 10.46235/1028-7221-16662-TDO

ДИНАМИКА БИОМАРКЕРОВ АУТОФАГИИ И НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ АТЕРОТРОМБОТИЧЕСКОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Луговая А. В. [1, 2],
Калинина Н. М. [1, 3],
Иванов А. М. [4],
Никитин Ю. В. [4],
Сухина И. А. [4],
Митрейкин В. Ф. [1],
Забиров С. Ш. [5],
Кирилкин Г. Э. [1]

[1] ФГБВОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

[2] Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» Северо-Западного отделения Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия.

[3] Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины МЧС МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

[4] ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова», Санкт-Петербург.

[5] СПб ГБУЗ «Клиническая больница Святителя Луки», г. Санкт-Петербург, Россия.

 ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)

10.46235/1028-7221-16662-TDO

THE DYNAMICS OF BIOMARKERS OF AUTOPHAGY AND NEUROINFLAMMATION IN THE ACUTE PERIOD OF ATHEROTHROMBOTIC ISCHEMIC STROKE

Lugovaya A. V. [a, b],
Kalinina N. M. [a, c],
Ivanov A. M. [d],
Nikitin Yu. V. [d],
Sukhina I. A. [d],
Mitreikin V. P. [a],
Zabirov S. Sh. [e],
Kirilkin G. E. [a]

[a] Pavlov First St Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russian Federation.

St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, North-Western Branch, [b] Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation.

[c] Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, Saint Petersburg, Russian Federation.

[d] S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation.

[e] City Clinical Hospital of St. Luke, Saint Petersburg; Russian Federation.

ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)

Резюме

Постишемическое нейровоспаление является критическим патофизиологическим процессом в рамках всей схемы церебральной ишемии. Оно характеризуется микроглиальной и астроглиальной активацией и сопровождается нарушениями врожденного и адаптивного иммунного ответа. Ранние этапы повреждения целостности гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) сопровождаются выходом в циркуляцию аутоатигенов головного мозга, в частности, нейроспецифеческого белка S100B. Согласно последним экспериментальным данным активационная аутофагия ассоциирована с постишемическим нейровоспалением и участвует в его регуляции, влияя на исход острого периода ишемического инсульта (ИИ). Предоставлены экспериментальные доказательства участия аутофагии в регуляции продукции провоспалительных цитокинов и хемокинов. Показано, что при остром ИИ активационная аутофагия влияет на баланс про- и противовоспалительных цитокинов. Цель исследования: количественно оценить ключевые биомаркеры аутофагии, ранний биомаркер повреждения ГЭБ нейропептид S100B, про- и противовоспалительные цитокины в динамике острого периода ИИ. Выявить взаимосвязь между биомаркерами аутофагии и показателями воспаления. Обследованы 112 пациентов с острым ИИ и группа контроля – 56 человек. Пациентам проводили динамическое клинико-неврологическое обследование на 1-ые, 7-ые и 14-ые сутки от начала заболевания. В эти же временные интервалы осуществляли забор крови на исследование. Уровень аутофагии в лейкоцитах периферической крови определяли методом проточной цитометрии с помощью оценки внутриклеточной экспрессии белков аутофагии LC3, p62 и средней интенсивности флюоресценции красителя Cyto-ID, специфически распознающего активные аутофагосомы. Концентрацию в сыворотке цитокинов TNFα (фактор некроза опухоли-α), IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18 (интерлейкины-1β, -4, -6, -8, -10, -18), нейропептида S100B и биомаркеров аутофагии Beclin-1, LC3 и p62 определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. Обнаружено статистически достоверное повышение исследуемых биомаркеров по сравнению с группой контроля. Максимальное повышение показателей воспаления и нейропептида S100B отмечалось на 1-ые, а биомаркеров аутофагии – на 7-ые сутки заболевания. Установленные корреляционные связи свидетельствуют об участии активационной аутофагии в регуляции постишемического нейровоспаления и ее вовлечении в ишемическое поражение головного мозга на ранних этапах острого периода ИИ (1-ые – 7-ые сутки).

