	68,500	3,111	62,402	74,598	67,000	2,828	61,456	72,544
Все	Все	65,604	,458	64,707	66,501	66,000	,593	64,837	67,163

а. Если выполняется цензурирование, оценка ограничена наибольшим временем выживания.

На рисунке 27 отражены четыре кривые кумулятивной выживаемости пациентов исследуемых групп, где вертикальными линиями обозначены интересующие врача при оценке выживаемости сроки – годы (от 0 до 100 лет). Кумулятивная выживаемость пациентов группы АТИ в эти периоды составила 83 года соответственно; что касается второй группы КЭИ, то кумулятивная выживаемость пациентов в этом случае составила соответственно 90 лет, пациенты после лакунарного ишемического инсульта - 80 лет, после ИИ неопределенного генеза - 81 год. Все кривые параллельны кроме лакунарного ИИ.

3.2.3 Многофакторная регрессионная модель риска Кокса

Для моделирования общей смертности в зависимости от возраста по достоверно значимым факторам риска у лиц с ИИ использовалась многофакторная регрессионная модель пропорционального риска Кокса ($df=11$; $2 \text{ Вальда}=773,049$; $p < 0,001$). Отброшены 7 наблюдений из 671, остаются 664 наблюдения. Перед многофакторным анализом проводился однофакторный. В него включались переменные, считаются значимыми при однофакторном анализе $< 0,001$. Многофакторный регрессионный анализ выполнялся пошаговым методом. Достоверными считали различия при значениях $p < 0,003$.

В качестве категориальных переменных использовались подпункты NIHSS при поступлении: незначительный инсульт 1-4 балла, умеренный инсульт - 5-15 баллов, умеренный до тяжелого удара 16-20 баллов, тяжелый инсульт 21-42 балла.

Таблица 17 - Кодирование по состоянию шкалы NIHSS при поступлении

Категориальное кодирование переменных					
		Частота	(1)	(2)	(3)
NIHSS при поступлении	1=незначительный удар 1-4	143	1	0	0
	2=умеренный ход 5-15	390	0	1	0
	3=умеренный до тяжелого удара 16-20	67	0	0	1
	4=тяжелый инсульт 21-42	60	0	0	0
a. Категориальная переменная: NIHSS при поступлении (NIHSSscale)					
b. Кодирование параметров индикаторов					

Результаты мультифакторного анализа по Коксу (таблица 18) выявили, статистическую значимость влияния на выживаемость после ИИ в многофакторной модели ($p=0,0175$) возраст 67 лет (значимость 0,000) и баллы по ШКГ (0,038).

Накопленный риск по страте умер 5,906 и пороговым считали анализ выживаемости при среднем из ковариат $=0,03$ в таблице дожития с возрастом 66 лет. Накопленный риск по страте выжил 5,470 и пороговым считали анализ выживаемости при среднем из ковариат $=0,04$ в таблице дожития с возрастом 67 лет.

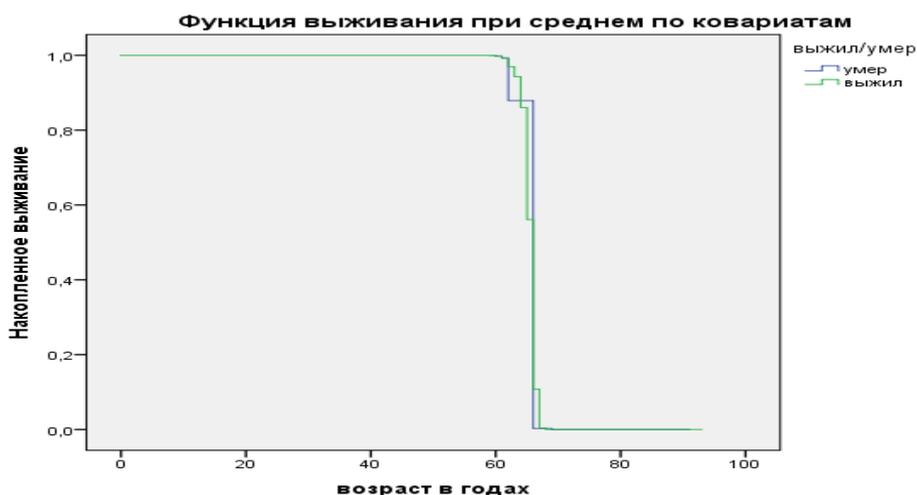


Рисунок 28 - Функция выживания по Коксу при среднем по ковариатам

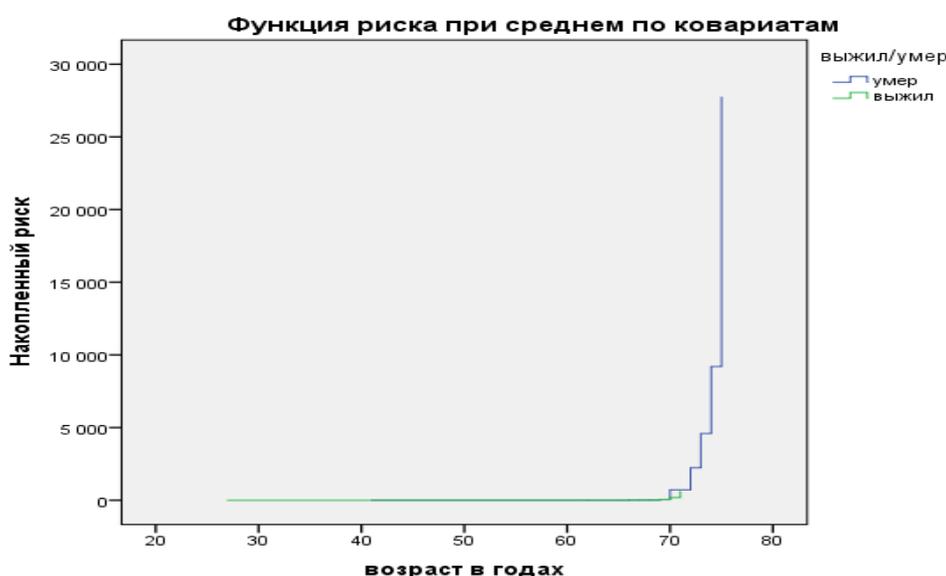


Рисунок 29 - Функция риска по Коксу при среднем по ковариатам

Таким образом, проведенные исследования позволили выяснить, что наиболее предпочтительным при анализе выживаемости при ИИ является метод Каплан Майера, позволяющий точно выяснить средние значения и медиану выживаемости с доверительными интервалами (ДИ) в зависимости от диагноза ИИ.

3.2.4 Прогнозирование с помощью машинного интеллекта, нейронные сети (НС), радиально-базисные функции

Последние годы применение искусственных интеллектуальных систем в медицине с помощью алгоритмов для автоматического обучения и генерирования нейронных сигналов сетевых архитектур имеют все большую распространенность во всем мире [5].

МакКаллок и Питтс (1943 г.) изобрели первые искусственные нейроны с использованием простых бинарных пороговых функций. Далее важной вехой стало то, что Фрэнк Розенблатт, психолог, разработал Перцептрон в 1958 году как практическую модель. Имеется много вариаций нейронных сетей, но

наиболее популярная модель была многослойной сетью, состоящей из слоев нейронов, как правило, нейронов входного слоя, одного или нескольких средних или скрытых слоев, и выходного слоя, связанных друг с другом. Нейроны соединены между собой ссылками, и каждая из них имеет численный вес, связанный с этим. Нейронная сеть «учится», многократно корректируя эти веса.

В данном контексте была предпринята попытка использовать нейронные сети для прогнозирования процента смертности для ишемического инсульта. Всего нейронов 23, из которых в скрытом слое 5 нейронов. В частности, по зависимым переменным была выявлена сильная связь показателей сердечно-сосудистой системы: САД, ДАД и функциональный исход инсульта пункта 6 шкалы Рэнкина со смертностью, что можно наблюдать на рисунке 23.

Таблица 18 - Сводный отчет по наблюдениям

		N	Проценты
Пример	Обучающее	465	69,9%
	Тестовое	200	30,1%
Валидные		665	100,0%
Исключено		6	
Всего		671	

Таблица 19 - Сводный отчет по наблюдениям

Входной слой	Факторы	1	диагноз заключительный
		2	NIHSS при поступлении
		3	глотание
		4	возраст
	Ковариаты	1	NIHSS 24 часа
		2	баллы по ШКГ
		3	NIHSS 72 часа
	Количество нейронов		19
	Метод изменения шкалы для ковариатов		Стандартизованные
	Скрытый слой	Количество нейронов	
Функция активации		Softmax	
Выходной слой	Зависимые переменные	1	САД
		2	ДАД
		3	выжил/умер
		4	шкала Рэнкина
	Количество нейронов		8
	Метод изменения шкалы для зависящих от шкалы элементов		Стандартизованные
	Функция активации		Тождество
	Функция ошибки		Сумма квадратов
<p>а. Определяемое по критерию контрольных данных: "Наилучшее" число скрытых единиц — это число, дающее наименьшую ошибку в контрольных данных.</p>			

Таблица 20 - Сводка для модели

Обучающе	Ошибка: сумма квадратов		493,528
	Средняя итоговая относительная ошибка		,769
	Процент неверных предсказаний для категориальных зависимых	выжил/умер	2,6%
		шкала Рэнкина	33,8%
	Относительная ошибка для зависимых от шкалы	САД	,665
		ДАД	,955
	Время обучения		0:00:03,05
Тестовое	Ошибка: сумма квадратов		201,729a
	Средняя итоговая относительная ошибка		,771
	Процент неверных предсказаний для категориальных зависимых	выжил/умер	3,0%
		шкала Рэнкина	34,0%
	Относительная ошибка для зависимых от шкалы	САД	,628
		ДАД	,909

а. Количество скрытых единиц определяется по критерию контрольных данных: "Наилучшее" число скрытых единиц — это число, дающее наименьшую ошибку

Таблица 21 - Классификация выжил/умер

Пример	Наблюденные	Предсказанные		
		умер	выжил	Процент правильных
Обучающее	умер	34	2	94,4%
	выжил	10	419	97,7%
	Общий процент	9,5%	90,5%	97,4%
Тестовое	умер	7	2	77,8%
	выжил	4	187	97,9%
	Общий процент	5,5%	94,5%	97,0%

Общий процент правильных	
Пример	Общий процент правильных
Обучающее	81,8%
Тестовое	81,5%

Таким образом машинный интеллект «нейронные сети» в обучающем примере показали **9,5%** смертности от общего числа пациентов с ишемическим инсультом различной этиологии с процентом правильных ответов **97,4%**, с выявлением влияния кардиальных компонентов на состояние пациентов после ИИ.

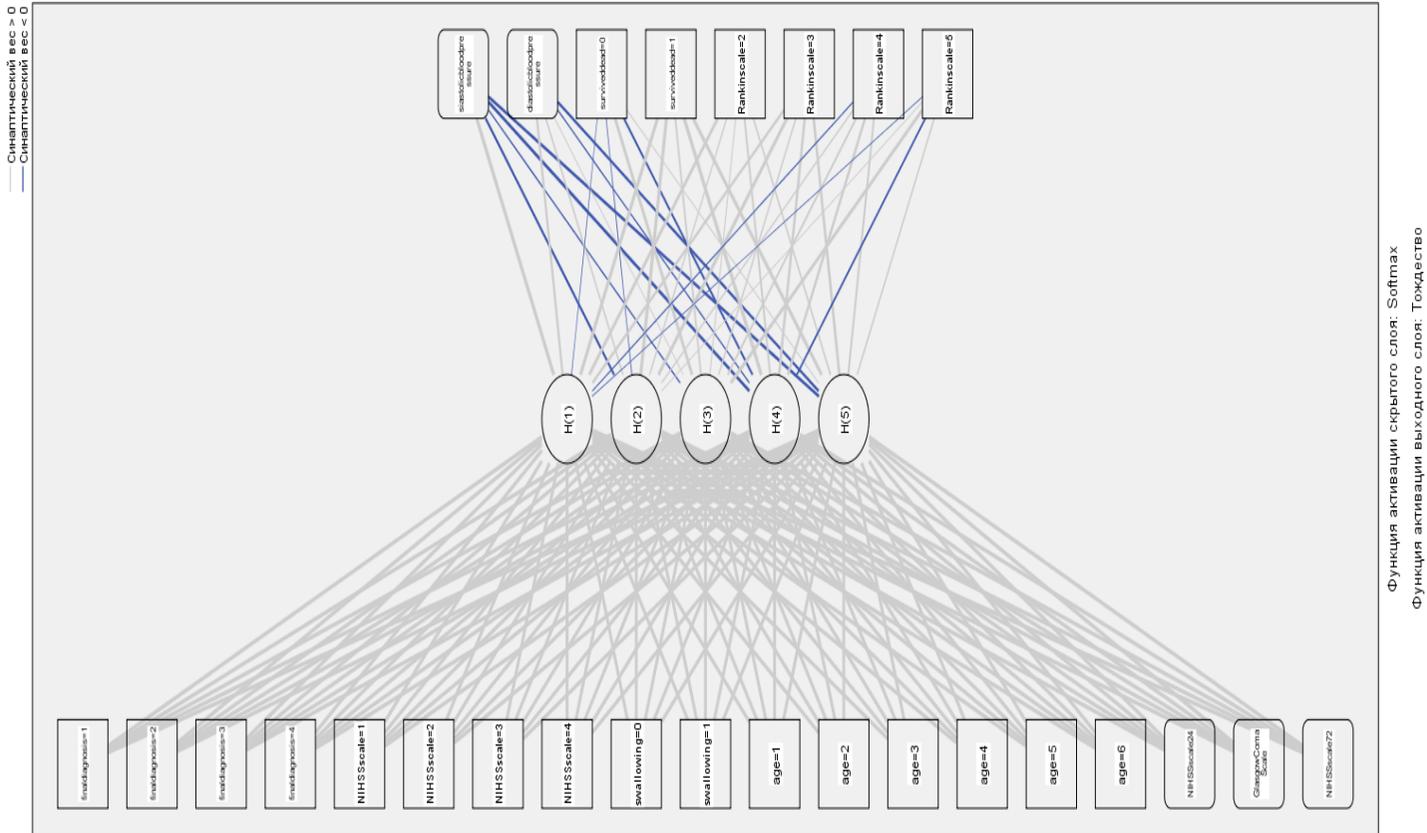


Рисунок 30 - Схематическое изображение нейронной сети по ИИ.(А) Искусственная нейронная сеть с пятью скрытыми слоями. Все узлы полностью связаны между слоями

Таблица 22 - Прогнозирование функционального исхода при инсульте (mRs) по шкале Рэнкина

Пример	Наблюденные	Предсказанные				
		легкое ограничение функций: ЖД: неспособен выполнять некоторые обязанности, но справляется со собственными делами	умеренное ограничение функций: потребность в некоторой помощи	выраженное ограничение функций: не справляется со своими физическими потребностями без посторонней помощи	грубое ограничение функций: прикован к постели, потребность в постоянной помощи медперсонала, сиделки, родственников	Процент правильных
Обучающее	легкое ограничение функций: неспособен выполнять некоторые обязанности, но справляется с собственными делами без помощи	66	34	0	2	64,7%
	умеренное ограничение функций: потребность в некоторой помощи	39	211	0	5	82,7%
	выраженное ограничение функций: не справляется со своими физическими потребностями без посторонней помощи	0	57	0	8	0,0%
	грубое ограничение: прикован к постели, потребность в постоянной помощи медперсонала, сиделки, родственников	0	12	0	31	72,1%
	Общий процент	22,6%	67,5%	0,0%	9,9%	66,2%
Гестовое	легкое ограничение функций: неспособен выполнять некоторые обязанности, но справляется с собственными делами	37	21	0	0	63,8%
	умеренное ограничение функций: потребность в некоторой помощи	14	88	0	2	84,6%
	выраженное ограничение функций: не справляется со своими физическими потребностями без посторонней помощи	1	27	0	2	0,0%
	грубое ограничение функций: прикован к постели, потребность в постоянной помощи медперсонала, сиделки, родственников	0	1	0	7	87,5%
	Общий процент	26,0%	68,5%	0,0%	5,5%	66,0%

3.2.5 Дискриминантный анализ

В данной работе вычислению логистической регрессии мы предпочли дискриминантный анализ, ввиду того что в данном случае нас интересовала категория умер/выжил, т.е одна статическая операция. Так в ней участвует одна зависимая и несколько независимых категориальных переменных со шкалой любого типа.

Таблица 23 - Анализ сводки обработки наблюдений

Невзвешенные наблюдения		N	Процент
Валидные		45	6,7
Исключено	Отсутствующие или выходящие за пределы диапазона коды групп	0	,0
	По крайней мере одна дискриминирующая переменная	4	,6
	И отсутствующие или выходящие за пределы диапазоны коды групп, и по крайней мере одна дискриминирующая переменная	0	,0
	Неотобранные	622	92,7
	Всего	626	93,3
Всего		671	100,0

Таблица 24 - Критерии равенства групповых средних

	Лямбда Уилкса	F	ст.св.1	ст.св.2	Значимость
NIHSS при поступлении	,932	3,116	1	43	,085
баллы по ШКГ	,988	,523	1	43	,473
возраст	,993	,284	1	43	,597
пол	,938	2,830	1	43	,100
шкала Рэнкина	,997	,133	1	43	,717

В критериях равенства групповых средних значимость 0,085 для NIHSS при поступлении и для пола 0,1 (Лямбда-Уилкса =0.836, Хи квадрат 7,249). Функция возраста в таблице коэффициентов стандартизованной канонической дискриминантной функции =0,091.

Нами были найдены коэффициенты стандартизованной канонической дискриминантной функции по признакам, всего рассматриваются 2 выборки ($k = 2$), выделены только две канонические переменные ($n = k - 1$): пол и NIHSS в матрице структуры.

Можно сказать, что нестандартизованные канонические дискриминантные функции, вычисленные в групповых средних скоррелированы с рассматриваемыми выборками атеротромботический инсульт (АТИ) с

коэффициентом 0.484. Аналогичная каноническая связь для второй закономерности межгрупповой вариации имеет коэффициент корреляции -0.387. Применение критерия М-Бокса предназначен для проверки однородности матриц дисперсий/ковариаций, и чувствителен к отклонению от многомерной нормальности ($p = 0.003 < 0,05$).

Таблица 25 - Коэффициенты функции классификации

	Патогенетический подтип ИИ	
	Атеротромботический (АТТ)	Кардиоэмболический (КЭ)
NIHSS при поступлении	11,703	10,930
баллы по ШКГ	9,381	9,969
возраст	,831	,765
пол	-4,566	-5,956
шкала Рэнкина (Константа)	15,582	16,700
	-60,915	-61,265
Линейные дискриминантные функции Фишера		

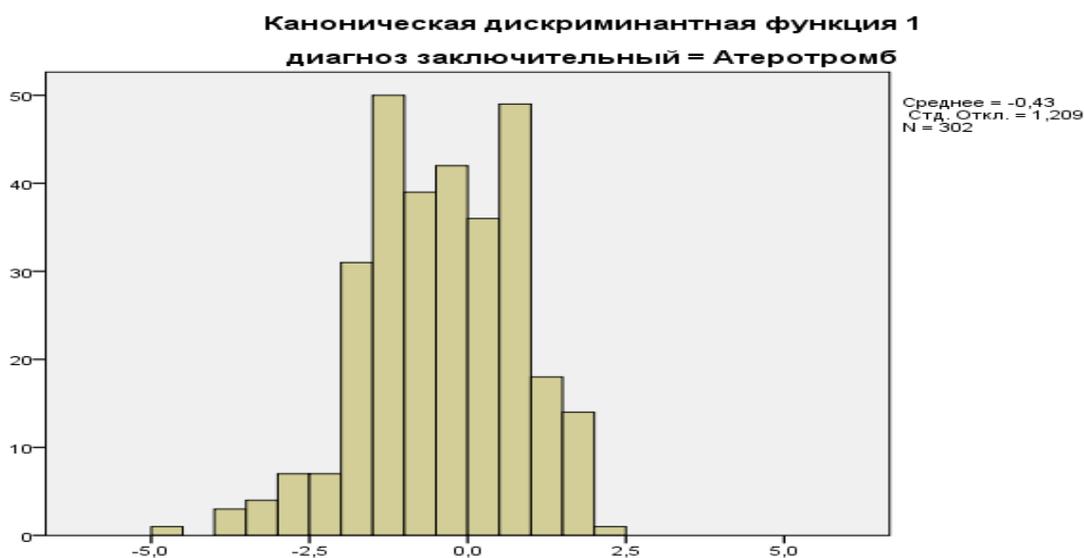


Рисунок 31 - Дискриминантный анализ для АТИ

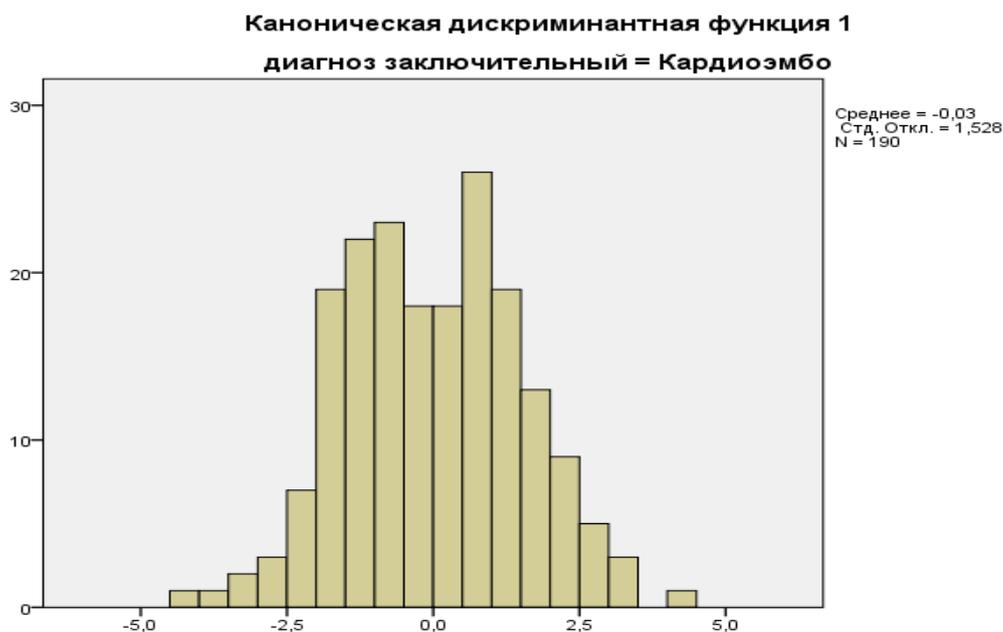


Рисунок 32 - Дискриминантный анализ для КЭИ

В результате проведения дискриминантного анализа двух канонических параметров ишемического инсульта пациентов с различной этиологией выявлено превалирование смертности у пациентов с кардиоэмболической ИИ. Процент смертности при дискриминантном анализе составляет 6,7%. Дискриминантный анализ позволил выявить неоднородность полученных данных для групп умер/выжил при ишемическом инсульте с разным патогенетическим подтипом ИИ.

Непараметрические критерии выявили однозначную зависимость критерия глотание с медианой дата выписки/смерти, в данном случае нулевая гипотеза отклоняется. Для прогнозирования неблагоприятного течения ИИ могут быть использованы данные методы анализа.