Ключевые слова: аутофагия; постишемическое нейровоспаление, острый ишемический инсульт; биомаркеры нейровоспаления, провоспалительные цитокины; биомаркеры аутофагии; Beclin-1; LC3; p62; нейропептид S100B.

 10.46235/1028-7221-16662-TDO

Abstract

Postischemic neuroinflammation is a critical pathophysiological process within the entire pattern of cerebral ischemia. It is characterized by microglial and astroglial activation and is accompanied by disturbances in the innate and adaptive immune response. The early damage of the blood-brain barrier (BBB) integrity is accompanied by the brain autoantigens release into circulation, in particular, the neurospecific protein S100B. According to recent experimental data, activated autophagy is associated with postischemic neuroinflammation, involved in its regulation and influences the outcome of the ischemic stroke (IS) acute period. Experimental evidence is provided for the autophagy involvement in the regulation of proinflammatory cytokines and chemokines production. The influence of activated autophagy on the pro- and anti-inflammatory cytokines balance in acute IS has been demonstrated. Purpose of the study: to quantitatively evaluate key autophagy biomarkers, the early biomarker of BBB damage S100B, pro- and anti-inflammatory cytokines in the dynamics of the IS acute period. To identify the relationship between autophagy and inflammation biomarkers. 112 patients with acute IS and 56 healthy persons were examined. Patients underwent dynamic clinical neurological examination and blood testing on the 1st, 7th and 14th days from the disease's onset. The level of autophagy in peripheral blood leukocytes was determined by flow cytometry by assessing the intracellular expression of autophagy proteins LC3, p62 and mean fluorescence intensity of the Cyto-ID dye, which specifically recognizes active autophagosomes. Serum concentration of TNFα, IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, neuropeptide S100B and autophagy biomarkers Beclin-1, LC3, p62 were determined by ELISA. A statistically significant increase in the studied biomarkers was found compared to the control group. The maximum increase in inflammation indicators and neuropeptide S100B was observed on the 1st, and autophagy biomarkers – on the 7th day of the disease. Established correlations indicate the participation of activated autophagy in the postischemic neuroinflammation regulation and its involvement in ischemic brain damage in the early stages of the IS acute period (days 1–7).

Keywords: autophagy; postischemic neuroinflammation; acute ischemic stroke; biomarkers of neuroinflammation; proinflammatory cytokines; autophagy biomarkers; Beclin-1; LC3; p62; neuropeptide S100B.

 ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)

1 Введение

Постишемический воспалительный ответ играет важную роль в патогенезе острого ИИ. С одной стороны он направлен на удаление некротизированной ткани из зоны ишемии, с другой стороны – приводит к увеличению объема очага поражения и отягощает заболевание. Первоначальное повреждение нейронов возникает в течение нескольких минут после ишемической атаки, тогда как воспалительная реакция, способствующая прогрессированию патологии, может продолжаться от нескольких дней до нескольких месяцев [11, 6].

В ответ на острую ишемию развиваются местные и системные воспалительные реакции, а также иммунный ответ [10]. Стойкий аутоиммунный ответ на антигены мозга имеет негативные долгосрочные последствия, в том числе когнитивные нарушения, такие как постинсультная деменция. Следует подчеркнуть, что иммунная активация способствует вторичному повреждению тканей головного мозга при остром ИИ [8].

Нарушение целостности гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) способствует распаду мозговой ткани и выходу в периферическую кровь (ПК) аутоантигенов головного мозга, что приводит к активации иммунной системы и притоку периферических иммунокомпетентных клеток в центральную нервную систему [11]. К числу подобных аутоантигенов относится ранний биомаркер повреждения ГЭБ глиальный белок S100B. Установлено, что концентрация S100B в сыворотке крови резко возрастает в первые часы после сосудистой катастрофы и сохраняется повышенной в течении 2-3 дней или дольше в зависимости от степени тяжести заболевания. Сывороточный уровень S100B коррелирует с показателями неврологического статуса [4]. Прирост концентрации S100B в острейшем периоде ИИ рассматривается в качестве предиктора геморрагической трансформации или развития вазогенного отека [3].