3.3 Молекулярно-генетическое исследование

В последние годы интенсивно изучаются молекулярно-генетических факторы вызывающие различные заболевания, в том числе ишемический инсульт. Этот подход является основой выявления кандидатных генов заболевания и разработки таргетной терапии. Как правило, на начальных стадиях большинства заболеваний нарушается экспрессия одного или нескольких генов и далее число генов, вовлеченных в развитие патологии, увеличивается. Поэтому ранняя диагностика заболеваний является важным условием успешной терапии. К сожалению, большинство заболеваний на начальных стадиях протекают без выраженных отклонений функций организма и первичные признаки болезни можно выявить только с помощью молекулярно-генетических факторов.

В настоящем разделе приведены результаты определения характеристик взаимодействия миРНК с мРНК кандидатных генов инсульта с учетом уровня экспрессии генов и выявления наиболее эффективных ассоциаций миРНК и их генов мишеней при инсульте. Нами отобраны из литературных источников 134

кандидатных гена, которые ответственны за инсульт. Изучены характеристики связывания известных 6266 миРНК с мРНК этих генов с целью выявить ассоциации миРНК и генов для разработки методов диагностики этого заболевания. Большинство из 134 генов, участвующих в развитии инсульта, служили мишенями для миРНК.

3.3.1 Характеристики взаимодействия miRNA с mRNA ZFHX3 кандидата гена инсульта

Экспрессия многих генов изменялась при инсульте, и они рассматриваются как гены-кандидаты, определяющие различные типы инсульта [244; 297; 245; 246). К ним относятся ген *ZFHX3*, который кодирует транскрипционный фактор, участвующий в регуляции экспрессии многих генов. Нарушение экспрессии гена *ZFHX3* было выявлено при инсульте, атеросклерозе и других сердечно-сосудистых заболеваниях (257; 258; 259; 298). Белок *ZFHX3*, являющийся фактором транскрипции, может проявлять свою функцию различными способами и быть причиной различных типов инсульта. Ген содержит тринуклеотидные повторы, которые могут участвовать в выражении его функции (296). Показано, что изменения в экспрессии гена *ZFHX3* и других потенциальных генов инсульта наряду с изменением уровня миРНК (299; 300; 301; 302).

Ген транскрипционного фактора *ZFHX3* относится к числу кандидатных генов, участвующих в развитии инсульта. В белке *ZFHX3* имеются олигопептиды, кодируемые повторами тринуклеотидов (ПТН). ПТН считаются одной из причин заболеваний, в том числе и инсульта, однако их биологическая функция не установлена. Мы предполагаем, что ПТН являются сайтами связывания миРНК с мРНК и участвуют в регуляции экспрессии гена *ZFHX3*. Характеристики взаимодействия миРНК с мРНК находили по программе MirTarget. Показано, что первый ПТН в мРНК гена *ZFHX3* человека состоит из семи последовательно расположенных сайтов связывания miR-12-32603-3p, кодирующих полиGlu. В белке *ZFHX3* человека полиGlu содержит 30 Glu. В ортологичных белках 36 видов животных длина полиGlu изменялась от 27 Glu до 33 Glu. Отрицательно заряженный полиGlu транскрипционного фактора *ZFHX3* вероятно взаимодействует с положительно заряженными белками, связанными с ДНК. Следующий участок мРНК гена *ZFHX3* содержит сайты связывания miR-17-39416-3p, miR-5-15733-3p, miR-9-20317-3p, которые кодируют полиAla длиной 15 Ala. В 33 ортологичных белках *ZFHX3* полиAla имел одинаковую длину. Участок миРНК гена *ZFHX3* человека с полисайтом связывания miR-1322-3p кодирует полиGln, состоящий из 19 Gln. В 41 ортологах белка *ZFHX3* длина полиGln изменялась от семиGln до 23 Gln. Сайты связывания miR-2-6184-3p, miR-5-14114-5p и miR-19-43437-5p расположены с наложением нуклеотидных последовательностей, и кодируют полиPro. В *ZFHX3* человека полиPro состоял из 12 Pro. У ортологов он содержал от 10 Pro до 14 Pro. Сайты связывания miR-17-39416-3p, miR-9-20317-3p, miR-1-1819-3p, miR-5-15733-3p, miR-6-17815-3p, miR-18-39953-5p, miR-2-6862-5p, miR-1260b и miR-X-48174-3p кодировали у *ZFHX3* человека полиGly длиной 22 Gly. В 28 ортологах *ZFHX3* длина полиGly

уменьшалась до 11 Gly. Участки ПТН могут одновременно связывать несколько миРНК, что увеличивает зависимость экспрессии генов от миРНК. Олигопептиды, кодируемые полисайтами связывания миРНК в мРНК, в ортологичных белках ZFHХ3 фланкированы консервативными олигопептидами.

миРНК являются эффективными регуляторами экспрессии генов, поэтому требуется установить, какие миРНК могут регулировать экспрессию гена ZFHХ3. Взаимодействие миРНК с мРНК определяется физико-химическими свойствами этих молекул. К сожалению, при изучении этого взаимодействия во многих статьях было сделано лишь несколько обоснованных предположений, которые привели к значительным ошибкам в определении сайтов связывания миРНК в мРНК и интерпретации полученных результатов. Существующие программы для обнаружения сайтов связывания миРНК в мРНК генов-мишеней, к сожалению, предсказывают многие ложно положительные сайты. миРНК являются эффективными регуляторами экспрессии генов, поэтому требуется установить, какие миРНКs могут регулировать экспрессию гена ZFHХ3. Взаимодействие миРНК с мРНК определяется физико-химическими свойствами этих молекул. К сожалению, при изучении этого взаимодействия во многих статьях было сделано лишь несколько обоснованных предположений, которые сводятся к многим ошибкам в определении сайтов связывания миРНК в мРНК и интерпретации результатов. То есть, используемые программы для нахождения сайтов связывания миРНК в мРНК генов-мишеней, предсказывают много ложноположительных сайтов.

Сайты связывания миРНК в мРНК гена ZFHХ3 обнаруживаются в 5'UTR, CDS, 3'UTR, и подавляющее большинство сайтов связывания миРНК находятся в CDS. В таблице 27 представлены данные характеристик взаимодействия миРНК с мРНК гена ZFHХ3 человека. Некоторые миРНКs имели единственный сайт связывания в мРНК, который был расположен отдельно от сайта связывания той же самой миРНК или вместе с сайтами связывания других миРНК. Некоторые миРНКs имели два или более последовательных сайтов связывания, перекрывающихся с их нуклеотидными последовательностями, которые мы назвали полизитами. Когда полизиты расположены в CDS, они кодируют последовательность одной аминокислоты, например, polyQ, polyG, polyE и т. д. Если сайты связывания двух или более разных миРНКs расположены с перекрывающимися нуклеотидными последовательностями, этот сайт мРНК называется несколькими сайтами. В мРНК гена ZFHХ3 имеются сайты, содержащие полисайты и множественные сайты.

Таблица 26 - Характеристики взаимодействия миРНК в CDS мРНК гена ZFHХ3

миРНК	Начало сайта, нт	ΔG , кДж/моль	$\Delta G/\Delta G_m$, %	Длина, нт
miR-2-8257-5p	969	-125	88	23
miR-20-23817-3p	1810	-132	86	24
miR-12-32603-3p	2062÷2113(7)	-108 ÷ -115	86÷92	23

miR-6891-3p	2120	-106	93	21
miR-17-39416-3p	2978-2996(4)	-115	87	22
miR-1-1819-3p	2982	-121	88	23
miR-5-15733-3p	2986-3004 (3)	-127 ÷ -129	86-87	24
miR-9-20317-3p	2986-3001 (4)	-127 ÷ -129	86-87	24
miR-1322	5836-5858 (7)	-85	83	19
miR-11-29856-3p	6025	-110	93	23
miR-2-6184-3p	6793-6794 (2)	-110 ÷ -117	85-90	23
miR-5-14114-5p	6793-6802 (3)	-119÷-123	86-89	23
miR-19-43437-5p	6798	-110	87	23
miR-3692-5p	8410	-119	90	24
miR-1322	10262-10271 (4)	-87 ÷ -91	85-90	19
miR-9-25681-5p	10261-10264 (2)	-100 ÷ -102	85-87	21
miR-1322	10798-10823 (4)	-83 ÷ -87	81-85	19
miR-671-5p	10874	-119	90	23
miR-6779-5p	10868	-113	93	21
miR-17-39416-3p	11193-11232 (12)	-113 ÷ -121	85-92	22
miR-9-20317-3p	11201-11234 (9)	-127 ÷ -136	87-91	24
miR-1260b	11201- 11228(6)	-89 - -93	86 -90	19
miR-X-48174-3p	11207- 11216(2)	-121	85	24
miR-1-1819-3p	11211-11229 (2)	-119	86	23
miR-18-39953-5p	11212-11230 (3)	-123	86	23
miR-6-17815-3p	11214	-127	86	24
miR-2-6862-5p	11218	-118	86	23
miR-5-15733-3p	11234-11240 (2)	-127 ÷ -129	86-87	24
miR-3960	11461-11483 (5)	-102 ÷ -113	81-90	20
miR-5-14114-5p	11461	-121	88	23
miR-19-21199-3p	11462-11468 (2)	-134 ÷ -138	85-88	25
mir-1-2121-3p	11463	-142	91	25
miR-1-2770-3p	11463	-123	87	24
miR-19-33623-3p	11463	-136	91	24

miR-2-6184-3p	11481	-113	87	23
Примечание. В скобках указано число сайтов связывания.				

Ни одна из известных программ поиска сайта связывания миРНК не обнаруживает таких сайтов. Каждый из сайтов, включенных в несколько сайтов связывания миРНК, может иметь одинаковые характеристики взаимодействия миРНК с мРНК [282]. Однако существуют полисайты и множественные сайты связывания миРНК, среди которых имеется сайт связывания с более высокими характеристиками взаимодействия миРНК с мРНК. Это приводит к более длительному времени пребывания комплекса RISC в этом сайте связывания. Остальные сайты увеличивают вероятность связывания комплекса RISC. С большим количеством сайтов связывания в полисайтах и нескольких сайтах мРНК может связываться два или более комплекса RISC, включая миРНК. Идентификация всех миРНКs, которые связываются с мРНК гена *ZFHX3*, необходима для оценки их влияния на экспрессию гена *ZFHX3* и определения зависимости его экспрессии от экспрессии других генов, которые являются хозяйскими для этих миРНК.

Упрощенное понимание взаимосвязи между миРНК и геном-мишеней широко распространено и считается, что если установлено связывание миРНК с мРНК гена, проблема считается решенной. Однако для этой миРНК могут быть другие гены-мишени с более сильным взаимодействием. Или мРНК одного гена может взаимодействовать с несколькими миРНК. Поэтому необходимо, по крайней мере, знать, какие миРНК могут связываться с мРНК других генов человека. Эта задача разрешима с помощью нашей программы, которая предсказывает сайты связывания миРНК с мРНК и определяет количественные характеристики этого взаимодействия.

В белок-кодирующей области мРНК гена *ZFHX3* сайт связывания miR-2-8257-5p расположен первым и кодирует октапептид PSARPPPP. Этот сайт связывания присутствует в ортологах мРНК гена *ZFHX3* и кодирует идентичный пептид или он отличается одной или несколькими аминокислотами. Пептид QTYMENHC перед ним и пептид LREESASD после него сохраняются в белке *ZFHX3* 22 видов животных, в том числе мыши и крысы [стат]. Нами изучена консервативность сайтов связывания миРНК в мРНК ортологичных генов чтобы доказать существование этих связей на протяжении многих миллионов лет, то есть показать высокую достоверность установленных у человека ассоциаций миРНК с мРНК.

Сайт связывания miR-20-23817-3p находился в начале последовательности нуклеотидов мРНК и кодировал октапептид PAGSAAGP в ортологичных белках из 20 видов животных [стат]. В ортологичных белках других видов животных сайты связывания miR-20-23817-3p включали нуклеотидные замены и кодировали октапептиды, отличающиеся от PAGSAAGP. Однако характеристики взаимодействия miR-20-23817-3p с мРНК гена *ZFHX3* этих видов были сопоставимы с характеристиками для первой группы животных, что указывает на функциональную способность miR-20-23817 регулировать экспрессию гена

ZFHX3 в этих видах животных. Примечательно, что олигопептиды MEGEEAL и EQPQAGLL, прилегающие к олигопептиду, кодируемому сайтами связывания miR-20-23817-3p, были абсолютно сохранены в белке *ZFHX3* изученных видов животных [стат].

Для miR-12-32603-3p в мРНК гена *ZFHX3* (таблица 26) были идентифицированы семь сайтов связывания, которые кодируют polyGlu, заменяя два положения Glu на Ala [310]. Наличие в мРНК полисайта для сайта связывания миРНК способствует образованию комплекса RISC и дальнейшему его связыванию в положении с максимальной свободной энергией взаимодействий миРНК с мРНК. Сайт для связывания miR-12-32603-3p расположен с 2080 нт, для которых значения ΔG и $\Delta G/\Delta G_m$ максимальны: -115 кДж/моль и 92%, соответственно. Сайт связывания miR-6891-3p кодирует гексапептид EEEEEDE. Следует отметить, что в 2D-структуре кодирующих полиGlu нет внутримолекулярного взаимодействия нуклеотидов, и вся нуклеотидная последовательность полисайта способна связывать несколько комплексов RISC.

Область мРНК, прилегающая к миРНК-связывающим полисайтам из 3'-конца кодированного олигопептида D(E)EGCKGLF, и область из 5'-конца кодируемого олигопептида FSEKA(V)EPA [310]. Сайты связывания miR-12-32603-3p кодируют от 27 до 33 аминокислот в ортологичных белках *ZFHX3*. Функциональная роль полиGlu в белке *ZFHX3* не была описана в литературе. Возможно, что гидрофильный полиGlu придает высокую растворимость транскрипционному фактору *ZFHX3* и обеспечивает его взаимодействие с положительно заряженными ДНК-связывающими белками, высвобождая ДНК для транскрипции. Это означает, что область сайтов связывания miR-12-32603-3p выполняет две функции: а) она обеспечивает подавление синтеза транскрипционного фактора *ZFHX3* и, как следствие, блокирует экспрессию *ZFHX3*-зависимых генов, б) без или с меньшей концентрацией миРНК, по сравнению с концентрацией мРНК гена *ZFHX3*, полисайт кодирует полиGlu обязательный для функционирования фактора транскрипции.

Следующая область гена мРНК, содержащая сайты связывания miR-17-39416-3p, miR-5-15733-3p, miR-9-20317-3p, находится от 2978 до 3027 нт (таблица 2). От 5'-конца до множественных сайтов связывания примыкает сайт области мРНК, кодирующий абсолютно консервативный октапептид GGEQVFSH [стат]. Из 3'-конца сайтов связывания кодировался менее гомологичный олигопептид. Сайты связывания miR-17-39416-3p кодируют олигопептиды TAGAAAAA, GAAAAAVA, AAAAVAAA и AAVAAAAA. Сайты связывания miR-5-15733-3p кодируют оксапептиды AAAAAVAA, AAAVAAAA и AAAAAAAN. Сайты связывания miR-9-20317-3p кодируют AAAAAVAA, AAAVAAA, AVAAAAA и VAAAAAAA олигопептиды. Таким образом, область мРНК гена *ZFHX3* с перекрывающимся полисайтом является компактной мишенью для трех миРНК, которые конкурируют друг с другом за сайт связывания. Наибольшее значение свободной энергии связи ($\Delta G = -129$ кДж/моль) было для miR-5-15733-3p и miR-9-20317-3p, что говорит о значительном влиянии на трансляцию мРНК гена *ZFHX3*. Области белка *ZFHX3*, кодируемые сайтами связывания изученных миРНК, были

идентичны у мыши и крысы и немного отличались от таковых у человека [310]. Функциональная роль polyAla в белке ZFHХ3 остается неизвестной,

Другая область мРНК с связывающим полисайтом miR-1322 кодирует полиGln [310]. Первый сайт связывания кодирует гексапептид RQQQQQ. У людей полиGln состоял из 19 Gln, а у крыс и мышей - 14 и 13 Gln соответственно, что может влиять на степень экспрессии функции polyGln. Сайты связывания miR-1322 в мРНК гена ZFHХ3 всех изученных видов животных были расположены между нуклеотидными последовательностями, кодирующими консервативные олигопептиды LADMIAS (из 5'-конца) и AQTЛАQAQ (с 3'-конца). Функция полиGln неизвестна. Мы предполагаем, что полисайт служит для связывания с miR-1322, а кодируемый полиGln фактора транскрипции ZFHХ3 может взаимодействовать с отрицательно заряженными областями ДНК-связывающих белков. Предполагается, что полиGln белка ZFHХ3 связан с развитием нескольких заболеваний, но как это происходит, неизвестно (257; 258; 259; 298).

Сайт связывания miR-11-29856-3p кодировал абсолютно консервативный гептапептид TETLLQL, представленный в белке 55 видов животных [стат]. Абсолютно консервативный гептапептид LLPHFPMТ примыкает к N-концу гептапептида в вариабельной области белка ZFHХ3, примыкающего к С-концу. Сохранение сайта связывания miR-11-29856-3p предполагает важную роль этой миРНК в регулировании экспрессии гена ZFHХ3 даже на ранних стадиях эволюции животных, поскольку его сайт связывания присутствует у лягушки [стат].

Множественные сайты связывания miR-2-6184-3p, miR-5-14114-5p и miR-19-43437-5p, которые для равной длины кодируют гептапептид PPPPPP [стат]. 5'-конец участка сайтов связывания кодировал абсолютно консервативный октапептид PLRPQTPE, а октапептид LPAAPPQP был расположен на 3'-конце. В качестве маркеров для инсульта можно предложить ассоциацию miR-5-14114-5p и miR-2-6184-3p с целевым геном ZFHХ3, который имеет сайты связывания с величиной ΔG равной -123 кДж/моль и -117 кДж/моль соответственно. Функциональное значение polyPro неизвестно[стат].

Абсолютная консервативность октапептида SNPLLASQ, кодируемого сайтом связывания miR-3692-5p в мРНК гена ZFHХ3 выявлена у 57 видов животных [стат]. 5'-конец сайта связывания кодировал абсолютно консервативный октапептид PLRPQTPE. С 3'-конца октапептида SNPLLASQ был расположен октапептид LLSGAIPQ высоко и консервативный у большинства видов животных. При высокой энергии связи $\Delta G = -119$ кДж/моль и величине $\Delta G/\Delta G_m$ равной 90% ассоциация miR-3692-5p с целевым геном ZFHХ3 может служить маркером для инсульта. miR-3692-5p совместно экспрессируется с геном транскрипционного фактора ZDHHC14, который экспрессируется во многих тканях и обладает способностью онкорепрессора (Yeste-Velasco et al., 2014).

Показана изменчивость аминокислот, кодируемых сайтами связывания девяти миРНКs в мРНК ортологичных генов ZFHХ3[стат]. Область мРНК от 11193 нт до 11264 нт с перекрытием нуклеотидных последовательностей девяти

сайтов связывания миРНК кодирует полиGly. Сайты связывания miR-17-39416-3p кодировали семь октапептидов GGGGGGGG. Связывающие участки в позициях 11223 нт и 11232 нт имели наибольшую свободную энергию связи ΔG , равную -121 кДж/моль, и значение $\Delta G/\Delta G_m$ равное 92%.

Два сайта связывания miR-1-1819-3p и один сайт связывания miR-6-17815-3p кодировали GGGGGGGG. miR-18-39953-5p и miR-2-6862-5p сайты связывания кодируются одним из гептапептидов GGGGGGGG. miR-1260b имеет шесть сайтов связывания, которые кодируют гексапептид GGSGGG и пять гексапептидов GGGGGG. miR-5-15733-3p связывающие сайты кодируют GGGGGGGS и GGGGGSYH. Два сайта связывания miR-X-48174-3p кодировали олигопептиды GSGGGGGG и GGGGGGGG.

Было показано, что сайт связывания miR-9-20317-3p кодирует олигопептид ААААААА [стат]. В области мРНК от 11193 нт до 11264 нт. Сайт связывания miR-9-20317-3p кодировал олигопептид GGGGGGGG [стат]. Предположение о том, что одна нуклеотидная последовательность связывающих полисайтов может кодировать олигопептид в трех рамках считывания, подтверждается в исследовании связывания miR-1322-3p с мРНК из 48 генов человека, которая показывает кодирование miR-1322-3p сайты связывания полиQ, полиS и полиA (Ниязова и др., 2015).

От 11461 нт до 11503 нт у семи миРНК были от одного до трех сайтов связывания мРНК (табл. 27). Показана изменчивость аминокислот, кодируемых сайтами связывания этих миРНК. Два связывающих сайта miR-19-21199-3p кодировали нонапептиды PPPPSAAAP и PPSAAAPSS. miR-1-2121-3p и miR-19-33623-3p связывающие сайты кодировали тот же самый нонапептид PPPPSAAAP. Один сайт связывания miR-5-14114-5p кодировал октапептид PPPPSAAA. miR-1-2770-3p и miR-2-6184-3p связывающие сайты, кодированные октапептидом PPPPSAAA и AAPSSASP. Сайты связывания семи миРНК в мРНК гена *ZFHX3* крысы и мыши не отличались от таковых у человека; только кодон для Ala преобразовывался в Ser-кодон, что мало влияло на энергию взаимодействия миРНК с мРНК в этой области. То есть крыса и мышь могут быть адекватными моделями для изучения влияния этих миРНК на экспрессию гена *ZFHX3* [стат].

В области от 10798 нт до 10890 нт в мРНК гена человека были обнаружены три связывающих участка miR-1322-3p, разделенных кодонами трипептида RQL и дипептида KV [стат]. В мРНК гена *ZFHX3* других видов животных эти сайты связывания miR-1322-3p значительно различались по числу кодонов и по числу закодированных Gln соответственно. Например, в мРНК гена *ZFHX3* у крыс первый полисайт кодировал 15 Gln, второй полисайт кодировал восемь Gln и третий полисайт - снова 15 Gln [стат]. Следовательно, крыса не может быть адекватной моделью для изучения заболеваний, в которых полиглин участвует в белке *ZFHX3*. Самый длинный полипептид 33 Gln кодировался вторым сайтом связывания в мРНК *ZFHX3* Pma. Сайты связывания miR-6779-5p и miR-671-5p, расположенные в мРНК гена *ZFHX3* человека, перекрываются с нуклеотидными последовательностями, кодирующими олигопептиды QTPVPP и PVPPGAR, соответственно. Замена Pro на Ser, Gln, Thr или Ala у разных видов животных

является отражением изменений в одном нуклеотиде в сайте связывания. Однако энергия взаимодействия miR-6779-5p и miR-671-5p с мРНК гена *ZFNХ3* изменяется незначительно. Олигопептиды QQPКAS и SPDКDPAK очень консервативны в 26 объектах [стат]. Вероятно, они выполняют важную функцию в белке *ZFNХ3*.

Ген транскрипционного фактора *ZFNХ3* уникален по нескольким причинам. мРНК гена содержит сайты связывания для 26 миРНК, то есть его экспрессия зависит от нескольких генов хозяина, которые совместно экспрессируются с их миРНК или зависят от экспрессии генов миРНК, которые расположены между белок-кодирующими генами. Для некоторых миРНК в мРНК существуют полисайты, кодирующие олигопептиды: полиGlu, полиAla, полиPro, полиGly, полиGln. мРНК содержит несколько областей, которые включают множественные сайты связывания для нескольких миРНК с перекрывающимися нуклеотидными последовательностями. Все изученные сайты связывания расположены в кодирующей белок области, что позволяет предполагать функцию кодированных олигопептидов. Изменения частоты использования кодонов и их расположение в сайтах связывания, кодирующих олигопептиды, не демонстрирует влияния на энергию взаимодействия миРНК с мРНК гена *ZFNХ3*. Для трех миРНК существует два гомологичных сайта, разделенных 8215 н., содержащих сайты связывания миРНК. Показано что сайты связывания миРНК «безразличны» к тому, что они кодируют. В некоторых случаях кодированные олигопептиды могут выполнять необходимую функцию для белка *ZFNХ3*. Например, полиЕ олигопептид может взаимодействовать с положительно заряженными ДНК-связывающими белками.