Установлено, что после ишемической атаки происходит поляризация микроглии в провоспалительный фенотип М1, характеризующийся секрецией провоспалительных цитокинов, в частности TNFα (фактор некроза опухоли α), IL-1β, IL-6, IL-8, IL-18, IL-21 (интерлейкины-1β, -6, -8, -18, -21). Таким образом, в остром периоде ИИ наблюдается дисбаланс цитокинового статуса с преобладанием провоспалительных цитокинов [4].

В остром периоде ИИ в крови пациентов регистрируется значительное повышение концентрации провоспалительных цитокинов. Согласно данным литературы, высокая концентрация IL-6 является показателем неблагоприятного прогноза и может способствовать развитию отсроченных когнитивных расстройств (нарушению памяти, деменции) [13]. Показано, что высокий уровень сывороточного IL-1β коррелируют со степенью тяжести острого ИИ. В литературных источниках подчеркивается важнейшая роль этого интерлейкина в ишемическом повреждении головного мозга [14].

Повышение в сыворотке противовоспалительного цитокина IL-10, обладающего нейропротективным эффектом, напротив, свидетельствует о включении защитных компенсаторных механизмов и, как правило, сочетается с благоприятным исходом заболевания [14, 12].

В последнее время большой интерес вызывает перспектива модулирования аутофагии при остром ИИ, являющейся мощным регулятором воспалительных реакций [5, 9] Установлено, что физиологическая (базовая) аутофагия участвует в регуляции продукции цитокинов и хемокинов и способствует поддержанию цитокинового баланса. Показано, что базовая аутофагия в нормальных физиологических условиях способствует поддержанию иммунологической толерантности, в то время как чрезмерная активация аутофагии или, напротив, ингибирование аутофагии приводят к развитию аутоиммунных процессов, воспалительных реакций врожденного и адаптивного иммунного ответа [7, 10].

Установлено, что при остром ИИ аутофагия задействована в важнейших этапах воспалительного каскада, выступая либо в качестве индуктора, либо в роли ингибитора постишемического нейровоспаления. Во многих противовоспалительных механизмах, реализуемых аутофагией при остром ИИ, участвуют ключевые белки аутофагии Beclin-1, LC3 и p62. Они выполняют роль регуляторов, подавляющих отдельные этапы постишемического воспалительного каскада, благотворно влияя на клинический исход заболевания [10].

Учитывая многочисленные механизмы, с помощью которых аутофагия влияет на отдельные этапы постишемического нейровоспаления, по мнению авторов, целесообразно рассмотрение возможных путей ее модуляции с целью воздействия на определенные мишени воспалительного процесса [5, 9].

В связи с тем, что в настоящий момент большинство литературных источников, освещающих данную проблему, приводят результаты экспериментальных исследований, представляет интерес сравнительная оценка биомаркеров аутофагии и постишемического воспаления в клинических условиях.

Цель исследования: количественно определить ключевые биомаркеры аутофагии, ранний биомаркер повреждения ГЭБ нейропептид S100B, про- и противовоспалительные цитокины в динамике острого периода ИИ. Выявить взаимосвязь между биомаркерами аутофагии и показателями воспаления.

2 **Материалы и методы**

Все исследования были согласованы с этическим комитетом ПСПбГМУ им. академика И.П. Павлова Минздрава России. Обследованы 112 пациентов (77 мужчин и 35 женщин, средний возраст 52,2±4,5 лет) в остром периоде впервые развившегося атеротромботического ИИ и 56 условно здоровых лиц

по полу и возрасту сопоставимые с больными острым ИИ. Критерии включения в исследование: информированное согласие на участие в исследовании; возраст от 45 до 60 лет; верифицированный с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ) впервые выявленный острый ИИ в системе внутренней сонной артерии (атеротромботический патогенетический вариант); неврологическая симптоматика менее 14 баллов по шкале NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale – шкала инсульта Национального института здоровья); пол пациентов: мужской, женский; не более 24 ч от начала развития заболевания.