Выбор ассоциаций миРНК и мРНК как маркера заболевания основан на условиях: 1) высокой энергии связи миРНК с мРНК; 2) высокое значение $\Delta G/\Delta G_m$; 3) наличие множественных сайтов связывания в мРНК для миРНК; 4) степень консерватизма сайтов связывания миРНК в мРНК ортологичных генов. Исходя из этого, предлагается использовать ассоциации miR-20-23817, miR-9-20317-3p, miR-19-21199-3p, miR-19-33623-3p и mir-1-2121-3p с мРНК *ZFNХ3*, которые могут служить маркерами для диагностики инсульта и других заболеваний, для которых ген *ZFNХ3* является геном-кандидатом, вызывающим их развитие. Эти миРНК были связаны с мРНК гена со значением свободной энергии ΔG , равным -130 кДж/моль и более. В экспериментах, при установлении роли миРНК в регуляции экспрессии генов, следующие обстоятельства должны быть приняты во внимание: миРНКs в комплексе с RISC связываются с мРНК и проявляют себя как ингибиторы трансляции, поэтому применимо описание их действия, используемого в биохимии. Взаимодействие миРНК с мРНК определяется физико-химическими свойствами этих молекул. К сожалению, при изучении этого взаимодействия во многих публикациях были сделаны мало обоснованные предположения, которые привели к значительным ошибкам в определении сайтов связывания миРНК с мРНК и интерпретации полученных результатов. Для повышения надежности предсказанных сайтов связывания мы изучали ортологичные гены разных видов животных [310].

мРНК гена *ZFH3* содержит сайты связывания для 26 миРНК, что указывает на сильную зависимость экспрессии гена *ZFH3* от миРНК. Сайты связывания этих миРНК находятся в кодирующей белок области мРНК гена *ZFH3* и кодируют олигопептиды, расположенные между консервативными фланкирующими олигопептидами белка *ZFH3*. Идентичные нуклеотидные последовательности сайтов связывания одной миРНК, расположенной в разных местах мРНК, кодируют различные олигопептиды в разных рамках считывания. мРНК гена *ZFH3* содержит последовательно расположенные сайты связывания для одной или нескольких миРНК, которые кодируют олигопептиды. Выявленные миРНК могут использоваться как маркер развития инсульта с участием *ZFH3*-гена. Эффективность воздействия каждой миРНК на экспрессию гена *ZFH3* зависит от свободной энергии их взаимодействия и от соотношения концентраций миРНК, так как сайты связывания миРНК совпадают или перекрываются. Кроме того, очень важно соотношение миРНК и мРНК концентраций. Длина полисайтов связывающих миРНК увеличивает вероятность взаимодействия одной или нескольких миРНК с мРНК *ZFH3*. Обнаружение сайтов связывания миРНК в мРНК паралогичных генов позволяет определить адекватность экспериментальных животных для изучения заболеваний, вызванных действием миРНК.

Вывод

ZFH3, кандидатный ген инсульта, является мишенью для 26 миРНК связывающихся в кодирующей области мРНК. Сайты связывания некоторых миРНК кодируют олигопептиды консервативные у разных видов животных. Ассоциации нескольких миРНК с геном мишенью *ZFH3* можно использовать для разработки метода диагностики развития инсульта.

3.3.2 Характеристики взаимодействия miRNA с 5'UTR mRNA генов-кандидатов инсульта

В таблице 27 приведены характеристики взаимодействия miRNA с 5'UTR мРНК генов-кандидатов инсульта. В 12 кандидатных генов инсульта в 5'UTR мРНК выявлены миРНК-мишени. мРНК *CD40* имеет один сайт связывания miRNA, а другие гены имеют два или более сайтов связывания.

Таблица 27 - Характеристики взаимодействия миРНК с 5'UTR мРНК кандидатных генов инсульта.

Ген	RPKM	миРНК	Начало сайта, нт	ΔG , кДж/моль	$\Delta G/\Delta G_m$, %	Длина, нт
<i>CALM1</i>	448,8	ID03332.3p-miR	96	-132	89	24
<i>CALM1</i>		ID00811.3p-miR	97	-129	91	24
<i>CALM1</i>		ID01310.3p-miR	100	-119	90	22
<i>CALM1</i>		miR-1181	101	-115	90	21
<i>CALM1</i>		ID01667.3p-miR	107	-125	95	22

<i>CALM1</i>		ID00372.5p-miR	137	-119	87	24
<i>CALM1</i>		ID03311.5p-miR	143	-104	89	21
<i>CALM1</i>		ID00372.5p-miR	143	-117	86	24
<i>CD40</i>	1,5	ID00216.3p-miR	10	-123	91	23
<i>COL4A1</i>	2,0	ID02692.5p-miR	61	-125	88	23
<i>COL4A1</i>		ID02429.3p-miR	67	-121	89	23
<i>ERRF1</i>	8,0	ID03362.5p-miR	3	-123	91	22
<i>ERRF1</i>		ID02761.3p-miR	4	-134	90	24
<i>ERRF1</i>		ID00483.3p-miR	100	-119	90	23
<i>ERRF1</i>		ID00129.5p-miR	136	-106	91	20
<i>FSTL4</i>	3,0	ID00395.5p-miR	111	-123	85	24
<i>FSTL4</i>		ID01895.5p-miR	117	-129	87	24
<i>FSTL4</i>		ID02187.5p-miR	119	-119	86	23
<i>FSTL4</i>		ID00156.5p-miR	120	-129	87	24
<i>FSTL4</i>		ID03166.5p-miR	122	-129	92	23
<i>HTRA1</i>	112,6	miR-328-5p	44	-121	88	23
<i>HTRA1</i>		ID00296.3p-miR (3)	85÷95	-134÷-142	85÷91	25
<i>HTRA1</i>		ID01702.3p-miR (2)	91÷95	-134÷-138	85÷88	25
<i>HTRA1</i>		ID01804.3p-miR (3)	94÷98	-125	86	23
<i>HTRA1</i>		ID01041.5p-miR	94	-125	86	24
<i>HTRA1</i>		ID00061.3p-miR (2)	97÷103	-121÷-132	88÷95	22
<i>HTRA1</i>		miR-3960	97	-117	93	20
<i>HTRA1</i>		ID02368.3p-miR	97	-121	86	23
<i>HTRA1</i>		ID02522.3p-miR	98	-121	86	23
<i>HTRA1</i>		ID01641.3p-miR	98	-127	86	24
<i>MMP2</i>	0,6	ID03387.3p-miR	110	-121	85	24
<i>MMP2</i>		ID00278.3p-miR	110	-123	89	23
<i>MMP2</i>		ID03332.3p-miR	112	-129	87	24
<i>MMP2</i>		ID01859.5p-miR	112	-110	85	22
<i>MMP2</i>		ID01310.3p-miR	113	-121	92	22
<i>MMP2</i>		ID02761.3p-miR	115	-127	86	24
<i>MMP2</i>		ID03037.3p-miR	115	-121	90	22
<i>MMP2</i>		ID03345.5p-miR	118	-121	85	24
<i>MMP2</i>		ID03345.5p-miR	124	-127	90	24
<i>MMP2</i>		ID00792.3p-miR	124	-123	89	22
<i>MMP2</i>		ID03368.3p-miR	125	-117	89	23
<i>NOTCH</i> 3	5,2	miR-877-3p	37	-108	93	21
<i>NOTCH</i>		miR-6891-3p	40	-104	91	21

3						
<i>RAI1</i>	6,1	miR-4656	139	-117	89	23
<i>RAI1</i>		miR-6827-5p	236	-110	90	22
<i>RASD1</i>	64,5	miR-4539	45	-115	92	22
<i>RASD1</i>		miR-1587 (2)	46÷51	-106	93	20
<i>RASD1</i>		miR-4507	46	-110	95	20
<i>RASD1</i>		miR-6771-5p	50	-115	89	22
<i>RASD1</i>		miR-1587	51	-106	93	20
<i>RASD1</i>		miR-4507	51	-104	89	20
<i>RASD1</i>		miR-4722-5p	104	-117	89	23
<i>SH2B3</i>	3,5	miR-6746-5p	2	-115	90	22
<i>SH2B3</i>		miR-1181	43	-119	93	21
<i>SH2B3</i>		ID02761.3p-miR	51	-134	90	24
<i>SLC22A3</i>	0,5	ID01920.3p-miR	7	-125	89	23
<i>SLC22A3</i>		ID02115.5p-miR	12	-119	90	21
<i>SLC22A3</i>		ID00610.3p-miR	15	-121	93	22
<i>SLC22A3</i>		ID00695.3p-miR	25	-123	85	24
<i>SLC22A3</i>		ID02761.3p-miR	26	-134	90	24
<i>SMARC A4</i>	18,1	ID00602.3p-miR	50	-132	87	24
<i>SMARC A4</i>		ID00420.3p-miR	85	-132	91	24
<i>SMARC A4</i>		ID02045.3p-miR	86	-123	89	23
<i>SMARC A4</i>		ID02692.3p-miR	87	-125	94	22
<i>SMARC A4</i>		ID00602.3p-miR	95	-132	87	24
<i>SMARC A4</i>		ID00604.3p-miR	96	-129	90	24
<i>SMARC A4</i>		ID02382.3p-miR	98	-123	88	24
<i>SMARC A4</i>		ID01670.5p-miR	193	-129	88	23
<i>SMARC A4</i>		ID01585.3p-miR	199	-119	89	22
<i>SMARC A4</i>		miR-1273g-3p	269	-110	95	21

<i>SMARCA4</i>		miR-1273d	303	-125	92	25
<i>SMARCA4</i>		miR-1273h-5p	303	-125	92	25
<i>ZDHHC22</i>	18,6	miR-4706	30	-121	85	25
<i>ZDHHC22</i>		miR-7110-5p	43	-110	93	21
<i>ZDHHC22</i>		miR-1908-3p	140	-121	92	21
Примечание. В таблицах в скобках показано число сайтов связывания; ÷ - интервал изменения параметра.						

Ген *NOTCH3* является мишенью для miR-877-3p и miR-6891-3p, сайты связывания которых расположены с перекрытием нуклеотидных последовательностей. Каждый из генов *RAI1* и *SH2B3* имеет сайты связывания для двух миРНК, отдельно расположенные в мРНК. Ген *ZDHHC22* экспрессируется только в головном мозге и является мишенью для трех миРНК (таблица 27).

Из всех генов-кандидатов инсульта ген *CALM1* наиболее высоко экспрессируется в головном мозге и является мишенью для восьми миРНК. Следовательно, миРНК, связывающаяся с мРНК гена *CALM1* в мозге и циркулирующая в крови, может связываться с мРНК в других тканях, уменьшая влияние этих миРНК на экспрессию генов в головном мозге.

Чтобы подтвердить существование кластеров сайтов связывания в мРНК генов *CALM1* и *SMARCA4* человека, мы выявили кластеры сайтов связывания этих миРНК в мРНК ортологичных генов гоминидов. Нуклеотидные последовательности кластера сайтов связывания в гене мРНК *CALM1 H. sapiens*, *P. troglodytes*, *G. gorilla* и *P. paniscus* были идентичны. В кластерах мРНК ортологичных генов *SMARCA4* сайтов связывания *P. anubis* и *P. abelii* отличаются на один нуклеотид, что уменьшает или увеличивает значение ΔG на -2 кДж/моль ÷ -3 кДж/моль. Следовательно, эти животные могут использоваться как экспериментальные для изучения инсульта.

В дополнение к гену *CALM1*, являющимся геном-мишенью для miR-1181, еще 71 ген из изученных 17508 генов человека также является мишенью для miR-1181. Характеристики взаимодействия miR-1181 с мРНК этих альтернативных кандидатных генов приведены в []. Из 71 гена только гены *MAFA*, *KCNA7* и *POU4F1* слабо экспрессируются в мозге. Каждый из последних двух генов имеет два сайта связывания miR-1181. Из 73 сайтов связывания miR-1181 с мРНК этих альтернативных кандидатных генов 26 сайтов расположены в CDS, один сайт в 3'UTR и другие сайты в 5'UTR, что указывает на преимущественную локализацию miR-1181 сайтов связывания в начале мРНК. Свободная энергия взаимодействия miR-1181 с мРНК этих генов составляет $-116,6 \pm 2,2$ кДж/моль. Значение $\Delta G/\Delta G_m$ варьировалось от 90% до 95%, что указывает на участие более 19 нт из 21 нт miR-

1181 в связывании миРНК с мРНК. Эффективность miR-1181 в подавлении экспрессии 71 альтернативного гена будет зависеть от концентрации мРНК соответствующих генов и свободной энергии взаимодействия миРНК с мРНК. Следовательно, для оценки связывания миРНК с мРНК необходимы количественные характеристики их взаимодействия. Свободная энергия взаимодействия miR-1181 с мРНК для всех генов близка. Увеличение экспрессии любого гена с постоянным количеством miR-1181 в клетке приведет к увеличению доли связывания миРНК с этой мРНК, что вызовет увеличение экспрессии других альтернативных генов. Таким образом, миРНК может сбалансировать экспрессию альтернативных генов-мишеней. Учитывая, что miR-1181 экспрессируется во многих клетках и тканях различных органов [296-300], она может переноситься с кровью и создавать соответствующую буферную систему для контроля экспрессии альтернативных генов-мишеней по всему организму.

Несколько генов являются мишенями для пяти или более миРНК, сайты связывания которых организованы в кластеры. мРНК гена *FSTL4* содержит сайты связывания для пяти миРНК, которые расположены с перекрывающимися нуклеотидными последовательностями в кластере от 111 до 145 нт, длиной 35 нт. Общая длина пяти сайтов связывания миРНК составляет 118 нт, что в 3,4 раза больше длины кластера. Длина 5'UTR составляет 218 нт, поэтому необходимо уплотнение сайтов связывания миРНК. Средняя свободная энергия связывания миРНК с мРНК в связывающем кластере составляет -126 кДж/моль.

Ген *HTRA1* высоко экспрессируется в мозге и зависит от десяти миРНК. Девять из них связываются в 5'UTR и сайты связывания в мРНК *HTRA1* расположены в диапазоне от 85 нт до 122 нт (таблица 26). Общая длина всех сайтов связывания этих миРНК составляет 357 нт, что в 9,4 раза больше длины кластера. Длина мРНК 5'UTR гена составляет 128 нт, и такое уплотнение необходимо для размещения девяти сайтов миРНК в 5'UTR. В этом кластере сайтов связывания, длиной 38 нт, может быть связана только одна миРНК, которая присутствует в самой высокой концентрации и с большей свободной энергией связи. Однако в случае болезни необходимо контролировать концентрации всех миРНК, чтобы узнать, какая из них наиболее подавляет экспрессию гена *HTRA1*. Предпочтение отдается ID01702.3p-miR и ID00296.3p-miR, которые при равных концентрациях с другими миРНК могут связываться с мРНК с ΔG равной -138 кДж/моль и -142 кДж/моль, соответственно. Нарушение экспрессии этих генов может сильно повлиять на функцию мозга. Средняя свободная энергия связывания миРНК с мРНК в кластере составляет -130 кДж/моль.

5'UTR гена *HTRA1* содержит сайт связывания miR-328-5p, который содержит 22 других гена-мишени из 17508 генов человека (таблица 28). Из этих генов 17 генов экспрессируются в мозге и поэтому могут быть альтернативными кандидатными генами для miR-328-5p вместе с *HTRA1*. Свободная энергия взаимодействия с мРНК этих генов составляла от -125 кДж/моль до -132

кДж/моль ($-126,8 \pm 2,0$ кДж/моль), величина $\Delta G/\Delta G_m$ варьировала от 91% до 95%. То есть, 21 в 5'UTR, девяти генов в CDS и шести генов в 3'UTR.

мРНК гена *RASD1* содержит сайты связывания для 13 миРНК. Сайты связывания семи миРНК образуют кластер от 45 нт до 72 нт, длиной 28 нт. Общая длина четырех сайтов связывания составляет 144 нт, что в пять раз превышает длину кластера. При длине мРНК *RASD1* 5'UTR, равной 214 нт, такое уплотнение сайтов связывания необходимо. Вторым важным следствием перекрытия сайтов связывания является появление конкуренции семи миРНК за связывание в кластере. С длиной кластера 28 нт может быть связана только одна миРНК. Преимущество будет для миРНК с большей свободной энергией взаимодействия, причем мРНК или миРНК присутствуют в более высокой концентрации. Другие miRNAs не смогут влиять на экспрессию гена *RASD1*. В целом, любой ген с двумя или более сайтами связывания миРНК, организованными в кластере, более подвержен влиянию миРНК по сравнению с миРНК с единственным сайтом связывания, который имеет сходные характеристики взаимодействия с мРНК. Средняя свободная энергия связывания миРНК с мРНК в связывающем кластере составляет -109 кДж/моль.

Ген *SLC22A3* слабо экспрессируется, но его экспрессия контролируется пятью миРНК. Сайты связывания этих миРНК расположены в кластере от 7 нт до 50 нт, длиной 44 нт (таблица 27). Общая длина пяти сайтов связывания миРНК составляет 114 нт, а при длине 5'UTR, равной 105 нт, необходимо уплотнение сайтов связывания. Средняя свободная энергия связывания миРНК с мРНК в кластере связывания составляет -124 кДж/моль.

мРНК гена *SMARCA4* имеет сайты связывания для одиннадцати миРНК, из которых шесть связаны в кластере от 85 до 122 нт и имеют длину 38 нт. Общая длина сайтов связывания составляет 141 нт, что в четыре раза больше размера кластера. Организация сайтов связывания в кластеры, отличающиеся уплотнением, создает конкуренцию между миРНК за сайт связывания в кластере. Из шести миРНК только одна может связываться в кластере с 38 нт. При небольшой разнице в свободной энергии взаимодействия этих миРНК с мРНК и в равных концентрациях эти миРНК примерно одинаково связываются в кластере. Средняя свободная энергия связывания миРНК с мРНК в кластере составляет -127 кДж/моль. Кластеры сайтов связывания в гене мРНК *SMARCA4H. sapiens* и *P. abelii* имеют идентичные нуклеотидные последовательности (таблица 28). В кластерах мРНК ортологичных генов сайты связывания *P. anubis* и *P. troglodytes* отличаются одним или двумя нуклеотидами, что изменяет значение ΔG всего от -2 кДж/моль до -3 кДж/моль.

3.3.3 Характеристики взаимодействия миРНК с CDS мРНК кандидатных генов инсульта

Характеристики взаимодействия миРНК с CDS мРНК генов-кандидатов инсульта показаны в таблице 29. Двадцать шесть генов являются мишенями для миРНК. Из них три гена слабо экспрессируются в головном мозге. Большинство генов являются мишенями для сайтов связывания миРНК, которые расположены

в CDS мРНК без перекрывающихся нуклеотидных последовательностей (таблица 28).

В мРНК гена *SMARCA4* имеется девять сайтов связывания, из которых перекрывающиеся сайты связывания ID03324.3p-miR и ID03238.3p-miR, а также перекрывающиеся ID02761.3p-miR и ID02542.5p-miR сайт связывания, расположены (Таблица 28). В мРНК *ZFHX3* восемь сайтов связывания миРНК расположены без перекрывания нуклеотидных последовательностей, тогда как сайты связывания miR-6779-5p и miR-671-5p перекрываются. Ген *RAI1* является мишенью шести миРНК, сайты связывания которых расположены по всей длине мРНК CDS.

Таблица 28 - Характеристики взаимодействия miRNA с CDS mRNA генов-кандидатов инсульта

Ген	RPK М	miRNA	Начало сайта, нт	ΔG , кДж/моль	$\Delta G/\Delta G$ m, %	Дли на, н т
<i>ADAMTS7</i>	0,3	miR-103a-3p	1459	-110	91	23
<i>ADAMTS7</i>		miR-337-5p	1464	-100	90	21
<i>ADAMTS7</i>		miR-4489	3273	-106	91	21
<i>ADAMTS7</i>		miR-3188	3537	-115	90	23
<i>COL4A1</i>	2,0	miR-4259	3541	-113	93	22
<i>COL4A2</i>	3,2	miR-6885-3p	1399	-104	91	21
<i>COL4A2</i>		miR-1204	2006	-102	91	21
<i>COL4A2</i>		miR-6851-5p	3205	-117	90	23
<i>HABP2</i>	0,2	miR-6801-5p	1096	-108	88	23
<i>HPS1</i>	9,2	ID02931.3p-miR	1487	-113	91	21
<i>HPS1</i>		miR-5787	1495	-115	95	20
<i>HPS1</i>		ID02762.5p-miR	1503	-115	95	20
<i>IL1A</i>	0,1	miR-627-5p	1622	-102	91	22
<i>ITGAE</i>	2,3	miR-6827-3p	2296	-104	91	21
<i>LDLR</i>	3,5	miR-6751-5p	1438	-115	90	21
<i>MMP2</i>	0,6	miR-1285-5p	1376	-104	92	21
<i>MMP9</i>	0,2	miR-541-5p	1655	-115	86	25
<i>NOS2A</i>	2,1	miR-6894-3p	1438	-106	91	21
<i>NOTCH3</i>	5,2	ID00522.5p-miR (2)	83÷91	-121 ÷ - 125	86 ÷ 89	23
<i>NOTCH3</i>		ID01041.5p-miR	85	-129	88	24
<i>NOTCH3</i>		ID01804.3p-miR (4)	85÷94	-125 ÷ - 136	86 ÷ 93	23
<i>NOTCH3</i>		ID01041.5p-miR	86	-129	88	24
<i>NOTCH3</i>		ID01895.5p-miR	88	-132	89	24
<i>NOTCH3</i>		ID02950.3p-miR	88	-127	91	23
<i>NOTCH3</i>		ID01702.3p-miR	95	-129	86	24