По результатам клинико-неврологического и лабораторного обследований, а также результатам МРТ все пациенты были разделены на 2 группы: со среднетяжелым (n=82) и тяжелым течением заболевания (n=30). I группу (среднетяжелое течение) составили пациенты с тяжестью неврологической симптоматики не более 10 баллов по шкале NIHSS, не более 3 баллов по модифицированной шкале Рэнкина, с объемом поражения паренхимы головного мозга менее 50 см3. II группу (тяжелое течение) составили пациенты с тяжестью неврологической симптоматики более 10 баллов по шкале NIHSS, от 3 до 5 баллов по шкале Рэнкина, с объемом поражения головного мозга более 50 см3. III группу (контрольную) составили 56 условно здоровых лиц (n=56).

Пациентам проводили динамическое клинико-неврологическое обследование с оценкой выраженности неврологического дефицита по шкале NIHSS, исследование объема очага поражения методом МРТ головного мозга, тестирование по модифицированной шкале Рэнкина на 1-ые, 7-ые и 14-ые сутки от начала заболевания. В эти же временные интервалы осуществляли забор крови на исследование.

Для количественного определения аутофагосом в лейкоцитах периферической крови применяли набор для детекции аутофагии (CYTO-ID® Autophagy detection kit 2.0, Enzo, UK), содержащий индикаторный краситель Cyto-ID. Этот катионный амфифильный краситель специфически встраивается в аутофагосомы на всех стадиях аутофагии и дает интенсивное зеленое свечение. Количество активных аутофагосом оценивали по средней интенсивности флюоресценции красителя Cyto-ID с помощью метода проточной цитометрии (MoFlo TM Astrios EQ, Beckman Coulter, USA). Для оценки внутриклеточной экспрессии биомаркеров аутофагии LC3 и p62 проводили пермеабилизацию мембраны лейкоцитов с последующим окрашиванием исследуемых образцов моноклональными антителами к белкам LC3 и p62 (Biorbyt Explore Bioreagents, UK).

Концентрацию цитокинов IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, TNFα, биомаркеров аутофагии Beclin-1, LC3 и p62, белка S100B в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью

соответствующих тест систем (ELISA Kits; Abcam, UK) и (ELISA Kits; Enzo, UK).

3 **Результаты и обсуждение**

Результаты оценки изучаемых показателей в динамике острого периода ИИ представлены в таблицах 1 и 2.

Статистически достоверное повышение внутриклеточной экспрессии биомаркеров аутофагии LC3, p62 и средней интенсивности флюоресценции красителя Cyto-ID в лейкоцитах периферической крови (ПК) отмечалось на протяжении всего периода исследования у пациентов обеих групп по сравнению с группой контроля (таблица 1). Максимальный уровень исследуемых показателей выявлен на 7-ые сутки заболевания. У пациентов I группы (среднетяжелое течение заболевания) наблюдалась значительная тенденция к снижению уровня показателей аутофагии на 14-ые сутки. У пациентов II группы (тяжелое течение заболевания) высокие значения биомаркеров аутофагии по сравнению с группой контроля наблюдались на протяжении всего исследования, включая 14-ые сутки. Выявлена прямая корреляционная связь между средним уровнем флюоресценции Cyto-ID в общей популяции лейкоцитов, тяжестью неврологического дефицита по шкале NIHSS и объемом поражения головного мозга на 1-ые ($r=0,69$; $p<0,05$ и $r=0,73$; $p<0,01$ – соответственно) и 7-ые сутки ($r=0,78$; $p<0,01$ и $r=0,83$; $p<0,01$ – соответственно). Согласно данным экспериментальных исследований на ранних этапах острого периода ИИ действует активационная (деструктивная) аутофагия, участвующая в ишемическом повреждении клеток головного мозга. В конце острого периода при адекватно назначенной терапии происходит подавление активационной и включение базовой (физиологической) аутофагии, выполняющей защитную нейропротективную функцию [7]. Таким образом, в совокупности с литературными данными, выявленные нами корреляционные связи между интенсивностью флюоресценции Cyto-ID и клинико-неврологическими показателями на 1-ые и 7-ые сутки позволяют предположить, что активность аутофагии клеток ПК может отражать активность деструктивной аутофагии в очаге поражения на ранних этапах острого периода ИИ.