<i>NOTCH3</i>		ID00296.3p-miR	91	-134	85	25
<i>NOTCH3</i>		ID02294.5p-miR	93	-125	86	24
<i>NOTCH3</i>		ID00061.3p-miR	94	-121	88	22
<i>NOTCH3</i>		ID01106.5p-miR	95	-127	86	24
<i>NOTCH3</i>		miR-602	100	-117	86	23
<i>NOTCH3</i>		ID01895.5p-miR	113	-132	89	24
<i>NOTCH3</i>		ID01652.3p-miR	126	-132	94	23
<i>NOTCH3</i>		miR-214-3p	263	-110	91	22
<i>NOTCH3</i>		miR-5585-3p	2285	-106	91	22
<i>NOTCH3</i>		miR-328-5p	6164	-119	87	23
<i>NOTCH3</i>		miR-939-3p	6290	-113	91	21
<i>RAI1</i>	6,1	miR-6772-5p	1486	-113	91	22
<i>RAI1</i>		miR-4707-5p	1588	-121	87	23
<i>RAI1</i>		miR-4746-3p	1938	-113	91	23
<i>RAI1</i>		miR-940	2453	-115	92	21
<i>RAI1</i>		miR-6853-5p	3012	-117	90	24
<i>RAI1</i>		miR-7845-5p	5447	-106	89	21
<i>RASD1</i>	64,5	ID01508.5p-miR	898	-125	87	23
<i>RASD1</i>		ID03156.5p-miR	900	-132	90	24
<i>RASD1</i>		ID03332.3p-miR	905	-136	91	24
<i>RASD1</i>		ID02611.3p-miR	907	-125	91	22
<i>RASD1</i>		ID02761.3p-miR	914	-127	87	24
<i>RASD1</i>		ID01609.5p-miR	916	-117	87	23
<i>SH2B3</i>	3,5	miR-4741	725	-119	87	23
<i>SMARCA4</i>	18,1	ID01211.3p-miR	656	-123	94	23
<i>SMARCA4</i>		miR-3187-3p	685	-108	93	20
<i>SMARCA4</i>		ID01345.3p-miR	972	-127	90	23
<i>SMARCA4</i>		miR-762	1052	-123	91	22
<i>SMARCA4</i>		ID01515.3p-miR	4110	-123	87	24
<i>SMARCA4</i>		ID03324.3p-miR	5080	-119	93	22
<i>SMARCA4</i>		ID03238.3p-miR	5085	-113	87	23
<i>SMARCA4</i>		ID02761.3p-miR	5191	-140	94	24
<i>SMARCA4</i>		ID02542.5p-miR	5194	-127	88	24
<i>SORT1</i>	34,1	ID01895.5p-miR	155	-127	86	24
<i>SORT1</i>		ID01662.3p-miR	156	-127	90	23
<i>SORT1</i>		ID00030.3p-miR	158	-121	90	22
<i>SORT1</i>		ID01041.5p-miR	159	-129	88	24
<i>SORT1</i>		ID00156.5p-miR	160	-127	87	24
<i>SORT1</i>		ID00061.3p-miR	167	-121	88	22
<i>SORT1</i>		ID01705.3p-miR	167	-117	92	21
<i>SORT1</i>		ID00252.5p-miR	169	-134	90	24
<i>SORT1</i>		ID02992.5p-miR	170	-110	96	18
<i>SORT1</i>		ID03070.3p-miR	171	-121	92	22

<i>SORT1</i>		ID02080.3p-miR	221	-117	86	24
<i>SORT1</i>		ID01431.3p-miR	226	-132	93	24
<i>SORT1</i>		ID01204.3p-miR	229	-127	90	24
<i>TMEM163</i>	6,5	ID01491.3p-miR	113	-123	89	23
<i>TMEM163</i>		ID02260.5p-miR	143	-123	88	22
<i>TMEM163</i>		ID01106.5p-miR	147	-127	86	24
<i>TMEM163</i>		ID00411.5p-miR	148	-125	87	23
<i>TSPAN2</i>	0,3	miR-7160-3p	251	-106	91	21
<i>SELE</i>	0,5	ID03022.3p-miR	829	-100	90	22
<i>ZDHHC22</i>	18,6	miR-4687-3p	697	-110	91	22
<i>ZDHHC22</i>		miR-4494	773	-110	90	22
<i>ZNF259</i>	6,7	ID01901.5p-miR	75	-119	90	21
<i>ZNF259</i>		ID01774.5p-miR	81	-125	87	23
<i>ZNF259</i>		ID00411.5p-miR	82	-129	90	23
<i>ZNF259</i>		ID02260.5p-miR	82	-123	88	22
<i>ZNF259</i>		ID02935.3p-miR	84	-129	88	24
<i>ZNF259</i>		miR-6786-5p	88	-119	93	21
<i>ZNF259</i>		ID01901.5p-miR	93	-123	94	21
<i>ZNF259</i>		ID01458.5p-miR	95	-125	86	23

Сайты связывания 14 миРНК в мРНК *NOTCH3* расположены от 83 нт до 149 нт, то есть 22 сайта связывания miRNA расположены в 67 нт (таблица 29). ID01804.3p-miR имеет семь сайтов связывания. Общая длина 22 сайтов связывания составляет 531 нт, что в восемь раз превышает длину кластера. Длина CDS этого гена составляет 6966 нт. Поэтому уплотнение сайтов связывания не очень актуально. Однако кластер расположен в начале CDS, и 14 miRNA могут потенциально остановить синтез белка, здесь, в самом начале, посредством связывания, которое энергетически более выгодно, чем остановка синтеза белка непосредственно перед стоп-кодоном, где может произойти нарушение синтеза, в результате чего образуется abortивный белок с неполной структурой. Подавление трансляции может одновременно производиться двумя миРНК, поскольку кластер длиной 67 нт может связывать две миРНК. Сайты связывания миРНК в мРНК *NOTCH3* в кодируемых крысами и мышами олигопептидах гомологичных олигопептидам человека, что позволяет предположить, что эти лабораторные животные являются адекватной моделью для изучения роли гена *NOTCH3* в развитии инсульта. Средняя свободная энергия связывания миРНК с мРНК *NOTCH3* в кластере, где связываются 14 миРНК, составляет -133 кДж/моль.

В CDS мРНК *RASD1* можно найти кластер из шести сайтов связывания миРНК от 898 до 938 нт. Длина кластера составляет 41 нт, а общая длина сайтов связывания составляет 180 нт. Средняя свободная энергия связывания miRNA с мРНК *RASD1* в кластере связывания из шести миРНК А составляет -127 кДж/моль.

Ген *SORT1* сильно экспрессируется в мозге (таблица 2). CDS его мРНК содержит кластер из десяти сайтов связывания миРНК. Длина кластера от 155 до

193 нт составляет 39 нт и в шесть раз меньше общей длины 224 нт всех сайтов связывания миРНК. Существует кластер сайтов связывания ID02080.3p-miR, ID01431.3p-miR и ID01204.3p-miR в мРНК гена *SORT1*. Средняя свободная энергия связывания миРНК с мРНК *SORT1* в двух кластерах составляет -124 кДж/моль.

Ген транскрипционного фактора *ZNF259* является мишенью восьми миРНК, сайты связывания которых расположены в кластере от 75 до 118 нт. Длина кластера в четыре раза меньше общей длины восьми сайтов связывания миРНК, равной 179 нт. Нуклеотидная последовательность CDS занимает область мРНК от 34 нт до 1413 нт. Такое расположение кластера сайтов связывания миРНК позволяет им замедлять трансляцию в начале этого процесса. Средняя свободная энергия связывания миРНК с мРНК *ZNF259* в кластере составляет -124 кДж/моль.

3.3.4 Характеристики взаимодействия миРНК с 3'UTR мРНК кандидатных генов инсульта

В таблице 30 приведены характеристики взаимодействия миРНК с 3'UTR мРНК генов-кандидатов инсульта. Из 16 генов-мишеней миРНК ген *SORT1* является наиболее высоко экспрессированным (Таблица 3).

мРНК генов *CARD8* и *LDLR* имеют больше сайтов связывания миРНК, чем другие гены, что указывает на большую зависимость их экспрессии от миРНК. Восемь сайтов связывания миРНК были идентифицированы в мРНК гена *CARD8*. Только для miR-1285-3p и miR-1273g-3p сайты связывания расположены с перекрытием нуклеотидных последовательностей. В мРНК гена *IL10* две пары миРНК образуют кластеры сайтов связывания. Начало сайтов связывания miR-5095 и miR-619-5p находится через шесть нуклеотидов и может быть идентифицировано в мРНК генов *IL10*, *ITGA2*, *LDLR* и *MTHFR*. Это указывает на неслучайную связь между этими миРНК, и изменение концентрации miR-5095 и miR-619-5p может нарушить экспрессию сразу четырех генов (таблица 29). Это дает основание включать miR-5095 и miR-619-5p вместе с их генами-мишенями в качестве маркеров при разработке методов диагностики инсульта.

Таблица 29 - Характеристики взаимодействия миРНК с 3'UTR мРНК кандидатных генов инсульта

Ген	RPKM	miRNA	Начало сайта, нт	ΔG , кДж/моль	$\Delta G/\Delta G_m$, %	Длина, нт
<i>CARD8</i>	1,1	miR-1285-3p	4297	-106	91	22
<i>CARD8</i>		miR-1273g-3p	4315	-115	98	21
<i>CARD8</i>		miR-3929	4511	-110	90	23
<i>CARD8</i>		miR-1273g-3p	4625	-110	95	21
<i>CARD8</i>		miR-1273d	4661	-117	86	25
<i>CARD8</i>		miR-5689	4716	-106	93	22
<i>CARD8</i>		miR-1972	4873	-115	93	22
<i>CARD8</i>		miR-606	5017	-93	94	21

<i>CD40LG</i>	0,1	miR-574-5p (16)	1548÷1578	-113	93	23
<i>HPS1</i>	9,2	ID03045.3p-miR	3210	-119	90	23
<i>IL1B</i>	1,0	miR-548t-5p	1166	-96	90	21
<i>IL10</i>	0,1	miR-5095	1210	-115	98	21
<i>IL10</i>		miR-619-5p	1216	-119	98	22
<i>IL10</i>		miR-5096	1290	-106	94	21
<i>IL10</i>		miR-1303	1303	-104	89	22
<i>IL16</i>	0,4	miR-4640-5p	4476	-117	87	23
<i>IL16</i>		miR-6858-3p	6343	-117	92	22
<i>ITGA2</i>	0,7	miR-5095	5925	-106	91	21
<i>ITGA2</i>		miR-619-5p	5931	-110	91	22
<i>ITGA2</i>		miR-5096	6003	-110	98	21
<i>LDLR</i>	3,5	miR-5095	3897	-110	95	21
<i>LDLR</i>		miR-619-5p	3903	-119	98	22
<i>LDLR</i>		miR-5585-3p	4043	-113	96	22
<i>LDLR</i>		miR-1285-5p	4151	-106	94	21
<i>LDLR</i>		miR-1303	4159	-106	91	22
<i>LDLR</i>		miR-1285-5p	4322	-102	91	21
<i>LDLR</i>		miR-619-5p	4378	-113	93	22
<i>LDLR</i>		miR-1285-5p	4451	-106	94	21
<i>LDLR</i>		miR-619-5p	4517	-113	93	22
<i>MMP2</i>	0,6	miR-328-5p	3009	-119	86	23
<i>MTHFR</i>	3,1	miR-8089	3460	-121	88	24
<i>MTHFR</i>		miR-5585-3p (2)	6300,7003	-108	93	22
<i>MTHFR</i>		miR-1285-5p	6399	-104	92	21
<i>MTHFR</i>		miR-5095	6855	-110	95	21
<i>MTHFR</i>		miR-619-5p	6861	-115	95	22
<i>NFE2L1</i>	37,0	miR-7110-3p	4737	-110	91	21
<i>RAI1</i>	6,1	miR-5088-5p	6944	-121	90	24
<i>RAI1</i>		miR-4750-5p	7258	-113	90	22
<i>RAI1</i>		miR-4451	7315	-89	98	17
<i>RASD1</i>	64,5	ID02153.5p-miR	1122	-110	91	21
<i>SH2B3</i>	3,5	miR-6812-3	3016	-110	91	21
<i>SH2B3</i>		miR-1273g-3p	3750	-106	91	21
<i>SH2B3</i>		miR-1273f	3783	-102	98	19
<i>SH2B3</i>		miR-4758-3p	4609	-121	92	23
<i>SMARCA4</i>	18,1	miR-4655-3p	5690	-110	90	21
<i>SORT1</i>	34,1	miR-7110-3p	4152	-113	93	22
<i>SORT1</i>		miR-568	6410	-89	93	20
<i>TSPAN2</i>	0,3	miR-1277-5p	3048	-96	88	24
<i>ZDHHC22</i>	18,6	miR-466 (4)	1831÷1837	-104÷-106	89÷ 91	23
<i>ZDHHC22</i>		ID01030.3p-miR (3)	1833÷1837	-108	89	23

<i>ZDHHC22</i>		.ID00436.3p-miR (4)	1833÷1839	-104	89	23
----------------	--	------------------------	-----------	------	----	----

Высокое значение $\Delta G/\Delta G_m$, равное 98%, наблюдается, когда miR-1273g-3p, miR-5095, miR-619-5p и miR-5096 связываются с мРНК генов *CARD8*, *IL10* и *ITGA2*, что указывает на селективность этих миРНК к их генам-мишеням. Увеличение свободной энергии взаимодействия миРНК с мРНК является важным критерием для отбора ассоциаций миРНК с мРНК. Эти миРНК включают miR-8089, miR-5088-5p и ID01935.5p-miR, которые связываются с соответствующими генами-кандидатами в мРНК со значением ΔG более -120 кДж/моль. Средняя свободная энергия связывания миРНК в 3'UTR мРНК всех генов составляет -112 кДж/моль.

Для miR-7110-3p гены *NFE2L1*, *SORT1*, *ZDHHC22* являются кандидатными генами-мишенями (таблицы 27 и 29).

Кроме того, мы идентифицировали восемь генов из 17508 генов, которые являются мишенью miR-7110-3p (Таблица 28).

За исключением трех генов, остальные гены-мишени выше экспрессируются в головном мозге, и являются альтернативными генами для генов *SORT1* и *ZDHHC22*. Свободная энергия взаимодействия miR-7110-3p с мРНК альтернативных генов составляет $-111,7 \pm 3,3$ кДж/моль, то есть она близка для всех взаимодействий с мРНК восьми альтернативных генов. В связи с тем, что причиной развития инсульта могут быть разные комбинации генов, это предполагает различные проявления форм инсульта.

Рассмотренные примеры участия miR-1181, miR-328-5p, miR-7110-3p в связывании с генами-мишенями показывают, что другие миРНК могут иметь сходные группы генов-мишеней. Например, мы установили, что miR-619-5p может связываться с мРНК более 500 генов, включая полностью комплементарное связывание с мРНК 201 генов [305; 310; 311].

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1 Обсуждение результатов клинического исследования

Ишемический инсульт является одной из самых распространённых причин смертности и инвалидности населения во всем мире, в том числе и в Казахстане.

Последние четверть века в целом ряде стран были предприняты значительные усилия по снижению смертности населения от неинфекционных заболеваний, которые позволили в конечном итоге существенно повлиять в них на общую смертность. Однако проблема демографического и экономического бремени неинфекционных заболеваний, в том числе инсульта для большинства стран остается очень актуальной. Основным вопросом и настоящим вызовом для многих государств стала нерешенная проблема с факторами риска, быстро растущая распространенность ожирения, которое порождает рост артериальной гипертензии, сахарного диабета, и их инвалидизирующих и фатальных осложнений, таких как инсульт.

ВОЗ утвердила глобальный координационный механизм, по борьбе с неинфекционными заболеваниями. Основным руководящим документом для практической реализации политических решений стал разработанный и принятый Всемирной ассамблеей здравоохранения «Глобальный план действий по профилактике и контролю неинфекционных заболеваний на 2013-2020», главной задачей которого является: установить стандартизированные национальные цели и показатели, в соответствии с согласованными на международном уровне механизмами мониторинга.

В 2011-2015 гг. в нашей стране была реализована государственная программа развития здравоохранения «Саламатты Казахстан», одним из главных направлений которого явилось усиление профилактических мероприятий, скрининговых исследований, совершенствование диагностики, лечения и реабилитации основных социально значимых заболеваний включая инсульт [7].

В 2016 году в Казахстане приступили к реализации государственной программы развития системы здравоохранения «Денсаулық» призванной обеспечить поэтапное внедрение стандартов стран Организации Экономического Сотрудничества и Развития (ОЭСР) в сфере здравоохранения. В основу этой программы положены рекомендации ВОЗ о необходимости согласованных и скоординированных действий, интеграции в борьбе с НИЗ на национальном уровне, основанные на Политической декларации Совещания высокого уровня ООН по НИЗ [7].

Одной из главных целей программы является увеличение к 2020 году ожидаемой средней продолжительности жизни населения Казахстана до 73 лет. В рамках программы предусмотрена модернизация и приоритетное развитие служб ПМСП для больных с ОНМК, развитие скорой неотложной медицинской помощи, развитие специализированной медицинской помощи с интеграцией всех служб здравоохранения [26].

Во всем мире проводятся исследования, по изучению проблем инсульта и его региональных особенностей.

Наша диссертационная работа посвящена изучению клинических особенностей и патогенетических механизмов прогрессирования ишемического инсульта в остром периоде, включая анализ молекулярно-генетических маркеров инсульта (miRNA).

Нами проведен обзор клинических и патогенетических механизмов утяжеления ишемического инсульта в остром периоде, включая анализ молекулярных маркеров инсульта (miRNA) в мировой и отечественной литературе и проведение анализа официальных данных РК.

На первом этапе проведено собственное исследование госпитализированных пациентов на базе нейроинсультного отделения №1 городской клинической больницы №7 г. Алматы. Одной из главных задач этого этапа явилось выявление возможных факторов риска, приводящих к раннему неврологическому утяжелению в острой фазе ишемического инсульта 24-72 часов.

На втором этапе проведены молекулярно-генетические исследования, которые выполнялись в Научно-исследовательском институте проблем биологии и биотехнологии Казахского национального университета имени аль-Фараби. Основной задачей этого этапа было изучение характеристик взаимодействия miRNA с mRNA генов-кандидатов, участвующих в развитии инсульта.

Таким образом, по данным различных исследований утяжеление неврологического состояния больных в остром периоде ИИ часто коррелирует со смертностью и встречается от 13% до 38% в неврологических стационарах [21,45].

Несмотря на эти публикации по изучению раннего неврологического ухудшения после перенесенного ИИ в остром периоде, в настоящее время отсутствует глубокое понимание механизмов, инициирующих утяжеление этого заболевания.

В нашей стране еще не проводились подобные исследования по изучению предикторов ухудшения неврологического статуса в первые несколько часов после начала ишемического инсульта.

Мы сосредоточили наше исследование на неврологическом ухудшении в течение первых 24-72 часов пациентов с острым ишемическим инсультом, поступивших в нашу клинику после появления симптомов, поскольку эти первые часы имеют решающее значение для возможного прогрессирования зоны инфаркта.

За период с 31.05.17-31.03.18 от начала проведенного исследования общая летальность составила 48 человек на 663 человека (7,2%). При рассмотрении структуры летальности у пациентов исследуемых групп было отмечено преобладание причин, связанных с факторами риска: артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, фибрилляция предсердия, сахарный диабет 2-го типа, хроническая обструктивная болезнь легких, хроническая болезнь почек, ТИА различия носили достоверный характер. Отметим, что летальным случаям наиболее часто (94,7%) предшествовало развитие тромбоэмболических

осложнений (3,22%) с последующим развитием отека мозга (9,67%); реже – повторное ОНМК (6,45%).

Многофакторный регрессионный анализ Кокса показал, что прогнозирование выживаемости пациентов в стационаре зависит от большого количества факторов (переменных). Пожилые люди (≥ 70 лет) в 1,5 раза чаще умирают во время госпитализации. Более высокие показатели шкалы Рэнкина при поступлении, более низкий показатель ШКГ при поступлении, АТИ и КЭИ подтипы ишемического инсульта, СД2 типа, сердечно-сосудистые заболевания, фибрилляция предсердий, ХОБЛ повышают риск госпитальной смертности.

Пожилые (≥ 70 лет) пациенты с атеротромботическим подтипом инсульта имели повышенный коэффициент риска госпитальной смертности 0,93 (95% ДИ: 0,90-0,96) по сравнению с пациентами с кардиоэмболическим инсультом 0,90 (95% ДИ: 0,85-0,94) и возрастом до 65 лет, после учета других факторов. Госпитальная смертность положительно коррелирует с нарушением глотания (0,734**), что подтверждается результатами исследования непараметрических критериев, и коррелирует с NIHSS при поступлении (-,557**) и через 72 часа (-,552**) и шкалой Рэнкина (-0,506**)

Было обнаружено, что смертность в стационаре у пациентов, перенесших инсульт, была связана с более старшим возрастом, тяжестью инсульта (NIHSS, ШКГ, Рэнкина), подтипом ишемического инсульта (кардиоэмболический, атеротромботический) и сопутствующими заболеваниями (ФП, ХОБЛ, СД2 типа, ХБП).

Анализ клинических проявлений в острейшем периоде ИИ в группе с летальным исходом показал, что усугубление неврологического статуса связано с размерами очага, в частности положительно коррелирует со шкалой Рэнкина (0,625**) и состоянием NIHSS при поступлении (0,531*) приводящее к повышению внутричерепного давления, что в дальнейшем приводит к отеку мозга, с прогрессирующим течением инсульта, и рецидивирующей ишемией головного мозга со вторичным паренхиматозным кровоизлиянием

Анализ выживаемости показал, что среднее время выживаемости напрямую зависит от состояния пациента при поступлении, по Уилкоксоу значимость 0,531 для баллов шкалы NIHSS 16-20.

В медицинской практике наиболее достоверным показателем является оценка результатов по показателям кумулятивной выживаемости.

По критериям Log Rank, Breslow и Tarone-Ware значение 2 (выжил) больше критического значения 13,497. Например: кумулятивная выживаемость пациентов группы АТТ в отдаленном периоде до 100 лет составила 83 года соответственно; во второй группе КЭ кумулятивная выживаемость пациентов 90 лет, у пациентов после лакунарного ишемического инсульта - 80 лет, после ИИ неопределенного генеза - 81 год, с высокой степенью достоверности различалась между собой ($p > 0,003-0,004$).

Для моделирования общей смертности в зависимости от возраста по достоверно значимым факторам риска у лиц с ИИ использовалась многофакторная регрессионная модель пропорционального риска Кокса ($df=11$; 2

Вальда=773,049; $p < 0,001$). В качестве категориальных переменных использовались подпункты NIHSS при поступлении: незначительный инсульт 1-4 балла, умеренный инсульт - 5-15 баллов, умеренный до тяжелого удара 16-20 баллов, тяжелый инсульт 21-42 балла. Результаты мультифакторного анализа по Коксу показали, что при оценке влияния на выживаемость после ишемического инсульта статистически значимыми ($p=0,0175$) являются возраст 67 лет (значимость 0,000) и баллы по ШКГ (0,038).

Таким образом, проведенные исследования позволили выяснить, что наиболее предпочтительным при анализе выживаемости при ИИ является метод Каплан Майера, позволяющий точно выяснить средние значения и медиану выживаемости с доверительными интервалами (ДИ) в зависимости от диагноза ИИ. Нами созданы формулы регрессии, описывающие максимальные различия между сравниваемыми группами благоприятным и неблагоприятным исходом.

Прогнозирование выживаемости пациентов на раннем этапе ИИ зависит от большого количества факторов (нами изучены 38 переменных).

Кроме того в данной работе была предпринята попытка использовать машинный интеллект «нейронные сети» для прогнозирования процента смертности от ишемического инсульта. В частности, по зависимым переменным была выявлена сильная связь показателей сердечнососудистой системы: САД, ДАД и функциональный исход инсульта пункта 6 шкалы Рэнкина со смертностью, прогнозируемым значением смертности =9,5% для пациентов с ишемическим инсультом различной этиологии (точность прогнозирования математической модели составила 97,4%).

Дискриминантный анализ параметров ишемического инсульта пациентов с различной этиологией выявил превалирование смертности у пациентов с кардиоэмболической ИИ, процент смертности при дискриминантном анализе составляет 6,7%. Дискриминантный анализ позволил выявить неоднородность полученных данных для групп умер/выжил при ишемическом инсульте с разным диагнозом.

Таблица 30 - Сравнение методов получения прогнозируемой смертности при ИИ

№	Метод	Прогнозируемая смертность, %	примечания
1	литературные данные		
2	обычный	7,2	госпитальная смертность
3	дискриминантный	6,7	
4	машинный интеллект	9,5	отдаленные результаты
5	мультифакторный Кокса		выявляет факторы
6	Каплан-Майера		% зависит от цензурирования

Проведенные расчеты позволили выявить положительные моменты различных способов расчета прогнозируемой смертности и выживаемости.

Исследования в больничных условиях затруднены возможными отклонениями в результатах, так как не учитывали тех пациентов, которые выписались из больницы и их отдаленные результаты не были учтены в данном исследовании, что может смещать результаты исследования в сторону снижения показателей смертности и повышения показателей выживаемости.

Таким образом полученные результаты указывают на то, что использованные статистические методы дали возможность получить данные, позволяющие всесторонне рассмотреть вопросы прогнозирования возраста дожития, выживаемости и летальности пациентов после ишемического инсульта. Мировые данные также подтверждают эти выводы. Кроме того, анализ выявил значимые, независимые предикторы возникновения осложнений, маркером являются нарушение глотания ($0,734^{**}$), гипергликемия выявленная в группе-2 почти у 87,5% (42) в группе-1 только у 26,5% $p < 0,001$ при средних показателях $10,2 \pm 5,2$ и $5,7 \pm 1,7$ $p < 0,001$, укорочение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) менее 35 сек во второй группе обнаружено у 84,8% (39) в сравнении с первой группой 35,6% (219) $p < 0,001$ при средних показателях $28,9 \pm 4,2$ и $37,2 \pm 5,4$ соответственно $p < 0,001$. Критическим является возраст пациента старше 67 ($p < 0,000$), размеры очага инфаркта > 5 см в диаметре с эффектом занимаемой площади. Повышенный коэффициент риска госпитальной смертности при атеротромботическом подтипе ИИ ($0,93$), низкие цифры коррелируют с САД при атеротромботических подтипах ИИ. По сравнению с АТИ повышенный коэффициент риска госпитальной смертности с кардиоэмболическим инсультом ($0,90$), коррелирует с возрастом до 65 лет, высокими показателями САД при поступлении. Состояние пациента положительно коррелирует со шкалой Рэнкина ($0,625^{**}$) и состоянием NIHSS при поступлении ($0,531^{*}$) баллы ШКГ ($0,038$). Кроме этого, необходимо отметить отягощающие факторы - сопутствующие заболевания: ФП, ХОБЛ, СД2 типа, ХБП.

4.2 Обсуждение результатов молекулярно-генетического исследования

Роль миРНК в регуляции экспрессии генов, участвующих в развитии инсульта, активно изучается [244-255]. Поскольку миРНК оказывают влияние посредством ингибирования генов, необходимо выяснить, какие гены участвуют в развитии инсульта. Список из 134 генов-кандидатов инсульта содержит гены, которые по литературным данным предположительно участвуют в развитии инсульта.

Мы использовали программу MirTarget для прогнозирования количественных характеристик сайтов связывания миРНК, которые адекватно отражают взаимодействие миРНК с мРНК [305; 310; 311]. В настоящей работе с использованием программы MirTarget было показано, что в нескольких генах сайты связывания локализованы с перекрывающимися нуклеотидными последовательностями (таблица 26-29). Количество таких сайтов связывания с

перекрывающимися нуклеотидными последовательностями может быть значительно выше при обнаружении новых миРНК (таблица 26-29). Кластерная организация сайтов связывания миРНК обеспечивает уплотнение нуклеотидных последовательностей сайтов связывания и создает конкуренцию среди миРНК, кодируемых в межгенных областях, и миРНК, коэкспрессируемых с генами хозяина.

Важным аспектом нашего исследования было создание альтернативных генов-мишеней для миРНК, действующих на ген-кандидат. Следовательно, необходимо уточнить, какие гены-мишени связываются с миРНК и какие побочные эффекты могут возникать при использовании этой миРНК или ее аналога в форме siRNA в терапии.

миРНК, рекомендованная в качестве маркера, должна обладать следующими свойствами: высокоселективно связываться с мРНК гена-мишени; миРНК не должна влиять на мРНК альтернативных генов-мишеней; должны быть доступны для контроля его концентрации в биологических жидкостях и в тканях и органах при развитии заболевания. Маркерный ген должен быть непосредственно вовлечен в развитие заболевания или быть функционально связан с геном, вызывающим заболевание. Из нескольких генов-кандидатов маркер должен быть высоко экспрессирован. Поскольку в развитии заболевания могут участвовать несколько генов, желательно включить их как можно больше в список генных маркеров.

На основании полученных данных (таблицы 28-30) учитывался уровень экспрессии генов в мозге: *CALM1*, *HTRA1*, *RASD1*, *SORT1*, *ZDHHC22*, *SMARCA4*. Эти гены могут связываться с высокой свободной энергией с одной или несколькими миРНК.

Следующие гены и миРНК могут быть использованы в качестве ассоциаций миРНК и генов-мишеней: *CALM1* и ID03332.3p-miR, ID00811.3p-miR, ID01667.3p-miR; *HTRA1* и ID00296.3p-miR, ID01702.3p-miR; *RASD1* и ID03156.5p-miR, ID03332.3p-miR; *SORT1* и ID00252.5p-miR, ID01431.3p-miR; *ZDHHC22* и ID00436.3p-miR, miR-1908-3p; *SMARCA4* и miR-1273d, miR-1273h-5p, ID00420.3p-miR. Предложенные ассоциации миРНК и генов-мишеней рекомендованы для разработки методов диагностики инсульта.

Например, сайты связывания для miR-1273d и miR-1273h-5p в 5'UTR мРНК *SMARCA4* перекрываются нуклеотидными последовательностями и имеют высокую энергию свободного взаимодействия -125 кДж/моль. Ген *SMARCA4* высоко экспрессируется в мозге по сравнению с альтернативными генами.

В число 134 кандидатных генов вошли гены экспрессия которых увеличивалась или уменьшалась при инсульте. Кроме этих генов в головном мозге экспрессируются много генов экспрессия которых не изучалась или отсутствовала в норме и могла проявиться только при заболевании. Проверять экспрессию всего множества генов в настоящее время трудно, однако предсказывать влияние на них миРНК реально. В первую очередь можно оценивать какое влияние могут оказывать миРНК на высоко экспрессируемые гены в головном мозге при инсульте. В качестве примера в работе рассмотрены

гены мишени miR-1181, miR-328-5p и miR-7110-3p, которые могут влиять на экспрессию альтернативных генов. Это служит основанием для контроля экспрессии альтернативных генов, среди которых есть высоко экспрессируемые в головном мозге. Такой подход вполне оправдан на примере изученных miR-1181, miR-328-5p, miR-7110-3p в результате чего выявлены гены экспрессируемые в головном мозге и являющиеся мишенями для этих миРНК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Цель нашего исследования состояла в том, чтобы определить клинические особенности и выявить возможные механизмы и причины, приводящие к раннему неврологическому ухудшению в острой фазе ишемического инсульта 24-72 часа, включая анализ генетических маркеров инсульта (miRNA).

Для этого нами проведено проспективное когортное, по времени продольное исследование.

На первом этапе исследования методом сплошной выборки 979 больных, всех экстренно поступивших за период с 31 мая 2017г. по 31 марта 2018 г. с ОНМК в 1-е нейроинсультное отделение 7ГКБ – одного из крупных центров Казахстана, оказывающих специализированную помощь.

В результате проведенный анализ в Казахстане на примере пациентов г.Алматы позволил определить клинические особенности острейшего периода ИИ и патогенетические механизмы прогрессирования, включая особенности генетических маркеров инсульта (miRNA).

Статистическая обработка полученных результатов, с использованием современных методик позволил провести расчет и получить достоверные данные. Анализ нейронных сетей дал возможность краткосрочного прогнозирования дожития после перенесенного ИИ, а использование метода Каплан-Майера определить среднее время выживания в годах пациентов.

Прогрессирование неврологического статуса у пациентов с острым ишемическим инсультом часто коррелирует со значительной заболеваемостью и смертностью. По результатам некоторых исследований распространенность неврологического ухудшения у пациентов варьируется от 13% до 38% [231,232,234,235].

Эти исследования показали, что окклюзия крупных сосудов, недостаточная коллатерализация, прогрессирование сгустка, геморрагическая трансформация, повышенное внутричерепное давление, судороги, инфекция или уже существующие сопутствующие состояния являются потенциальными факторами, связанными с неврологическим ухудшением.

В литературе большое количество работ посвящено изучению эпидемиологических данных. Сравнительная характеристика показывает, что проведенные исследования основаны преимущественно на долгосрочном прогнозе в течение первого месяца или первого года после начала инсульта, а также посвящены прогнозированию повторных ИИ, изучению роли отдельных факторов риска.

Заслуживает внимание работа Седовой О.А. (2009), которая провела обследование 172 пациентов с ишемическим инсультом, с прогнозированием течения ишемического инсульта в течении первых 48 часов, основанных на применении суммарной, шкальной оценки. Работа отличается дизайном исследования: методологией, группой сравнения, статистическими методами анализа результатов исследования. В этом исследовании показано нарастание тяжести ишемического инсульта в остром периоде с корреляцией к уровню антител к нативному белку S100 бета.

Противоречивость результатов исследований, направленных на выявление клинических особенностей, может объясняться разными целями и задачами, размерами выборок и разным составом сравниваемых групп, а также включением разных патогенетических подтипов ИИ.

Исследований по изучению неврологического прогрессирования в первые несколько часов после начала инсульта не проводилось в условиях инсультных центров Казахстана. Это особенно касается региональных возможностей в условиях единого Республиканского клинического протокола, стандартов оказания помощи больным с ОНМК, а также одинаково оснащенных материально-технических баз инсультного центра третьего уровня.

Ранняя диагностика заболеваний является важным условием успешной терапии. К сожалению, большинство заболеваний на начальных стадиях протекают без выраженных отклонений функций организма и первичные признаки болезни можно выявить только с помощью молекулярно-генетических факторов. Поскольку циркулирующие miRNAs могут быть обнаружены несколькими методами в плазме, сыворотке или цельной крови, они стали предметом интереса как новые потенциальные диагностические и прогностические биомаркеры и инструменты для понимания их роли при ишемическом инсульте. Исследования показали, что циркулирующие miRNAs могут быть использованы в качестве диагностических и прогностических индикаторов при некоторых сердечно-сосудистых заболеваниях [74,177].

В главе 1, нами приведены все доступные исследования, в том числе в СНГ оценивающие клиническую ценность циркулирующих miRNAs в качестве диагностических или прогностических маркеров при ИИ. Результаты исследований, проведенных в данном направлении, трудно сопоставить, поскольку в них применяются разные методические и статистические подходы анализа полученных данных. Кроме того, большинство исследований направлено на поиск отдельных молекулярных мишеней заболеваний. Многие исследования показали, что циркулирующие miRNAs могут быть использованы в качестве диагностических и прогностических индикаторов при некоторых сердечно-сосудистых заболеваниях [177,182]. Заслуживают интерес работы Щегловой Н.Е. [74] о диагностической и прогностической ценности miRNAs, связанных с атеросклерозом; работа Швангирадзе Т.А. и соавт. (2019) ассоциированная с коронарным атеросклерозом и сахарным диабетом [245].

Циркулирующие miRNAs стали предметом научных изысканий как потенциальных диагностических и прогностических биомаркеров и инструментов для понимания их роли при ишемическом инсульте. Жанин И.С. и др. (2018) расширяют понимание молекулярных механизмов, вовлеченных в патогенез ишемического инсульта, профилей экспрессии мкРНК и соответствующих генов-мишеней в ткани мозга и крови крыс с фокальной ишемией мозга и больных с острым периодом инсульта для оценки возможности их использования в качестве биомаркеров ишемического повреждения, что имеет существенное значение для медицины [244].

Несмотря на эти публикации по изучению раннего неврологического ухудшения после перенесенного ИИ в остром периоде, в настоящее время отсутствует глубокое понимание механизмов, определением прогностических факторов инициирующих утяжеление этого заболевания.

В нашей стране еще не проводились подобные исследования по изучению предикторов ухудшения неврологического статуса в первые несколько часов после начала ишемического инсульта.

Мы сосредоточили наше исследование на неврологическом ухудшении в течение первых 24-72 часов пациентов с острым ишемическим инсультом, поступивших в нашу клинику после появления симптомов, поскольку эти первые часы имеют решающее значение для возможного прогрессирования зоны инфаркта.

Таким образом, за время проспективного исследования и наблюдения за когортой из 663 человек, перенесших ИИ показатели летальности составили 7,2% (48). Пациенты группы сравнения (выжившие и с летальным исходом) были сопоставимы по полу, функциональному статусу (по шкале Рэнкина), выраженности неврологических расстройств (по ШКГ и NIHSS), по патогенетическим механизмам, по факторам риска развития ИИ. Однако при рассмотрении структуры летальности пациенты были старше по возрасту. В этой группе было отмечено преобладание причин, связанных с факторами риска: артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, фибрилляция предсердия, сахарный диабет 2-го типа, хроническая обструктивная болезнь легких, хроническая болезнь почек, ТИА различия носили достоверный характер. Ранняя оценка состояния больного с ИИ, дает большую вероятность обнаружения нарастания неврологического дефицита. Неврологическое ухудшение в остром периоде в течение 24-72 часов от начала инсульта связано с повышенной смертностью. Показатели оценочных шкал NIHSS, ШКГ при поступлении продемонстрировали высокую информативность раннего неврологического ухудшения, которые позволили классифицировать больных в группу прогрессирующего течения острого инфаркта головного мозга. Нарастание неврологических симптомов в первые 24-72 часа приводило к статистически значимому ухудшению функционального исхода инсульта, оцененного с помощью шкалы Рэнкина (mRs). Летальным случаям наиболее часто (94,7%) предшествовало развитие тромбоэмболических осложнений (3,22%) с последующим развитием отека мозга (9,67%); реже – повторное ОНМК (6,45%).

Результаты нашего исследования указывают на то, что применение современных статистических методов дают возможность получить достоверные данные, позволяющие всесторонне рассмотреть клинические особенности и установить механизмы, приводящие к раннему неврологическому ухудшению в острой фазе ишемического инсульта 24-72 часа, провести анализ генетических маркеров инсульта (miRNA) ассоциированных с ИИ. Вышеизложенные подходы, а также вопросы прогнозирования возраста дожития, выживаемости и летальности пациентов в острейшем периоде ишемического инсульта и позволили нам сформулировать следующие выводы:

1. У 36,8% пациентов в острейшем периоде инсульта зарегистрировано прогрессирующее течение ишемического инсульта. В группе с летальным исходом раннее неврологическое ухудшение было у 87,5% больных, в противоположной группе у 32,8% ($p < 0.001$). Нарастание неврологических симптомов в первые 24-72 часа приводило к статистически значимому ухудшению функционального исхода инсульта, оцененного с помощью шкалы Рэнкина (mRs).
2. Статистически значимое влияние на высокие показатели смертности в остром периоде ишемического инсульта оказывало: поздняя доставка пациентов в стационар; сопутствующие нарушения при поступлении: фибрилляция предсердий, ИБС, ХОБЛ, СД2, ХБП гипергликемия, укорочение АЧТВ, размеры очага инфаркта более 5 см в диаметре. Коэффициент риска госпитальной смертности в остром периоде ишемического инсульта зависело: от частоты дыхания более 28 в минуту, расстройства сознания по ШКГ до 4-9 баллов, нарушения функции глотания. Непараметрические критерии выявили однозначную зависимость критерия «глотание» с медианой дата смерти.
3. Многофакторный регрессионный анализ показал, что пожилые люди (≥ 70 лет) в 1,5 раза чаще умирают во время госпитализации. Риск смерти увеличивается при баллах 21-42 по шкале NIHSS. Статистически значимые различия на прогноз были установлены для пациентов с атеротромботическим подтипом ИИ (0,93) в возрасте старше 65 лет с низкими показателями САД, для пациентов с кардиоэмболическим подтипом (0,90) в возрасте старше 67 лет, с высокими показателями САД.
4. Диаграмма дожития по методу Каплана-Майера в зависимости от типа ИИ показывает прогнозные средние медианы, с ДИ смертности и выживания, при этом пороговое значение возраста для атеротромботического инсульта составило 65 лет, для кардиоэмболического 69 лет; так как все данные цензурированы, то оценка дана с наибольшим временем выживания.
5. Дискриминантный анализ параметров ишемического инсульта пациентов с различной этиологией выявил превалирование смертности у пациентов с кардиоэмболической ИИ, процент смертности при дискриминантном анализе составляет 6,7%. Дискриминантный анализ позволил выявить неоднородность полученных данных для групп умер/выжил при ишемическом инсульте с разным диагнозом.
6. Машинный интеллект «нейронные сети» в обучающем примере показали 9,5% смертности от общего числа пациентов с ишемическим инсультом различной этиологии с процентом правильных ответов 97,4%, и выявлением влияния кардиальных компонентов на состояние пациентов после ИИ.
7. В обучающем примере прогрессирующего течения ИИ: прогнозируются умеренные ограничения функций жизнедеятельности у 67,5% с процентом правильных ответов 82,7%, грубые нарушения у 9,9% с процентом правильных ответов 72,1%. В тестовом примере прогнозируются умеренные

ограничения функций жизнедеятельности 68,5% с процентом правильных ответов 84,6, грубые нарушения у 5,5% с процентом правильных ответов 87,5%.

8. *ZFHX3*, кандидатный ген инсульта, является мишенью для 26 миРНК связывающихся в кодирующей области мРНК. Сайты связывания некоторых миРНК кодируют олигопептиды консервативные у разных видов животных. Ассоциации нескольких миРНК с геном мишенью *ZFHX3* можно использовать для разработки метода диагностики развития инсульта.

Практические рекомендации

1. Пациентам, перенесшим ИИ, необходимо в острейшем периоде (24-72 часов) проводить тщательный мониторинг (ШКГ, шкалы Рэнкина, NIHSS) основных факторов неврологического ухудшения обученным персоналом для снижения прогрессирования неврологических симптомов.
2. Для организации полноценной помощи больным с инсультом для выявления лиц с нарушениями функции глотания следует обратить внимание на обучение среднего медперсонала. Внедрить в работу инсультных центров углубленную клиническую оценку специалистом по глотанию (логопедом-афазиологом), а также инструментальную диагностику (видео-флюороскопическая и фибро-эндоскопические исследование).
3. Проводить обязательный мониторинг в остром периоде на уровень глюкозы и АЧТВ, учитывая корреляцию с худшими прогнозами.
4. У пациентов с АТИ первые 24 часа необходима умеренная гипертензия для сохранения церебральной перфузии, уменьшения зоны инфаркта и отека.
5. Для расчета и сравнения прогноза дожития и летальности целесообразно использовать статистические методы IBM SPSS Statistics 23,0 у пациентов после ИИ.
6. Целесообразно использование количественных характеристик взаимодействия между миРНК и их генами-мишенями как биомаркеров диагностики инсульта с использованием ассоциации миРНК и кандидатных генов: *CALM1*, *HTRA1*, *LDLR*, *MMP2*, *NOTCH3*, *SMARCA4*, *SORT1*, *ZDHHC22*, *ZFHX3*. Это может стать основой для разработки дальнейших молекулярно-лабораторных исследований ассоциаций микроРНК и генов кандидатов инсульта.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. World Health Organization. World Health Statistics 2014. (2014). 180 p.
2. Global action plan for the prevention and control of non-communicable diseases 2013-2020. P 102
3. Feigin V.L., Roth G.A., Naghavi M., Parmar P., Krishnamurthi R., Chugh S., Mensah G.A., Norrving B, Shiue I, Ng M, Estep K, Cercy K, Murray CJL, Forouzanfar MH. Global burden of stroke and risk factors in 188 countries, during 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet Neurology*. 2016;15:913–924.
4. GBD 2015 Neurological Disorders Collaborators Group. Global, regional, and national burden of neurological disorders during 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Neurol*. 16, 877–897 (2017).
5. Pearson T.A., Palaniappan L.P., Artinian N.T., Carnethon M.R., Criqui M.H., Daniels S.R., et al. American heart association guide for improving cardiovascular health at the community level, 2013 update: A scientific statement for public health practitioners, healthcare providers, and health policy makers. *Circulation*. 2013;127:1730–1753
6. Ovbiagele B., Goldstein L.B., Higashida R.T., Howard V.J., Johnston S.C., Khavjou O.A., et al. Forecasting the future of stroke in the united states: A policy statement from the american heart association and american stroke association. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2013;44:2361–2375.
7. Акшулаков С.К., Адильбеков Е.Б., Ахметжанова З.Б., Медуханова С.Г. Организация и состояние инсультной службы Республики Казахстан по итогам 2016 года // *Нейрохирургия и неврология Казахстана – 2018 - №1 (50)*
8. O'Donnell MJ, Chin SL, Rangarajan S, Xavier D, Liu L, Zhang H, et al. Global and regional effects of potentially modifiable risk factors associated with acute stroke in 32 countries (INTERSTROKE): a case-control study. *Lancet*. 2016;388:761–775
9. Weimar C, Mieck T, Buchthal J et al. Neurologic worsening during the acute phase of ischemic stroke. *Arch Neurol* 2005;62:393–7.
10. Пирадов М.А., Максимова М.Ю., Танащян М.М. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2019. - 272 с. (Серия "Библиотека врача-специалиста") - ISBN 978-5-9704-4910-3
11. Gupta SK, Bang C, Thum T. Circulating microRNAs as biomarkers and potential paracrine mediators of cardiovascular disease. *Circ Cardiovasc Genet*. 2010;3:484–488
12. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al. Heart disease and stroke statistics—2015 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2015;131:e29–e322
13. Stroke Unit Trialists' Collaboration. Organised inpatient (stroke unit) care for stroke. *Cochrane Database Syst Rev*. 2002 CD000197
14. Ovbiagele B, Goldstein LB, Higashida RT, Howard VJ, Johnston SC,

- Khavjou OA, et al. Forecasting the future of stroke in the united states: A policy statement from the American heart association and american stroke association. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2013;44:2361–2375
15. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Adams RJ, Berry JD, Brown TM, et al. Heart disease and stroke statistics—2011 update. *Circulation*. 2011;123:e18–e209.
 16. Chong J, Sacco R. Risk factors for stroke, assessing risk, and the mass and high-risk approaches for stroke prevention. In: Gorelick PB, editor. *Continuum: Stroke Prevention*. Hagerstown, Maryland: Lippincott Williams and Wilkins; 2005. pp. 18–34
 17. Krishnamurthi RV, et al. Global and regional burden of first-ever ischaemic and haemorrhagic stroke during 1990–2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet Glob Health*. 2013;1:e259–81.
 18. Feigin VL, Lawes CM, Bennett DA, Barker-Collo SL, Parag V. Worldwide stroke incidence and early case fatality reported in 56 population-based studies: a systematic review. *Lancet Neurol*. 2009;8:355–69.
 19. Feigin VL, Lawes CM, Bennett DA, Anderson CS. Stroke epidemiology: a review of population-based studies of incidence, prevalence, and case-fatality in the late 20th century. *Lancet Neurol*. 2003;2:43–53.
 20. Vangen-Lonne, A. M. et al. Declining Incidence of Ischemic Stroke: What Is the Impact of Changing Risk Factors? The Tromso Study 1995 to 2012. *Stroke* 48, 544-50 (2017).
 21. Tolonen H, et al. Do trends in population levels of blood pressure and other cardiovascular risk factors explain trends in stroke event rates? Comparisons of 15 populations in 9 countries within the WHO MONICA Stroke Project. *World Health Organization Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease*. *Stroke*. 2002;33:2367–75.
 22. Статистический сборник, Здоровье населения Республики Казахстан и деятельность организаций здравоохранения в 2017 году, МЗРК, Астана 2018г.
 23. Приказ № 104 от 9 февраля 2016 года Министра здравоохранения и социального развития РК «О создании Координационного совета по внедрению интегрированных моделей службы родовспоможения и детства, оказания медицинской помощи при остром инфаркте миокарда и травмах, управлений острыми инсультами и онкологическими заболеваниями в Республике Казахстан».
 24. Приказ № 686 от 02.08.2016 года Министерства здравоохранения и социального развития РК «О некоторых вопросах снижения смертности от инсульта и улучшения качества оказания медицинской помощи больным инсультом».
 25. Приказ № 809 от 19.10.2015 года Министерства здравоохранения и социального развития РК «Стандарт организации оказания неврологической помощи в Республике Казахстан».
 26. Государственная программа развития здравоохранения Республики

Казахстан «Денсаулық» на 2016-2019 гг. по Указу Президента Республики Казахстан от 15 января 2016 года №176.