Исследованием установлено, что в остром периоде ИИ наблюдается статистически достоверное по сравнению с контролем повышение концентрации исследуемых провоспалительных цитокинов, более выраженное у пациентов II группы (таблица 2). В обеих группах пациентов наблюдалось динамическое снижение концентрации биомаркеров воспаления. Тем не менее, даже на 14-ые сутки средние значения показателей воспаления были статически значимо повышены по сравнению с группой контроля, что свидетельствует о продолжающейся воспалительной реакции. Показано, что нейровоспаление, спровоцированное ишемией, может продолжаться от нескольких дней до нескольких месяцев [11, 6].

Выявлено статистически значимое по сравнению с контролем (III группа) повышение биомаркеров аутофагии, более выраженное во II группе пациентов (таблица 2). Вызывает интерес неравномерное динамическое изменение биомаркеров аутофагии и показателей воспаления. В отличие от последних все изучаемые биомаркеры аутофагии достигают максимальных значений на 7-ые сутки с незначительной тенденцией к снижению на 14-ый день исследования. В совокупности с результатами, полученными при оценке показателей аутофагии в клетках ПК (таблица 1), можно предположить, что активационная аутофагия в очаге поражения достигает своего пика на 7-ые сутки острого периода ИИ.

Максимальные значения концентрации нейроспецифеческого белка S100B отмечались на 1-ые сутки заболевания с последующим динамическим снижениям (таблица 2). Следует подчеркнуть, что в 1-ый день исследования белок S100B был повышен в 9 раз в группе с тяжелым течением ИИ по сравнению с группой со среднетяжелым течением заболевания. Полученные результаты согласуются с данными литературы о том, что данный показатель коррелирует со степенью тяжести заболевания и является предиктором развития осложнений острого ИИ [3, 6].

Для выявления взаимосвязи между активностью аутофагии в динамике острого периода ИИ и показателями воспаления в сыворотке крови в качестве исследуемого параметра аутофагии был выбран белок LC3 (microtubule-associated protein light chain 3), который участвует в образовании аутофагосом. Согласно данным литературы белок LC3 является самым надежным биомаркером аутофагии, так как его содержание в исследуемом биологическом материале положительно коррелирует с количеством активных аутофагосом – важнейших компонентов процесса аутофагии. Таким образом, этот показатель отражает активность процесса аутофагии [2].

В 1-ый день исследования выявлены сильные прямые корреляционные взаимосвязи между сывороточной концентрацией белка LC3 и исследуемых провоспалительных цитокинов, более выраженные во II группе (таблица 3). Установленные взаимосвязи между LC3 и цитокинами IL-1β и IL-18 мы анализировали в нашей предыдущей публикации [1], поэтому на этом вопросе мы останавливаться не будем.

Обращает на себя внимания сильная корреляционная связь между LC3 и TNFα ($r=0,73$; $p<0,05$). Как известно, TNFα является плейотропным цитокином, играющим важную роль во многих патологических клеточных процессах, включая роль индуктора активационной аутофагии [5, 12]. Полученные результаты позволяют предположить, что на ранних этапах острого периода ИИ TNFα и аутофагия взаимодействуют по принципу обратной связи, дополнительно активируя друг друга: чем выше концентрация TNFα, тем интенсивнее процесс аутофагии, которая в свою очередь стимулирует дополнительную продукцию TNFα и т.д.