27. Клинический протокол МЗ РК №18 от 27.12.2016г. «Ишемический инсульт».
28. Клинический протокол МЗ РК Протокол №18 от «30» ноября 2015 года «Последствия инфаркта мозга».
29. Jerrard-Dunne P, Cloud G, Hassan A, Markus HS. Evaluating the genetic component of ischemic stroke subtypes: a family history study. *Stroke*. 2003;34:1364–1369
30. Nakamura H, Strong AJ, Dohmen C, et al. Spreading depolarizations cycle around and enlarge focal ischaemic brain lesions. *Brain*. 2010;133:1994–2006.
31. Weimar C, Mieck T, Buchthal J, Ehrenfeld CE, Schmid E, Diener HC, German Stroke Study C Neurologic worsening during the acute phase of ischemic stroke. *ArchNeurol*. 2005;62(3):393–397
32. Mergenthaler P, Dirnagl U, Meisel A. Pathophysiology of stroke: Lessons from animal models. *Metabolic Brain Disease*. 2004;19:151–67
33. Sicard KM, Fisher M. Animal models of focal brain ischemia. *Exp Transl Stroke Med*. 2009;1:7.
34. Braeuninger S, Kleinschnitz C. Rodent models of focal cerebral ischemia: procedural pitfalls and translational problems. *Exp Transl Stroke Med*. 2009;1:8
35. Teasdale G, Jennett B: Assessment of coma and impaired consciousness: a practical scale. *Lancet* 1974.2:81-84
36. McBean DE, Kelly PAT. Rodent models of global cerebral ischemia: A comparison of two-vessel occlusion and four-vessel occlusion. *General Pharmacology*. 1998;30:431–4.
37. Howells DW, Porritt MJ, Rewell SS, O'Collins V, Sena ES, van der Worp HB, Traystman RJ, Macleod MR. Different strokes for different folks: the rich diversity of animal models of focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2010;30:1412–31.
38. Adib-Samii P., Brice G., Martin R.J., Markus H.S. Clinical spectrum of CADASIL and the effect of cardiovascular risk factors on phenotype: study in 200 consecutively recruited individuals. *Stroke*. 2010; 41 (4): 630–4.
39. Smith WS, Lev MH, English JD, et al. Significance of large vessel intracranial occlusion causing acute ischemic stroke and TIA. *Stroke* 2009;40:3834-3840.
40. Holmstedt CA, Turan TN, Chimowitz MI. Atherosclerotic intracranial arterial stenosis: Risk factors, diagnosis, and treatment. *Lancet Neurol* 2013;12:1106-1114.
41. Goyal M, Jadhav AP, Bonafe A, et al. Good outcome after successful recanalization is time dependent in the Swift Prime randomized controlled trial. *Stroke* 2016;47:A2
42. Dohmen C, Sakowitz OW, Fabricius M, et al. Spreading depolarizations occur in human ischemic stroke with high incidence. *Ann Neurol*. 2008;63:720–8.

43. Rahamad S O, Lennon D J, Febrario M. *et al* A CD36-dependent signaling cascade is necessary for macrophage foam cell formation. *Cell Metab* 2006;42:11–221
44. Seshadri S, Beiser A, Kelly-Hayes M, Kase CS, Au R, Kannel WB, Wolf PA. The lifetime risk of stroke - Estimates from the Framingham Study. *Stroke*. 2006;37:345–50.
45. Wolf PA, D'Agostino RB, Belanger AJ, Kannel WB. Probability of stroke: A risk profile from the framingham study. *Stroke*. 1991;22:312–318
46. D'Agostino RB, Wolf PA, Belanger AJ, Kannel WB. Stroke risk profile: Adjustment for antihypertensive medication. The framingham study. *Stroke*. 1994;25:40–43.
47. Cuadrado-Godia E, Dwivedi P, Sharma S, Ois Santiago A, Roquer Gonzalez J, Balcells M, Laird J, Turk M, Suri HS, Nicolaidis A, et al. Cerebral Small Vessel Disease: A Review Focusing on Pathophysiology, Biomarkers, and Machine Learning Strategies. *J Stroke*. 2018 Sep; 20(3):302-320.
48. Tsai H.H, Kim J.S, Jouvent E, Gurol M.E. Updates on Prevention of Hemorrhagic and Lacunar Strokes. *J Stroke*. 2018 May; 20(2):167-179.
49. Muir KW. Heterogeneity of stroke pathophysiology and neuroprotective clinical trial design. *Stroke*. 2002;33:1545–1550
50. Kim D, Lee SH, Joon Kim B, Jung KH, Yu KH, Lee BC, et al. Secondary prevention by stroke subtype: a nationwide follow-up study in 46 108 patients after acute ischaemic stroke. *Eur Heart J*. 2013;34:2760–2767.
51. White H, Boden-Albala B, Wang C, Elkind MS, Rundek T, Wright CB, et al. Ischemic stroke subtype incidence among whites, blacks, and Hispanics: the Northern Manhattan Study. *Circulation*. 2005;111:1327–1331
52. Schulz UG, Rothwell PM. Differences in vascular risk factors between etiological subtypes of ischemic stroke: importance of population-based studies. *Stroke*. 2003;34:2050–2059
53. Lovett JK, Coull AJ, Rothwell PM. Early risk of recurrence by subtype of ischemic stroke in population-based incidence studies. *Neurology*. 2004;62:569–573
54. Adams H.P.J, Bendixen B.H., Kappelle L.J., Biller J., Love B.B., Gordon D.L., Marsh E.E. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. 3rd *Stroke*. 1993 Jan; 24(1):35-41
55. Touboul, P. GÉNIC Investigators: Common carotid artery intima-media thickness and ischemic stroke subtypes: the GÉNIC case-control study / P. Touboul, A. Elbaz, C. Koller et al. // *Circulation*. – 2000. – Vol. 102. – Pp. 313-318.
56. Amarenco, P. Classification of stroke subtypes / P. Amarenco, J. Bogousslavsky, L.R. Caplan et al. // *Cerebrovascular Diseases*. – 2009. – Vol. 27, №5. – Pp. 493-501.
57. Amarenco, P. New Approach to Stroke Subtyping: The A-S-C-O (Phenotypic) Classification of Stroke / P. Amarenco, J. Bogousslavsky, L.R. Caplan et al. //

- Cerebrovascular Diseases. – 2009. – Vol. 27, №5. – Pp. 502-508
58. Ануфриев П.Л., Танашян М.М., Гулевская Т.С., Аблякимов Р.Э., Гнедовская Е.В. Особенности атеросклероза церебральных артерий и патоморфологии инфарктов головного мозга при сахарном диабете 2 типа.// *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* – 2015. – Т. 9, №3. – С. 4-9.
 59. Bogiatzi, C. SPARKLE (Subtypes of Ischaemic Stroke Classification System), Incorporating Measurement of Carotid Plaque Burden: A New Validated Tool for the Classification of Ischemic Stroke Subtypes / C. Bogiatzi, T. Wannarong, A.I. McLeod et al. // *Neuroepidemiology.* – 2014. – Vol. 42. – Pp. 243-251.
 60. Arsava EM, Helenius J, Avery R, Sorgun MH, Kim GM, Pontes-Neto OM, Park KY, Rosand J, Vangel M, Assessment of the Predictive Validity of Etiologic Stroke Classification. *JAMA Neurol.* 2017 Apr 1; 74(4):419-426.
 61. Astrup J, Siesjo BK, Symon L. Thresholds in cerebral ischemia - the ischemic penumbra. *Stroke.* 1981a;12:723–725.
 62. Astrup J, Sorensen PM, Sorensen HR. Inhibition of cerebral oxygen and glucose consumption in the dog by hypothermia, pentobarbital, and lidocaine. *Anesthesiology.* 1981b;55:263–268
 63. Rivers CS, Wardlaw JM, Armitage PA, Bastin ME, Carpenter TK, Cvorov V, Hand PJ, Dennis MS. Do acute diffusion- and perfusion-weighted MRI lesions identify final infarct volume in ischemic stroke? *Stroke.* 2006;37:98–104
 64. Kleindorfer D, Kissela B, Schneider A, Woo D, Khoury J, Miller R, Alwell K, Gebel J, Szaflarski J, Pancioli A, Jauch E, Moomaw C, Shukla R, Broderick JP. Eligibility for recombinant tissue plasminogen activator in acute ischemic stroke: a population-based study. *Stroke.* 2004;35:e27–29
 65. Lo E.H, Dalkara T, Moskowitz M.A. Mechanisms, challenges and opportunities in stroke. *Nat Rev Neurosci.* -2003. Vol.4. -P.399–415.
 66. Moskowitz M.A., Lo E.H., Iadecola C. The science of stroke: mechanisms in search of treatments. *Neuron.* -2010. Vol.67. -P.181-198.
 67. Hacke W, Kaste M, Bluhmki E, Brozman M, Dávalos A, Guidetti D, et al. Thrombolysis with alteplase 3 to 4.5 hours after acute ischemic stroke. *N Engl J Med.* 2008; 359:1317–1329.
 68. Goyal M, Menon BK, van Zwam WH, Dippel DW, Mitchell PJ, Demchuk AM, et al. Endovascular thrombectomy after largevessel ischaemic stroke: a meta-analysis of individual patient data from five randomised trials. *Lancet.* 2016; 387:1723–1731
 69. Lees KR, Emberson J, Blackwell L, Bluhmki E, Davis SM, Donnan GA, et al. Effects of alteplase for acute stroke on the distribution of functional outcomes: a pooled analysis of 9 trials. *Stroke.* 2016; 47:2373–2379.
 70. Eschenfelder C.C, Krug R, Yusofi A.F, Meyne J.K, Herdegen T, Koch A, Zhao Y, Carl U.M, Deuschl G. Neuroprotection by oxygen in acute transient focal cerebral ischemia is dose dependent and shows superiority of hyperbaric

- oxygenation. *Cerebrovasc Dis.* 2008;25:193–201
71. Liu S, Levine SR. The continued promise of neuroprotection for acute stroke treatment. *Journal of Experimental Stroke & Translational Medicine.* 2008;1:1–8.
 72. Winn HR, Rubio R, Berne RM. Brain adenosine production in the rat during 60 seconds of ischemia. *Circ Res.* 1979;45:486–492.
 73. Han J.L, Kollmar R, Tobyas B, Schwab S. Inhibited glutamate release by granulocyte-colony stimulating factor after experimental stroke. *Neurosci Lett.* 2008;432:167–169
 74. Щеглова Н.Е. МикроРНК и полиморфизм генов их биогенеза в патогенезе атеросклероза: дис. ... канд. мед. наук: 14.03.03 / Щеглова Наталья Евгеньевна. - Казань, 2015.- 91 с.
 75. Volvert M.L, Rogister F., Moonen G., Malgrange B., Nguyen L. MicroRNAs tune cerebral cortical neurogenesis. *Cell Death Differentiation.*- 2012.- Vol.19,N10.- P.1573–1581.
 76. Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons. *Physiol Rev.* 1999;79:1431–568.
 77. Mehta SL, Manhas N, Rahubir R. Molecular targets in cerebral ischemia for developing novel therapeutics. *Brain Research Reviews.* 2007;54:34–66.
 78. Bruno V, Battaglia G, Copani A, et al. Metabotropic glutamate receptor subtypes as targets for neuroprotective drugs. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2001;21:1013–33.
 79. Ginsberg MD. Current status of neuroprotection for cerebral ischemia: synaptic overview. *Stroke.* 2009;40:S111–14.
 80. O’Collins VE, Macleod MR, Donnan GA, Horkey LL, van der Worp BH, Howells DW. 1,026 experimental treatments in acute stroke. *Ann Neurol.* 2006;59:467–77.
 81. O’Collins VE, Macleod MR, Cox SF, et al. Preclinical drug evaluation for combination therapy in acute stroke using systematic review, meta-analysis, and subsequent experimental testing. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2011;31:962–75.
 82. Powers WJ, Derdeyn CP, Biller J, et al. 2015 American Heart Association/American Stroke Association focused update of the 2013 guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke regarding endovascular treatment: A guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 2015;46:3020-3035.
 83. Saeed SA, Shad KF, Saleem T, Javed F, Khan MU. Some new prospects in the understanding of the molecular basis of the pathogenesis of stroke. *Exp Brain Res.* -2007.Vol.182.P.1–10
 84. Lo EH, Dalkara T, Moskowitz MA. Mechanisms, challenges and opportunities in stroke. *Nat Rev Neurosci.* 2003;4:399–415.
 85. Kroemer G, Reed JC. Mitochondrial control of cell death. *Nat Med.* 2000;6:513–19.

86. Pallast S, Arai K, Wang X, Lo EH, van Leyen K. 12/15-Lipoxygenase targets neuronal mitochondria under oxidative stress. *J Neurochem.* 2009;111:882–9.
87. Kuzhandaivel A, Nistri A, Mladinic M. Kainate-mediated excitotoxicity induces neuronal death in the rat spinal cord *in vitro* via a PARP-1 dependent cell death pathway (Parthanatos) *Cell Mol Neurobiol.* 2010;30:1001–12
88. Щеглова Н. Е. МикрорНК и полиморфизм генов их биогенеза в патогенезе атеросклероза. Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. 2015г.
89. Sen N, Hara MR, Ahmad AS, et al. GOSPEL: a neuroprotective protein that binds to GAPDH upon S-nitrosylation. *Neuron.* 2009;63:81–91.
90. Qin AP, Zhang HL, Qin ZH. Mechanisms of lysosomal proteases participating in cerebral ischemia-induced neuronal death. *Neurosci Bull.* 2008;24:117–23
91. Takano T, Tian GF, Peng W, et al. Cortical spreading depression causes and coincides with tissue hypoxia. *Nat Neurosci.* 2007;10:754–62
92. Dreier JP. The role of spreading depression, spreading depolarization and spreading ischemia in neurological disease. *Nat Med.* 2011;17:439–47.
93. Takano T, Tian GF, Peng W, et al. Cortical spreading depression causes and coincides with tissue hypoxia. *Nat Neurosci.* 2007;10:754–62.
94. Maagdenberg A.M, Pietrobon D, Pizzorusso T, et al. A Cacna1a knockin migraine mouse model with increased susceptibility to cortical spreading depression. *Neuron.* 2004;41:701–10.
95. De Fusco M, Marconi R, Silvestri L, et al. Haploinsufficiency of ATP1A2 encoding the Na⁺/K⁺ pump alpha2 subunit associated with familial hemiplegic migraine type 2. *Nat Genet.* 2003;33:192–6.
96. Eikermann-Haerter K, Yuzawa I, Dilekoz E, Joutel A, Moskowitz MA, Ayata C. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy syndrome mutations increase susceptibility to spreading depression. *Ann Neurol.* 2011;69:413–8.
97. Shin HK, Dunn AK, Jones PB, Boas DA, Moskowitz MA, Ayata C. Vasoconstrictive neurovascular coupling during focal ischemic depolarizations. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2006;26:1018–30.
98. Bandera E, Botteri M, Minelli C, Sutton A, Abrams KR, Latronico N. Cerebral blood flow threshold of ischemic penumbra and infarct core in acute ischemic stroke: a systematic review. *Stroke.*-2006.Vol.37.P.1334–1339.
99. Baron JC. Mapping the ischaemic penumbra with PET: implications for acute stroke treatment. *Cerebrovasc Dis.* -1999.Vol.9.P.193–201.
100. Jung S, Gilgen M, Slotboom J, El-Koussy M, Zubler C, Kiefer C, et al. Factors that determine penumbral tissue loss in acute ischaemic stroke. *Brain.*-2013.Vol.136.N12.P.3554–3560.
101. Nogueira RG, Jadhav AP, Haussen DC, et al. Thrombectomy 6 to 24 hours after stroke with a mismatch between deficit and infarct. *N Engl J Med* 2017;378:11-21.
102. Albers GW, Lansberg MG, Kemp S, et al. A multicenter randomized controlled trial of endovascular therapy following imaging evaluation for

- ischemic stroke (DEFUSE 3). *Int J Stroke* 2017;12:896-905.
103. Goyal M, Jadhav AP, Bonafe A, et al. Analysis of workflow and time to treatment and the effects on outcome in endovascular treatment of acute ischemic stroke: Results from the SWIFT PRIME randomized controlled trial. *Radiology* 2016;279:888-897.
 104. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S) *Lancet*. 1994;344:1383–1389.
 105. Tsivgoulis G., Safouris A., Kim D.E., Alexandrov A.V. Recent Advances in Primary and Secondary Prevention of Atherosclerotic Stroke. *J Stroke*. 2018 May; 20(2): 145–166.
 106. Kim JS, Nah HW, Park SM, Kim SK, Cho KH, Lee J, et al. Risk factors and stroke mechanisms in atherosclerotic stroke: intracranial compared with extracranial and anterior compared with posterior circulation disease. *Stroke*. 2012;43:3313–3318.
 107. Eckel RH, Jakicic JM, Ard JD, de Jesus JM, Houston Miller N, Hubbard VS, et al. 2013 AHA/ACC guideline on lifestyle management to reduce cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2014;129(25 Suppl 2):S76–S99.
 108. Garber AJ, Abrahamson MJ, Barzilay JI, Blonde L, Bloomgarden ZT, Bush MA, et al. Consensus statement by the American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology on the comprehensive type 2 diabetes management algorithm: 2018 executive summary. *Endocr Pract*. 2018;24:91–120.
 109. ACCORD Study Group, Cushman WC, Evans GW, Byington RP, Goff DC, Jr, Grimm RH, Jr, et al. Effects of intensive bloodpressure control in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 2010;362:1575–1585.
 110. D’Agostino RB Sr, Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart
 111. Goff DC, Jr, Lloyd-Jones DM, Bennett G, Coady S, D’Agostino RB, Gibbons R, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2014;129(25 Suppl 2):S49–S73.
 112. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, Eckel RH, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(25 Pt B):2889–2934.
 113. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, et al. Executive summary: Heart disease and stroke statistics--2012 update: A report from the american heart association. *Circulation*. 2012;125:188–197.

114. Kissela BM, Khoury JC, Alwell K, Moomaw CJ, Woo D, Adeoye O, et al. Age at stroke: Temporal trends in stroke incidence in a large, biracial population. *Neurology*. 2012;79:1781–1787
115. George MG, Tong X, Kuklina EV, Labarthe DR. Trends in stroke hospitalizations and associated risk factors among children and young adults, 1995-2008. *Ann Neurol*. 2011;70:713–721.
116. Asch CJ, Luitse MJ, Rinkel GJ, van der Tweel I, Algra A, Klijn CJ. Incidence, case fatality, and functional outcome of intracerebral haemorrhage over time, according to age, sex, and ethnic origin: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol*. 2010;9:167–176.
117. Dreier JP, Woitzik J, Fabricius M, et al. Delayed ischaemic neurological deficits after subarachnoid haemorrhage are associated with clusters of spreading depolarizations. *Brain*. 2006;129:3224–37.
118. Kapral MK, Fang J, Hill MD, Silver F, Richards J, Jaigobin C, et al. Sex differences in stroke care and outcomes: Results from the registry of the canadian stroke network. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2005;36:809–814
119. Lackland DT, Elkind MS, D’Agostino R Sr, Dhamoon MS, Goff DC, Jr, Higashida RT, et al. Inclusion of stroke in cardiovascular risk prediction instruments: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2012;43:1998–2027
120. Minnerup J, Wersching H, Brokinkel B, Dziewas R, Heuschmann PU, Nabavi DG, Ringelstein EB, Schabitz WR, Ritter MA. The impact of lesion location and lesion size on poststroke infection frequency. *J Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2010;81:198–202
121. Reeves MJ, Fonarow GC, Zhao X, Smith EE, Schwamm LH, Get With TheGuidelines-Stroke Steering C et al. Quality of care in women with ischemic stroke in the gwtg program. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2009;40:1127–1133
122. Seshadri S, Beiser A, Pikula A, Himali JJ, Kelly-Hayes M, Debette S, et al. Parental occurrence of stroke and risk of stroke in their children: The framingham study. *Circulation*. 2010;121:1304–1312
123. Schulz UG, Flossmann E, Rothwell PM. Heritability of ischemic stroke in relation to age, vascular risk factors, and subtypes of incident stroke in population-based studies. *Stroke*. 2004;35:819–824.
124. Touze E, Rothwell PM. Sex differences in heritability of ischemic stroke: A systematic review and meta-analysis. *Stroke*. 2008;39:16–23.
125. Adams H.P., Zoppo G., Alberts M.J., Bhatt D.L., Brass L., Furlan A., Grubb R.L., Higashida R.T., Jauch E.C., Kidwell C., et al. Guidelines for the early management of adults with ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association. *Circulation*. 2007 May 22; 115(20):e 478-534.
126. Powers W.J., Rabinstein A.A., Ackerson T., Adeoye O.M., Bambakidis N.C., Becker K., Biller J., Brown M., Demaerschalk B.M., Hoh B., et al. Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke: A

- Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2018; 49(3):e46-e110.
127. Новожилова М.А., Алексеева Т.М. Прогнозирование ранних исходов гемморагических инсультов методом анализа нейронных сетей. // Вестник Санкт-Петербургского Университета Медицина. – 2010г. - №2 – с.121-126. ISSN: 1818-2909
 128. Deng YZ, Reeves MJ, Jacobs BS, et al. IV tissue plasminogen activator use in acute stroke: experience from a statewide registry. *Neurology*. 2006;66(3):306–312
 129. Del Zoppo GJ, Saver JL, Jauch EC, Adams HP., Jr. Expansion of the time window for treatment of acute ischemic stroke with intravenous tissue plasminogen activator: a science advisory from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2009;40(8):2945–2948
 130. Kase CS, Furlan AJ, Wechsler LR, et al. Cerebral hemorrhage after intra-arterial thrombolysis for ischemic stroke: the PROACT II trial. *Neurology*. 2001;57(9):1603–1610
 131. Ovbiagele B. National sex-specific trends in hospital-based stroke rates. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2010. doi:10.1016
 132. Johnston SC, Fayad P, Gorelick PB, et al. Prevalence and knowledge of transient ischemic attacks among us adults. *Neurology*. 2003;60:1429–1434.
 133. Yusuf S, Reddy S, Ounpuu S, Anand S. Global burden of cardiovascular diseases: part I: general considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact of urbanization. *Circulation*. 2001;104:2746–53
 134. Osawa A, Maeshima S, Tanahashi N. Water-swallowing test: Screening for aspiration in stroke patients. *Cerebrovasc Dis*. 2013;35:276–81
 135. Brodsky M.B, Suiter D.M, González-Fernández M, Michtalik H.J, Frymark T.B, Venediktov R, Schooling T. Screening Accuracy for Aspiration Using Bedside Water Swallow Tests: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Chest*. 2016 Jul; 150(1):148-63.
 136. Siegler JE, Boehme AK, Kumar AD, Gillette MA, Albright KC, Martin-Schild S. What Change in the National Institutes of Health Stroke Scale Should Define Neurologic Deterioration in Acute Ischemic Stroke? *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2012 Jun 21.
 137. Law MR, Morris JK, Wald NJ. Use of blood pressure lowering drugs in the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of 147 randomized trials in the context of expectations from prospective epidemiological studies. *BMJ*. 2009; 338 :b1665
 138. Sharma M, Hakim AM. The management of hypertension for primary stroke prevention: a proposed approach. *Int. J. Stroke*. 2011; 6 (2):144–149
 139. Arguedas JA. Blood pressure targets: are clinical guidelines wrong? *Curr. Opin. Cardiol*. 2010; 25(4):350–354.
 140. Arguedas JA. Blood pressure targets: are clinical guidelines wrong? *Curr. Opin. Cardiol*. 2010; 25(4):350–354.
 141. Arguedas JA, Perez MI, Wright JM. Treatment blood pressure targets for

- hypertension. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2009; 3 :CD004349.
142. Goldstein LB, Bushnell CD, Adams RJ, et al. Guidelines for the primary prevention of stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke.* 2011; 42 (2):517–584.
 143. Sharma M, Hakim AM. The management of hypertension for primary stroke prevention: a proposed approach. *Int. J. Stroke.* 2011; 6 (2):144–149
 144. Cushman WC, Evans GW, Byington RP, et al. Effects of intensive blood-pressure control in Type 2 diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 2010; 362 (17):1575–1585.
 145. Bangalore S, Kumar S, Lobach I, Messerli FH. Blood pressure targets in subjects with Type 2 diabetes mellitus/impaired fasting glucose: observations from traditional and bayesian random-effects meta-analyses of randomized trials *Circulation.* 2011; 123 (24):2799–2810.
 146. Ovbiagele B, Diener HC, Yusuf S, et al. Level of systolic blood pressure within the normal range and risk of recurrent stroke. *JAMA.* 2011; 306 (19):2137–2144.
 147. Cooper-DeHoff RM, Gong Y, Handberg EM, et al. Tight blood pressure control and cardiovascular outcomes among hypertensive patients with diabetes and coronary artery disease. *JAMA.* 2010; 304(1):61–68
 148. Mancia G, Schumacher H, Redon J, et al. Blood pressure targets recommended by guidelines and incidence of cardiovascular and renal events in the Ongoing Telmisartan Alone and in Combination With Ramipril Global Endpoint Trial (ONTARGET) *Circulation.* 2011; 124 (16):1727–1736
 149. Thompson AM, Hu T, Eshelbrenner CL, Reynolds K, He J, Bazzano LA. Antihypertensive treatment and secondary prevention of cardiovascular disease events among persons without hypertension: a metaanalysis. *JAMA.* 2011; 305 (9):913–922
 150. Bejan-Angoulvant T, Saadatian-Elahi M, Wright JM, et al. Treatment of hypertension in patients 80 years and older: the lower the better? A meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Hypertens.* 2010;28 (7):1366–1372
 151. Messerli FH, Panjrath GS. The J-curve between blood pressure and coronary artery disease or essential hypertension: exactly how essential? *J. Am. Coll. Cardiol.* 2009; 54 (20):1827–1834.
 152. Chrysant SG, Chrysant GS. Effectiveness of lowering blood pressure to prevent stroke versus to prevent coronary events. *Am. J. Cardiol.* 2010; 106 (6):825–829.
 153. Sacco RL., et al. Guidelines for Prevention of Stroke in Patients With Ischemic Stroke or Transient Ischemic Attack: A Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association Council on Stroke. *Stroke.* 2006; 37; 577-561
 154. Vrhovec B., et al. *Interna medicina, treće promijenjeno i dopunjeno izdanje, Naklada Ljevak Zagreb, 2003. godine.* 1616-1618, 488-490
 155. Tsivgoulis G, Apostolidou N, Giannopoulos S et al. Hemodynamic causes of

- deterioration in acute ischemic stroke. *Perspect Med* 2012;1:177–84
156. Nacu A, Bringeland GH, Khanevski A, Thomassen L, WajeAndreassen U, Naess H. Early neurological worsening in acute ischaemic stroke patients. *Acta Neurologica Scandinavica* 2016; 133: 25–29.
 157. Barker-Collo S, Bennett DA, Krishnamurthi RV, Parmar P, Feigin VL, Naghavi M, Forouzanfar MH, Johnson CO, Nguyen G, Mensah GA, Vos T, Murray CJ, Roth GA, GBD 2013 Writing Group; GBD 2013 Stroke Panel Experts Group Sex differences in stroke incidence, prevalence, mortality and disability-adjusted life years: results from the Global Burden of Disease Study 2013. *Neuroepidemiology*. 2015;45:203–214
 158. Vanassche T, Lauw MN, Eikelboom JW, Healey JS, Hart RG, Alings M, et al. Risk of ischaemic stroke according to pattern of atrial fibrillation: analysis of 6563 aspirin-treated patients in ACTIVE-A and AVERROES. *Eur Heart J*. 2015;36:281–287a
 159. Heijman J, Voigt N, Nattel S, Dobrev D. Cellular and molecular electrophysiology of atrial fibrillation initiation, maintenance, and progression. *Circ Res*. 2014;114:1483–1499
 160. January CT, Wann LS, Alpert JS, Calkins H, Cigarroa JE, Cleveland JC Jr, et al. 2014 AHA/ACC/HRS guideline for the management of patients with atrial fibrillation. *Journal of the American College of Cardiology*. 2014;64(21):2246–80.
 161. Chugh SS, Havmoeller R, Narayanan K, Singh D, Rienstra M, Benjamin EJ, et al. Worldwide epidemiology of atrial fibrillation: a Global Burden of Disease 2010 Study. *Circulation*. 2014;129:837–847
 162. Chong J, Sacco R. Risk factors for stroke, assessing risk, and the mass and high-risk approaches for stroke prevention. In: Gorelick PB, editor. *Continuum: Stroke Prevention*. Hagerstown, Maryland: Lippincott Williams and Wilkins; 2005. pp. 18–34.
 163. Yin GS, Howard DP, Paul NL, Li L, Luengo-Fernandez R, Bull LM, et al. Age-specific incidence, outcome, cost, and projected future burden of atrial fibrillation-related embolic vascular events: A population-based study. *Circulation*. 2014;130:1236–1244
 164. Brambatti M, Connolly SJ, Gold MR, Morillo CA, Capucci A, Muto C, et al. Temporal relationship between subclinical atrial fibrillation and embolic events. *Circulation*. 2014;129:2094–2099
 165. Kamel H, Elkind MS, Bhave PD, Navi BB, Okin PM, Iadecola C, et al. Paroxysmal supraventricular tachycardia and the risk of ischemic stroke. *Stroke*. 2013;44:1550–1554
 166. Early recurrence in paroxysmal versus sustained atrial fibrillation in patients with acute ischaemic stroke. Paciaroni M, Angelini F, Agnelli G, Tsivgoulis G, Furie KL, Tadi P, Becattini C, Falocci N, Zedde M, Abdul-Rahim AH, et al. *Eur Stroke J*. 2019 Mar; 4(1):55-64. Epub 2018 Jul 25.
 167. Disertori M, Quintarelli S, Grasso M, Pilotto A, Narula N, Favalli V, et al. Autosomal recessive atrial dilated cardiomyopathy with standstill evolution

- associated with mutation of natriuretic peptide precursor a. *Circulation. Cardiovascular genetics*. 2013;6:27–36
168. O'Neal WT, Kamel H, Kleindorfer D, Judd SE, Howard G, Howard VJ, et al. Premature atrial contractions on the screening electrocardiogram and risk of ischemic stroke: The reasons for geographic and racial differences in stroke study. *Neuroepidemiology*. 2016;47:53–58
 169. Kamel H, O'Neal WT, Okin PM, Loehr LR, Alonso A, Soliman EZ. Electrocardiographic left atrial abnormality and stroke subtype in the atherosclerosis risk in communities study. *Ann Neurol*. 2015;78:670–678
 170. Okin PM, Kamel H, Kjeldsen SE, Devereux RB. Electrocardiographic left atrial abnormalities and risk of incident stroke in hypertensive patients with electrocardiographic left ventricular hypertrophy. *J Hypertens*. 2016;34:1831–1837.
 171. Kamel H, Okin PM, Elkind MS, Iadecola C. Atrial fibrillation and mechanisms of stroke: Time for a new model. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2016;47:895–900.
 172. Longstreth WT, Jr., Kronmal RA, Thompson JL, Christenson RH, Levine SR, Gross R, et al. Amino terminal pro-b-type natriuretic peptide, secondary stroke prevention, and choice of antithrombotic therapy. *Stroke*. 2013;44:714–719.
 173. Arnao V, Acciarresi M, Cittadini E, Caso V. Stroke incidence, prevalence and mortality in women worldwide. *Int J Stroke*. 2016 Apr; 11(3):287-301
 174. Marzolini S, Danells C , Oh PI , et al . Feasibility and Effects of Cardiac Rehabilitation for Individuals after Transient Ischemic Attack. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2016;25:2453–63.
 175. Loh E, Sutton MS, Wun CC, et al. Ventricular dysfunction and the risk of stroke after myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1997;336:251–257
 176. Bruce Ovbiagele Mai N. Nguyen-Huynh Stroke Epidemiology: Advancing Our Understanding of Disease Mechanism and Therapy *Neurotherapeutics*. 2011 Jul; 8(3): 319–329.
 177. Кукава Н.Г.(2018) Ассоциация полиморфизмов в белок-кодирующих генах и уровня экспрессии микроРНК с развитием инфаркта миокарда и долгосрочный прогноз после инфаркта миокарда по данным проведенного генетического анализа: Дис....к.м.н.:14.01.05 / Кукава Нино Гуриеловна.-Москва,2017.- 91с.
 178. Lackland DT, Roccella EJ, Deutsch AF, Fornage M, George MG, Howard G, Kissela BM, Kittner SJ, Lichtman JH, Lisabeth LD, Schwamm LH, Smith EE, Towfighi A. Factors influencing the decline in stroke mortality: a statement from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2014; 45:315-353
 179. Ohira T, Shahar E, Chambless LE, Rosamond WD, Mosley TH, Jr, Folsom AR. Risk factors for ischemic stroke subtypes: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Stroke*. 2006;37:2493–2498.
 180. Janghorbani M, Hu FB, Willett WC, Li TY, Manson JE, Logroscino G, et al. Prospective study of type 1 and type 2 diabetes and risk of stroke subtypes: the Nurses' Health Study. *Diabetes Care*. 2007;30:1730–1735.
 181. Willey J.Z., Moon Y.P., Kahn E., Rodriguez C.J., Rundek T., Cheung K., et

- al. Population attributable risks of hypertension and diabetes for cardiovascular disease and stroke in the northern Manhattan study. *J Am Heart Assoc.* 2014;3:e001106. <https://doi.org/10.1161/JAHA.114.001106>
182. Толмачева А.А., Ложкина Н.Г., Козик В.А., и др. Новые генетические маркеры риска развития инфаркта миокарда у больных сахарным диабетом 2 типа // *Современные проблемы науки и образования.* – 2018. – № 3.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27692>
 183. Wolf PA, D'Agostino RB, Belanger AJ, Kannel WB. Probability of stroke: A risk profile from the framingham study. *Stroke.* 1991;22:312–318
 184. D'Agostino RB, Wolf PA, Belanger AJ, Kannel WB. Stroke risk profile: Adjustment for antihypertensive medication. The framingham study. *Stroke.* 1994;25:40–43.
 185. MacClellan LR, Giles W, Cole J, et al. Probable migraine with visual aura and risk of ischemic stroke: The stroke prevention in young women study. *Stroke.* 2007;38:2438–2445.
 186. Lee C., Folsom A., Blair S.: Physical activity and stroke risk: a meta-analysis. *Stroke* 2003;34:2475–2481.
 187. Thompson PD , Buchner D , Pina IL , et al . Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease: a statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity). *Circulation* 2003;107:3109–16.
 188. English C , Manns PJ , Tucak C , et al . Physical activity and sedentary behaviors in people with stroke living in the community: a systematic review. *Phys Ther* 2014;94:185–96
 189. Chong Do Lee, Aaron R. Folsom, Steven N. Blair. Physical Activity and Stroke Risk A Meta-Analysis Originally published 18 Sep 2003 *Stroke.* 2003; 34: 2475–2481
 190. Billinger S.A , Arena R , Bernhardt J , et al . Physical activity and exercise recommendations for stroke survivors: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 2014;45:2532–53
 191. Kernan WN , Ovbiagele B , Black HR , et al . Guidelines for the Prevention of Stroke in Patients With Stroke and Transient Ischemic Attack: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 2014;45:2160–236.
 192. Lackland DT, Roccella EJ, Deutsch AF, Fornage M, George MG, Howard G, Kissela BM, Kittner SJ, Lichtman, JH, Lisabeth LD, Schwamm LH, Smith EE, Towfighi A. American heart association stroke council; council on cardiovascular and stroke nursing; council on quality of care and outcomes research; council on functional genomics and translational biology; factors influencing the decline in stroke mortality: a statement from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke.* 2014; 45 (1):315-353.
 193. WHO (2011a). European action plan to reduce harmful use alcohol, 2012–2020 (Resolution EUR / RC61 / 13, 2011).

194. WHO (2012). Health 2020: Basics of European Policy in Support of Action the entire state and society in the interests of health and well-being (2012). 62nd session of the WHO Regional Committee for Europe, Malta, 10–13 September 2012
195. WHO (2013a). Resolution WHA66.10 «Follow up in context Political Declaration of the High-level Meeting of the General Assembly on prevention and control of noncommunicable diseases» 66 World Health Assembly, May 20–28, 2013
196. WHO (2013) European Ministerial Conference on the Prevention and noncommunicable diseases in the context of policy provisions Health 2020. Ashgabat Declaration on Prevention and Control noncommunicable diseases in the context of health policies 2020. Ashgabat, Turkmenistan, December 3-4, 2013
197. WHO (2008). Prevention of noncommunicable diseases in the workplace with using diet and physical activity: A WHO / World Health Report Economic Forum on a joint event
198. M. Traylor, M. Farrall, E. G. Holliday et al., “Genetic risk factors for ischaemic stroke and its subtypes (the METASTROKE collaboration): a meta-analysis of genome-wide association studies,” *The Lancet Neurology*, 2012 vol. 11, 951–962,
199. Matarin M, Brown WM, Singleton A, Hardy JA, Meschia JF, investigators I Whole genome analyses suggest ischemic stroke and heart disease share an association with polymorphisms on chromosome 9p21. *Stroke*. 2008;39:1586–1589.
200. Gretarsdottir S, Thorleifsson G, Manolescu A, Styrkarsdottir U, Helgadottir A, Gschwendtner A, et al. Risk variants for atrial fibrillation on chromosome 4q25 associate with ischemic stroke. *Annals of neurology*. 2008;64:402–409.
201. Bevan S, Traylor M, Adib-Samii P, Malik R, Paul NL, Jackson C, et al. Genetic heritability of ischemic stroke and the contribution of previously reported candidate gene and genomewide associations. *Stroke*. 2012;43:3161–316
202. Muino E, Krupinski J, Carrera C, et al. An Inflammatory Polymorphisms Risk Scoring System for the Differentiation of Ischemic Stroke Subtypes. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:569714.
203. Matarin M, Brown WM, Singleton A, Hardy JA, Meschia JF, investigators I Whole genome analyses suggest ischemic stroke and heart disease share an association with polymorphisms on chromosome 9p21. *Stroke*. 2008;39:1586–1589.
204. Seidell JC. Time trends in obesity: an epidemiological perspective. *Hormone and Metabolic Research*, 1997, 29(4):155–158. 10. Yusuf S et al. Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. *Lancet*, 2005, 366(9497):1640–1649.
205. European Charter on Counteracting Obesity. Copenhagen, WHO Regional Office for Europe, 2006 ([http:// www.euro.who.int/Document/E89567.pdf](http://www.euro.who.int/Document/E89567.pdf),

accessed 23 May 2007).

206. Tirschwell DL, Smith NL, Heckbert SR, Lemaitre RN, Longstreth WT, Jr., Psaty BM. Association of cholesterol with stroke risk varies in stroke subtypes and patient subgroups. *Neurology*. 2004;63:1868–1875.
207. Di Angelantonio E, Sarwar N, Perry P, et al. The main lipids, apolipoproteins and the risk of vascular diseases. *Jama*. 2009; 302 (18): 1993-2000
208. Canoui-Poitrine F, Luc G, Bard JM, et al. The relative contribution of lipids and apolipoproteins to infectious ischemic heart disease and ischemic stroke: a study of PRIME. *Cerebrovasc. Dis.* 2010; 30 (3): 252-259
209. Imamura T, Doi Y, Arima H, et al. LDL cholesterol and the development of stroke subtypes and coronary heart disease in the general Japanese population: Hisayama study. *Stroke*. 2009; 40 (2): 382-388.
210. Atiros V.G., Tsomalos K., Karadziannis A., Verzhbitsky A.S., Mikhailidis D.P. Aggressive treatment with statins, very low serum cholesterol levels and hemorrhagic stroke: is there an association? *Tech. OPIN. Cardiol.* 2010; 25 (4): 406-410.
211. Genser B, Marz W. Low-density lipoprotein cholesterol, statins and cardiovascular events: a meta-analysis. *Clin. Residence Cardiol.* 2006; 95 (8): 393-404.
212. Baigent C, Blackwell L, Emberson J, et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomized studies. *Lancet*. 2010; 376 (9753): 1670-1681.
213. Jun M, Foote C, Lv J, et al. The effect of fibrates on cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2010; 375 (9729): 1875-1884.
214. Saha SA, Arora RR. Fibrates in the prevention of cardiovascular diseases in patients with type 2 diabetes mellitus is a combined meta-analysis of randomized, placebo-controlled clinical trials. *Int. J. Cardiol.* 2009; 141 (2): 157-166.
215. Cui R, Iso H, Yamagishi K, Saito I, Kokubo Y, Inoue M, et al. High serum total cholesterol levels is a risk factor of ischemic stroke for general Japanese population: The jphc study. *Atherosclerosis*. 2012;221:565–569.
216. Imamura T, Doi Y, Arima H, Yonemoto K, Hata J, Kubo M, et al. Ldl cholesterol and the development of stroke subtypes and coronary heart disease in a general Japanese population: The hisayama study. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2009;40:382–388.
217. Ohira T., Schreiner P.J., Morrisett J.D., Chambless L.E., Rosamond W.D., Folsom A.R. Lipoprotein (a) and incident ischemic stroke: The atherosclerosis risk in communities (aric) study. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2006;37:1407–1412.
218. Boden-Albala B, Kargman DE, Lin IF, Paik MC, Sacco RL, Berglund L. Increased stroke risk and lipoprotein(a) in a multiethnic community: The northern Manhattan stroke study. *Cerebrovascular diseases (Basel, Switzerland)* 2010;30:237–243.
219. Tirschwell D.L, Smith N.L, Heckbert S.R, Lemaitre RN, Longstreth WT, Jr.,

- Psaty BM. Association of cholesterol with stroke risk varies in stroke subtypes and patient subgroups. *Neurology*. 2004;63:1868–1875.
220. Amarenco P., Labreuche J., Elbaz A., Touboul P.J., Driss F., Jaillard A., et al. Blood lipids in brain infarction subtypes. *Cerebrovascular diseases (Basel, Switzerland)* 2006;22:101–108.
221. Kernan W.N., Ovbiagele B., Black H.R., Bravata D.M., Chimowitz M.I., Ezekowitz M.D., et al. Guidelines for the prevention of stroke in patients with stroke and transient ischemic attack: A guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2014;45:2160–2236
222. Nadareishvili Z.G., Rothwell P.M., Beletsky V., et al Long-term Risk of Stroke and Other Vascular Events in Patients With Asymptomatic Carotid Artery Stenosis. *Arch Neurol*. 2002;59(7):1162-1166.
223. Mohammed N, Anand SS. Prevention of disabling and fatal strokes by successful carotid endarterectomy in patients without recent neurological symptoms: Randomized controlled trial. Mrc asymptomatic carotid surgery trial (acst) collaborative group. *Lancet*. 2004;363:1491–502.
224. Furie KL, Kasner SE, Adams RJ, et al. Guidelines for the prevention of stroke in patients with stroke or transient ischemic attack: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2011;42(1):227–276
225. Rothwell PM. Endarterectomy for symptomatic and asymptomatic carotid stenosis. *Neurologic clinics*. 2008;26:1079–1097
226. Raman G, Moorthy D, Hadar N, Dahabreh IJ, O'Donnell TF, Thaler DE, et al. Management strategies for asymptomatic carotid stenosis: A systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2013;158:676–685.
227. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial C Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high-grade carotid stenosis. *The New England journal of medicine*. 1991;325:445–453
228. Moore WS. Issues to be addressed and hopefully resolved in the carotid revascularization endarterectomy versus stenting trial 2. *Angiology*. 2016; 67: 408–410
229. Siegler JE, Martin-Schild S. Early Neurological Deterioration (END) after stroke: the END depends on the definition. *Int J Stroke*. 2011 Jun;6(3):211–2.
230. Roquer J, Rodriguez-Campello A, Gomis M, Jimenez-Conde J, Cuadrado-Godia E, Vivanco R, et al. Acute stroke unit care and early neurological deterioration in ischemic stroke. *J Neurol*. 2008 Jul;255(7):1012–7.
231. Kwan J, Hand P. Early neurological deterioration in acute stroke: clinical characteristics and impact on outcome. *QJM*. 2006 Sep;99(9):625–33.
232. Thanvi B, Treadwell S, Robinson T. Early neurological deterioration in acute ischaemic stroke: predictors, mechanisms and management. *Postgrad Med J*. 2008 Aug;84(994):412–7
233. Nardi K, Milia P, Eusebi P, Paciaroni M, Caso V, Agnelli G. Admission Leukocytosis in Acute Cerebral Ischemia: Influence on Early Outcome. *J*

- Stroke Cerebrovasc Dis. 2011 Jun 22;
234. Audebert HJ, Pellkofer TS, Wimmer ML, Haberl RL. Progression in lacunar stroke is related to elevated acute phase parameters. *Eur Neurol.* 2004;51(3):125–31.
 235. Lin LC, Lee TH, Chang CH, Chang YJ, Liou CW, Chang KC, et al. Predictors of clinical deterioration during hospitalization following acute ischemic stroke. *Eur Neurol.* 2012;67(3):186–92
 236. Weimar C, Mieck T, Buchthal J, Ehrenfeld CE, Schmid E, Diener HC. Neurologic worsening during the acute phase of ischemic stroke. *Arch Neurol.* 2005 Mar;62(3):393–7
 237. Castillo J, Leira R, Garcia MM, Serena J, Blanco M, Davalos A. Blood pressure decrease during the acute phase of ischemic stroke is associated with brain injury and poor stroke outcome. *Stroke.* 2004 Feb;35(2):520–6.
 238. Ogata T, Yasaka M, Wakugawa Y, Ibayashi S, Okada Y. Predisposing factors for acute deterioration of minor ischemic stroke. *J Neurol Sci.* 2009 Dec 15;287(1-2):147–50
 239. Seet RC, Zhang Y, Wijdicks EF, Rabinstein AA. Relationship between chronic atrial fibrillation and worse outcomes in stroke patients after intravenous thrombolysis. *Arch Neurol.* Nov;68(11):1454–8
 240. Sumer M, Ozdemir I, Erturk O. Progression in acute ischemic stroke: frequency, risk factors and prognosis. *J Clin Neurosci.* 2003 Mar;10(2):177–80.
 241. Davalos A, Castillo J, Marrugat J, Fernandez-Real JM, Armengou A, Cacabelos P, et al. Body iron stores and early neurologic deterioration in acute cerebral infarction. *Neurology.* 2000 Apr 25;54(8):1568–74.
 242. Backes, C. A dictionary on microRNAs and their putative target pathways / C. Backes, E. Meese, H. Lenhof, A. A. Keller // *Nucleic Acids Research.* – 2010. – Vol. 38(13). – P. 4476-4486
 243. Khoshnam S.E, Winlow W., Farbood Y., Moghaddam H.F., Farzaneh M. Emerging Roles of microRNAs in Ischemic Stroke: As Possible Therapeutic Agents. *J Stroke.* - 2017. Vol.19N2.P 166–187.
 244. Жанин И.С., Гусар В.А., Тимофеева А.Т., Пинелис В.Г., Асанов А.Ю. Профиль экспрессии микроРНК у больных на ранних стадиях ишемического инсульта. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* 2018;10(3):72-78. <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2018-3-72-78>
 245. Швангирадзе Т.А., Бондаренко И.З., Трошина Е.А., Шестакова М.В. МикроРНК в диагностике сердечно-сосудистых заболеваний, ассоциированных с сахарным диабетом 2-го типа и ожирением // *Терапевтический архив.* – 2016. – Т. 88. – No 10. – С. 87-92. doi: 10.17116/terarkh201688687-92.
 246. Mineharu Y, Inoue K, Inoue S, Yamada S, Nozaki K, Takenaka K, Hashimoto N, Koizumi A. Association analysis of common variants of ELN, NOS2A, APOE and ACE2 to intracranial aneurysm. *Stroke.* 2006 May;37(5):1189-94.
 247. Bushati N, Cohen SM. MicroRNAs in neurodegeneration. *Curr Opin Cell Biol.* -2008. Vol.18.P.292–296.
 248. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell.* -2004. Vol.116.P.281–297.

249. Bourassa MW, Ratan RR. The interplay between microRNAs and histone deacetylases in neurological diseases. *Neurochem Int.* -2014.Vol.77.P.33–39.
250. Nicoloso M.S., Calin G.A. MicroRNA involvement in brain tumors: from bench to bedside. *Brain Pathol.* -2008.Vol.18.P.122–129.
251. Hébert S.S., Horré K, Nicolai L, Papadopoulou A.S., Mandemakers W, Silahatoglu AN, Kauppinen S, Delacourte A, De Strooper B. Loss of microRNA cluster miR-29a/b-1 in sporadic Alzheimer's disease correlates with increased BACE1/beta-secretase expression. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105:6415–6420
252. Kuhn DE, Nuovo GJ, Martin MM, Malana GE, Pleister AP, Jiang J, Schmittgen TD, Terry AV, Jr, Gardiner K, Head E, Feldman DS, Elton TS. Human chromosome 21-derived miRNAs are overexpressed in down syndrome brains and hearts. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008;370:473–477
253. Beveridge N.J, Tooney P.A, Carroll A.P, Gardiner E, Bowden N, Scott R.J, Tran N, Dedova I, Cairns MJ. Dysregulation of miRNA 181b in the temporal cortex in schizophrenia. *Hum Mol Genet.* 2008;17:1156–1168
254. Jeyaseelan K, Lim KY, Armugam A. MicroRNA expression in the blood and brain of rats subjected to transient focal ischemia by middle cerebral artery occlusion. *Stroke.* 2008;39:959–966.
255. Gage FH. Mammalian neural stem cells. *Science.* -2000.Vol.287.P.1433–1438
256. Shi Y, Sun G, Zhao C, Stewart R. Neural stem cell self-renewal. *Crit Rev Oncol Hematol.*- 2008.Vol.65.P.43–53
257. Martin RI, et al. Chromosome 16q22 variants in a region associated with cardiovascular phenotypes correlate with ZFHX3 expression in a transcript-specific manner. *BMC Genet.* 2014 Dec 24. PMID 25539802,
258. Liu Y, Ni B, Lin Y, Chen XG, Fang Z, Zhao L, Hu Z, Zhang F. Genetic polymorphisms in ZFHX3 are associated with atrial fibrillation in a Chinese Han population. *PLoS One.* 2014 Jul 1;9(7):e101318. doi: 10.1371/journal.pone.0101318. eCollection 2014.
259. Hauer AJ, Pulit SL, van den Berg LH, de Bakker PIW, Veldink JH, Ruigrok YM; A replication study of genetic risk loci for ischemic stroke in Dutch population: a case-control study. *Sci Rep.* 2017 Sep 22;7(1):12175. doi: 10.1038/s41598-017-07404-4. *есть ZFHX3*
260. Jessell T, Sanes J. The generation and survival of nerve cells. In: Kandel E, Schwartz JH, editors. *Principles of Neural Sciences.* New York: McGraw-Hill.- 2000. P.1041–1062
261. Cheng YD, Al-Khoury L, Zivin JA. Neuroprotection for ischemic stroke: two decades of success and failure. *NeuroRx.* 2004;1:36–45
262. Lucas SM, Rothwell NJ, Gibson RM. The role of inflammation in CNS injury and disease. *Br J Pharmacol.* 2006;147 Suppl 1:S232–S240
263. Ekdahl CT, Kokaia Z, Lindvall O. Brain inflammation and adult neurogenesis: the dual role of microglia. *Neuroscience.* 2009;158:1021–1029.
264. Selvamani A, Sathyan P, Miranda RC, Sohrabji F. An antagomir to

- microRNA Let7f promotes neuroprotection in an ischemic stroke model. *PLoS One*. 2012;7:e32662
265. Huang W, Liu X, Cao J, Meng F, Li M, Chen B, et al. Mir-134 regulates ischemia/reperfusion injury-induced neuronal cell death by regulating CREB signaling. *J Mol Neurosci*. 2015;55:821–829.
 266. Mellios N, Huang HS, Grigorenko A, Rogaev E, Akbarian S. A set of differentially expressed miRNAs, including miR-30a-5p, act as post-transcriptional inhibitors of BDNF in prefrontal cortex. *Hum Mol Genet*. 2008;17:3030–3042.
 267. Zeng L, He X, Wang Y, Tang Y, Zheng C, Cai H, et al. MicroRNA-210 overexpression induces angiogenesis and neurogenesis in the normal adult mouse brain. *Gene Ther*. 2014;21:37–43.
 268. Wang YQ, Cui HR, Yang SZ, Sun HP, Qiu MH, Feng XY, et al. VEGF enhance cortical newborn neurons and their neurite development in adult rat brain after cerebral ischemia. *Neurochem Int*. 2009;55:629–636
 269. Zhang R, Zhang Z, Wang L, Wang Y, Gousev A, Zhang L, et al. Activated neural stem cells contribute to stroke-induced neurogenesis and neuroblast migration toward the infarct boundary in adult rats. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2004;24:441–448
 270. Shruster A, Ben-Zur T, Melamed E, Offen D. Wnt signaling enhances neurogenesis and improves neurological function after focal ischemic injury. *PLoS One*. -2012.N7.e40843
 271. Bambakidis NC, Petrullis M, Kui X, Rothstein B, Karampelas I, Kuang Y, et al. Improvement of neurological recovery and stimulation of neural progenitor cell proliferation by intrathecal administration of Sonic hedgehog. *J Neurosurg*. – 2012.Vol.116.P.1114–1120.
 272. Sims JR, Lee SW, Topalkara K, Qiu J, Xu J, Zhou Z, et al. Sonic hedgehog regulates ischemia/hypoxia-induced neural progenitor proliferation. *Stroke*.-2009.Vol.40.P.3618–3626
 273. Androutsellis-Theotokis A, Leker RR, Soldner F, Hoepfner DJ, Ravin R, Poser SW, et al. Notch signalling regulates stem cell numbers in vitro and in vivo. *Nature*. -2006.Vol.442.P.823–826
 274. Zeng L, He X, Wang Y, Tang Y, Zheng C, Cai H, et al. MicroRNA-210 overexpression induces angiogenesis and neurogenesis in the normal adult mouse brain. *Gene Ther*. 2014;21:37–43
 275. Fasanaro P, Greco S, Ivan M, Capogrossi MC, Martelli F. microRNA: emerging therapeutic targets in acute ischemic diseases. *Pharmacol Ther*. 2010;125:92–104
 276. Bonauer A, Carmona G, Iwasaki M, Mione M, Koyanagi M, Fischer A, et al. MicroRNA-92a controls angiogenesis and functional recovery of ischemic tissues in mice. *Science*. 2009;324:1710–1713.
 277. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: Basic science and clinical progress. *Endocr Rev*. 2004;25:581–611.
 278. Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH. Angiogenic and cell survival

- functions of vascular endothelial growth factor (VEGF) *J Cell Mol Med.* 2005;9:777–94
279. Sun Y, Jin K, Xie L, Childs J, Mao XO, Logvinova A, et al. VEGF-induced neuroprotection, neurogenesis, and angiogenesis after focal cerebral ischemia. *J Clin Invest.* 2003;111:1843–1851.
 280. Shen F, Fan Y, Su H, Zhu Y, Chen Y, Liu W, et al. Adeno-associated viral vector-mediated hypoxia-regulated VEGF gene transfer promotes angiogenesis following focal cerebral ischemia in mice. *Gene Ther.* 2008;15:30–39
 281. Haver VG, Slart RH, Zeebregts CJ, et al. Rupture of vulnerable atherosclerotic plaques: microRNAs conducting the orchestra? *Trends Cardiovasc Med.* - 2010.-Vol.20,N 2.- P.65-71.
 282. Volný O., Kašičková L., Coufalová D., Cimřlová P., Novák J. (2015) microRNAs in Cerebrovascular Disease. In: Santulli G. (eds) *microRNA: Medical Evidence. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 888. Springer, Cham
 283. Sandeep Kumar, Chan Woo Kim, Rachel D. Simmons, and Hanjoong Jo. Role of flow-sensitive microRNAs in endothelial dysfunction and atherosclerosis: mechanosensitive athero-miRs. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* -2014. Vol.34,-P.2206–2216
 284. Heo K.S, Fujiwara K, Abe J. Shear Stress and Atherosclerosis. *Molecules and Cells.* - 2014.-Vol.37,N 6.- P.435-440.
 285. Chiu JJ, Chien S. Effects of disturbed flow on vascular endothelium: pathophysiological basis and clinical perspectives. *Physiol Rev.* - 2011.- Vol.91. - P.327-387.
 286. Tarbell JM, Shi ZD, Dunn J, Jo H. Fluid mechanics, arterial disease, and gene expression. *Annu Rev Fluid Mech.* - 2014.-Vol.46,-P.591-614.
 287. Ando J, Yamamoto K. Effects of shear stress and stretch on endothelial function. *Antioxid Redox Signal.* 2011.-Vol.15. - P. 1389–1403.
 288. Chatzizisis YS, Coskun AU, Jonas M, Edelman ER, Feldman CL, Stone PH. Role of endothelial shear stress in the natural history of coronary atherosclerosis and vascular remodeling: molecular, cellular, and vascular behavior. *J Am Coll Cardiol.* - 2011.-Vol.49. - P. 2379–2393.
 289. Berk BC. Atheroprotective signaling mechanisms activated by steady laminar flow in endothelial cells. *Circulation.* - 2008.-Vol.117. - P. 1082–1089.
 290. Davies PF. Hemodynamic shear stress and the endothelium in cardiovascular pathophysiology. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* - 2009.-Vol.6. - P. 16–26
 291. Hakimzadeh N, Piek JJ. The coronary collateral circulation revisited. *Neth Heart J.* 2013.-Vol.21,N 3.- P.144-5.
 292. Schober A, Nazari-Jahantigh M, Wei Y, Bidzhekov K, Gremse F, Grommes J, et al. MicroRNA-126-5p promotes endothelial proliferation and limits atherosclerosis by suppressing Dlk1. *Nat Med.* - 2014.-Vol.20,N 4.- P.368-76.
 293. Yang ZB, Zhang Z, Li TB, Lou Z, Li SY, Yang H, et al. Up-regulation of brain-enriched miR-107 promotes excitatory neurotoxicity through down-

- regulation of glutamate transporter-1 expression following ischaemic stroke. *Clin Sci (Lond)* 2014;127:679–689
294. Ouyang YB, Xu L, Lu Y, Sun X, Yue S, Xiong XX, et al. Astrocyte-enriched miR-29a targets PUMA and reduces neuronal vulnerability to forebrain ischemia. *Glia*.- 2013.Vol.61.P.1784–1794
 295. Harraz M.M., Eacker S.M., Wang X, Dawson T.M., Dawson V.L. MicroRNA -223 is neuroprotective by targeting glutamate receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.- 2012.Vol.109.N46. P. 18962-18967.
 296. Sobczak K, Michlewski G, de Mezer M, Kierzek E, Krol J, Olejniczak M, Kierzek R, Krzyzosiak WJ. Structural diversity of triplet repeat RNAs. *J Biol Chem*. 2010 Apr 23;285(17):12755-64. doi: 10.1074/jbc.M109.078790.
 297. Inose Y, Kato Y, Kitagawa K, Uchiyama S, Shibata N. Activated microglia in ischemic stroke penumbra upregulate MCP-1 and CCR2 expression in response to lysophosphatidylcholine derived from adjacent neurons and astrocytes. *Neuropathology*. 2015 Jun;35(3):209-23. doi: 10.1111/neup.12182.
 298. Chauhan G, Debette S. Genetic Risk Factors for Ischemic and Hemorrhagic Stroke. *CurrCardiol Rep*. 2016 Dec;18(12):124. ZFH3
 299. Dhiraj DK, Chrysanthou E, Mallucci GR, Bushell M miRNAs-19b, -29b-2* and -339-5p Show an Early and Sustained Up-Regulation in Ischemic Models of Stroke. *PLoS ONE* (2013) 8(12): e83717. doi:10.1371/journal.pone.0083717 / The data show that miR-19b, miR-29b-2* and miR-339-5p are up-regulated following ischemic insults/
 300. Ting-ying Liang, Ji-yu Lou Increased Expression of mir-34a-5p and Clinical Association in Acute Ischemic Stroke Patients and in a Rat Model *Med Sci Monit*, 2016; 22: 2950-2955 DOI: 10.12659/MSM.900237 / Background: MiRNA is widely recognized as the most important regulator in various diseases. However, there has been little research regarding miRNA expression and its involvement in ischemic stroke./
 301. Qingfeng Ma, Haiping Zhao, Zhen Tao, Rongliang Wang, Ping Liu, Ziping Han, Shubei Ma, Yumin Luo, Jianping Jia MicroRNA-181c Exacerbates Brain Injury in Acute Ischemic Stroke *Aging and Disease* 2016 Volume 7, Number 6; 705-714, MicroRNA-181 (miR-181) is highly expressed in the brain, and downregulated in miRNA expression profiles of acute ischemic stroke patients. However, the roles of miR-181c in stroke are not known./
 302. Yajing Chen, Yaying Song, Jun Huang, Meijie Qu, Yu Zhang, Jieli Geng, Zhijun Zhang, Jianrong Liu, Guo-Yuan Yang Increased Circulating Exosomal miRNA-223 Is Associated with Acute Ischemic Stroke. *Frontiers in Neurology*, 27 February 2017 doi: 10.3389/fneur.2017.00057
 303. Londin E., Loher P., Telonis A.G., Quann K. *et al.*, «Analysis of 13 cell types reveals evidence for the expression of numerous novel primate and tissue-specific microRNAs», *PNAS USA*, vol. 112, pp. 1106-1115, 2015. doi: 10.1073/pnas.1420955112.
 304. Mortazavi, B.A. Williams, K. McCue, L. Schaeffer, B. Wold, «Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq» *Nature Methods*, vol. 5,

- pp. 621-628, 2008. doi: 10.1038/nmeth.1226.
305. Ivashchenko A.T., Berillo O., Pyrkova A.Y., Niyazova R.Y., Atambayeva A. "MiR-3960 binding sites with mRNA of human genes," *Bioinformation*, vol. 10, no. 7, pp. 423-427, 2014.
 306. Ivashchenko A.T., Pyrkova A.Y., Niyazova R.Y., Alybayeva A., Baskakov K., "Prediction of miRNA binding sites in mRNA," *Bioinformation*, vol. 12, pp. 237-240, 2016.
 307. Kool E.T. «Hydrogen bonding, base stacking, and steric effects in DNA replication» *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, vol. 30, pp. 1–22, 2001. doi:10.1146/annurev.biophys.30.1.1.
 308. Lemieux S., Major F. «RNA canonical and non-canonical base pairing types: a recognition method and complete repertoire» *Nucleic Acids Res.*, vol. 30, no. 19, pp. 4250-4263, 2002. PMID:12364604.
 309. Bland J.M., Altman D.G. Survival probabilities (the Kaplan-Meier method). // *BMJ.*, 1998, V.317., p. 1572
 310. KondybayevaAM, AkimniyazovaAN, Kamenova SU, IvashchenkoAT (2018) The characteristics of miRNA binding sites in mRNA of ZFH3 gene and its orthologs. *Vavilov journal of Genetics and Breeding* 22:438-444. <https://doi.org/10.18699/VJ18.380>.
 311. Atambayeva S, Niyazova R, Ivashchenko A, et al (2017) The Binding Sites of miR-619-5p in the mRNAs of Human and Orthologous Genes. *BMC Genomics* 18:1-10. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3811-6>
 312. Leontis N.B., Stombaugh J., Westhof E. The non-Watson-Crick base pairs and their associated isostericity matrices // *Nucleic Acids Research*. 2002. Vol. 30. P. 3497-3531. PMID: 12177293

ПРИЛОЖЕНИЕ А

АКТ

Внедрения результатов научно-исследовательской работы

Название предложения для внедрения: Методы вторичной профилактики кардиоэмболического инсульта при фибрилляции предсердий

Автор предложения (Ф.И.О., должность, место работы):

PhD докторант Кондыбаева А.М., д.м.н. профессор Каменова С.У., к.м.н. доцент Кужыбаева К.К., зав. нейроинсультным отделением №1 Ж.Б. Дюсембаева, врач нейроинсультного отделения №1 Г.А. Умутбаева

Название темы, при выполнении которой сделано предложение: Клинические и патогенетические особенности инсульта в Казахстане»

Предложение реализует (новое лекарство, препарат, изделие, устройство, метод диагностики, лечения, реабилитации и т.д.)

Форма внедрения (методические рекомендации, технические документы выпуск устройства, препарата, обучение специалистов, научные публикации и т.д.)

Предложение реализовано в сфере здравоохранения, медицинской науки, в отрасли народного хозяйства (подчеркнуть)

Уровень внедрения: республиканский, регионарный, местный (подчеркнуть)

Наименование учреждения и его подразделения, где данное предложение используется: ГКБ №7, нейроинсультное отделение №1, №2.

Количество наблюдений, в которых применено предложение: 45

Краткое заключение об эффективности, пользе предложения: использование метода имеет решающее значение для вторичной профилактики и прогноза кардиоэмболического инсульта.

Директор
ГКП на ПХВ «ГКБ №7»
УЗ г. Алматы
д.м.н., профессор Рамазанов М. Е.



Исполнители темы:
PhD докторант Кондыбаева А.М.

д.м.н. профессор Каменова С.У.,

к.м.н. доцент Кужыбаева К.К.,

Зав. нейроинсультном отд. ГКБ №7
Дюсембаева Ж.Б.

врач нейроинсультного отделения №1
Умутбаева Г.А.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

АКТ

Внедрения результатов научно-исследовательской работы

Название предложения для внедрения: Оценка функции глотания у больных в остром периоде инсульта. Дисфагия - метод реабилитации в раннем периоде инсульта.

Автор предложения (Ф.И.О., должность, место работы):

PhD докторант Кондыбаева А.М., д.м.н. профессор Каменова С.У., к.м.н. доцент Кужыбаева К.К., зав. нейроинсультным отделением №1 Ж.Б. Дюсембаева, врач нейроинсультного отделения №1 Г.А. Умутбаева

Название темы, при выполнении которой сделано предложение: Клинические и патогенетические особенности инсульта в Казахстане»

Предложение реализует (новое лекарство, препарат, изделие, устройство, метод диагностики, лечения, реабилитации и т.д.)

Форма внедрения (методические рекомендации, технические документы выпуск устройства, препарата, обучение специалистов, научные публикации и т.д.)

Предложение реализовано в сфере здравоохранения, медицинской науки, в отрасли народного хозяйства (подчеркнуть)

Уровень внедрения: республиканский, регионарный, местный (подчеркнуть)

Наименование учреждения и его подразделения, где данное предложение используется: ГКБ №7, нейроинсультное отделение №1, №2.

Количество наблюдений, в которых применено предложение: 45

Краткое заключение об эффективности, пользе предложения: использование метода является методом оценки функции глотания, диагностики, раннее выявление и устранение дисфагии имеют решающее значение для прогноза.

Директор

ГКП на ПХВ «ГКБ №7»

УЗ г. Алматы

д.м.н., профессор Рамазанов М. Е.

Исполнители темы:

PhD докторант Кондыбаева А.М.

д.м.н. профессор Каменова С.У.,

к.м.н. доцент Кужыбаева К.К.,

Зав. нейроинсультным отд. ГКБ №7
Дюсембаева Ж.Б.

врач нейроинсультного отделения №1
Умутбаева Г.А.



Handwritten signatures of the individuals mentioned in the text, including the Director and the authors of the proposal.

ПРИЛОЖЕНИЕ В

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ӘДІЛЕТ МИНИСТРЛІГІ



№ 2692

ӨНЕРКӘСІШ ҮЛГІСІНЕ
ПАТЕНТ

АСТАНА



(19) ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ ӘДІЛЕТ МИНИСТРЛІГІ

(11) ӨНЕРКӘСІП ҮЛГІСІНЕ

№ 2692

(12) ПАТЕНТ

(54) АТАУЫ: COGNITELLECT жаттығу құрылғысы

(73) ПАТЕНТ ИЕЛЕНУШІСІ: Кондыбаева Аида Муратовна (KZ)

(72) АВТОР (АВТОРЛАР): Каменова Салтанат Уалихановна (KZ); Кондыбаева Аида Муратовна (KZ); Жанузаков Мурад Ахметович (KZ); Кондыбаев Ерлан Сергазиевич (KZ)

(51) ӨҮХС 21-01, 21-99

(21) Өтінім № 2016125.3

(22) Өтінім берілген күн: 17.06.2016

18.09.2017 Қазақстан Республикасының Өнеркәсіп үлгілері мемлекеттік тізімінде тіркелді.

Патентті күшінде ұстау ақысы уақытылы төленген жағдайда, патенттің күші Қазақстан Республикасының бүкіл аумағында қолданылады.

Қазақстан Республикасы
Әділет министрінің орынбасары

Э. Əзімова

Осы патентке енгізілген өзгерістер туралы мәліметтер қосымша түрінде жекеленген паракта келтіріледі

001435



(19) **МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

(12) **ПАТЕНТ**

(11) **№ 2692**

НА ПРОМЫШЛЕННЫЙ ОБРАЗЕЦ

(54) **НАЗВАНИЕ:** Тренажер COGNITELLEСТ

(73) **ПАТЕНТООБЛАДАТЕЛЬ:** Кондыбаева Аида Мураговна (KZ)

(72) **АВТОР (АВТОРЫ):** Каменова Салтанат Уалихановна (KZ); Кондыбаева Аида Мураговна (KZ); Жанузаков Мурат Ахметович (KZ); Кондыбаев Ерлан Сергазиевич (KZ)

(51) **МКПО** 21-01, 21-99

(21) **Заявка № 2016125.3**

(22) **Дата подачи заявки: 17.06.2016**

Зарегистрирован в Государственном реестре промышленных образцов Республики Казахстан 18.09.2017.

Действие патента распространяется на всю территорию Республики Казахстан при условии своевременной оплаты поддержания патента в силе.

**Заместитель министра юстиции
Республики Казахстан**

Э. Азимова

Сведения о внесении изменений приводятся на отдельном листе в виде приложения к настоящему патенту