Не менее важное значение имеет выявленная прямая корреляционная зависимость между LC3 и IL-8 (таблица 3). Вызывая экспрессию молекул межклеточной адгезии, IL-8 стимулирует прилипание нейтрофилов к эндотелиальным клеткам и субэндотелиальным матричным белкам. Привлеченные IL-8 лейкоциты выделяют матриксные металлопротеиназы-2 и -9, которые расщепляют плотные контакты между эндотелиальными клетками сосудов головного мозга [11, 14]. Это приводит к повреждению ГЭБ, вследствие чего повышается проницаемость сосудов, что может способствовать развитию вазогенного отека [10, 11].

Установленные отрицательные корреляционные связи между LC3 и противовоспалительными цитокинами IL-4 и IL-10 (таблица 3) подтверждают результаты экспериментальных исследований, свидетельствующие о том, что эти интерлейкины не только оказывают важнейшее нейропротективное действие (снижают активацию микроглии, уменьшают объем инфаркта мозга у мышей, способствуют восстановлению двигательных и когнитивных функций), но и участвуют в подавлении активационной аутофагии [10]. Согласно данным литературы, Th2-цитокины IL-4, IL-13 и IL-10 ингибируют патологическую активационную аутофагию [10, 14], что рассматривается в качестве одной из потенциальных терапевтических стратегий в лечении острого ИИ [3,10,11].

4 **Заключение**

Таким образом, максимальное повышение исследуемых биомаркеров нейровоспаления TNFα, IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18 наблюдалось на 1-ые, а ключевых показателей аутофагии LC3, Beclin-1, p62, Cyto-ID – на 7-ые сутки острого ИИ. Значимые корреляционные связи между активностью аутофагии и основными показателями воспаления отмечалась на 1-ые и 7-ые сутки заболевания, существенно ослабевая в дальнейшем. Полученные данные свидетельствуют об участии активационной аутофагии в регуляции постишемического нейровоспаления и ее вовлечении в ишемическое поражение головного мозга на ранних стадиях острого периода ИИ.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов и выражают благодарность коллективу кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» г. Санкт-Петербург за сотрудничество и предоставление базы для обследования пациентов.

 10.46235/1028-7221-16662-TDO

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Характеристика внутриклеточной экспрессии биомаркеров аутофагии в лейкоцитах периферической крови в динамике острого периода ИИ.

Table 1. Characteristics of intracellular expression of autophagy biomarkers in peripheral blood leukocytes during the acute period of IS.

Показатель Index	Группы обследуемых лиц Groups of examined persons								
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
	1-ые сутки 1st day			7-ые сутки 7th day			14-ые сутки 14th day		
LC3, % позитивных клеток LC3, % positive cells	5,9**	7,5**	0,08	7,4**	11,8**	–	4,1*	9,6**	–
p62, % позитивных клеток p62, % positive cells	1,9*	3,1*	0,9	3,5*	4,2*	–	2,1*	3,6*	–
Cyto-ID, MFI[#] Cyto-ID, MFI	6,8*	9,4*	1,1	8,9*	12,5**	–	4,5*	10,1**	–

Примечание: 1. I группа – среднетяжелое течение заболевания (n=82); II группа – тяжелое течение заболевания (n=30); III группа – контрольная (n=56). 2. *Различия по изучаемому показателю с контрольной группой статистически достоверны (p <0,05); **различия по изучаемому показателю с контрольной группой статистически достоверны (p <0,01); ***различия по изучаемому показателю с контрольной группой статистически достоверны (p <0,001). 3. [#]MFI – средняя интенсивность флюоресценции.

Note: 1. I group – moderate course of the disease (n=82); II group – severe course of the disease (n=30); III group – control (n=56). 2. *Differences in the studied indicator with the control group are statistically significant (p <0,05); **differences in the studied indicator with the control group are statistically significant (p <0,01); ***differences in the studied indicator with the control group are statistically significant (p <0,001). 3. MFI* – mean fluorescence intensity.

 ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)

 10.46235/1028-7221-16662-TDO

Таблица 2. Сравнительная характеристика содержания биомаркеров аутофагии, про- и противовоспалительных цитокинов, нейропептида S100B в сыворотке крови пациентов в динамике острого периода ИИ.

Table 2. Comparative characteristics of the content of biomarkers of autophagy, pro- and anti-inflammatory cytokines, neuropeptide S100B in the patient's blood serum in the dynamics of the acute period of IS.

Показатель Index	Группы обследуемых лиц Groups of examined persons								
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
	1-ые сутки 1st day			7-ые сутки 7th day			14-ые сутки 14th day		
LC3, нг/л LC3, ng/l	175,8*	252,7**	89,3	216,4**	311,2**	–	196,1*	273,8**	–
Beclin-1, нг/л Beclin-1, ng/l	149,9*	188,9*	75,6	198,9*	230,7**	–	168,3*	203,9**	–
p62, пг/мл p62, pg/ml	37,5*	20,1*	11,4	32,7*	41,4**	–	24,6*	38,3*	–
TNFα, пг/мл TNFα, pg/ml	27,8**	64,1***	6,4	18,9*	27,9*	–	15,1*	20,9**	–
IL-1β, пг/мл IL-1β, pg/ml	30,9**	55,4***	3,9	19,8**	33,5***	–	11,2*	19,5**	–
IL-4, пг/мл IL-4, pg/ml	23,5**	30,9**	5,5	19,4*	26,8**	–	13,1*	21,4**	–
IL-6, пг/мл IL-6, pg/ml	20,4*	71,5***	6,9	14,1*	63,5***	–	13,5*	61,6***	–
IL-8, пг/мл IL-8, pg/ml	41,4**	81,5***	12,8	30,6*	59,8**	–	24,9*	41,7**	–
IL-10, пг/мл IL-10, pg/ml	28,3**	59,8***	4,5	20,7**	45,4***	–	13,3*	32,1**	–

 ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)

IL-18, пг/мл IL-18, pg/ml	358,9*	891,6*** *	158,9	303,8*	501,6**	–	211,5*	415,6**	–
S100B, пг/мл S100B pg/ml	20,5**	183,8*** *	0,9	13,9**	39,9***	–	10,5**	23,8**	–

Примечание: См. пункты 1 и 2 примечания к таблице 1.

Note: See points 1 and 2 of the note to Table 1.

Таблица 3. Установленные корреляционные связи между концентрацией ключевого биомаркера аутофагии LC3 (нг/л) и уровнем показателей нейровоспаления в динамике острого периода ИИ у больных с разной степенью тяжести заболевания.

Table 3. Correlations between the concentration of the key autophagy biomarker LC3 (ng/l) and the level of indicators of neuroinflammation in the dynamics of the acute period of IS in patients with different severity of the disease.

Показатель Index	Коэффициент Спирмена (r), Spearman's coefficient (r), p <0,05					
	Группы обследуемых пациентов Groups of examined patients					
	I	II	I	II	I	II
	1-ый день 1st day		7-ой день 7th day		14-ый день 14th day	
TNFα, пг/мл TNFα, pg/ml	r=0,68	r=0,73	r=0,56	r=0,59	r=0,31	r=0,36
IL-1β, пг/мл IL-1β, pg/ml	r=0,79	r=0,83	r=0,63	r=0,69	r=-0,39	r=-0,45
IL-4, пг/мл IL-4, pg/ml	r=-0,21	r=-0,42	r=-0,15	r=-0,31	r=-0,11	r=-0,18

 10.46235/1028-7221-16662-TDO

IL-6, пг/мл IL-6, pg/ml	r=0,61	r=0,75	r=0,53	r=0,68	r=0,35	r=0,55
IL-8, пг/мл IL-8, pg/ml	r=0,54	r=0,59	r=0,21	r=0,29	r=0,18	r=0,23
IL-10, пг/мл IL-10, pg/ml	r=-0,44	r=-0,63	r=-0,33	r=-0,55	r=-0,22	r=-0,32
IL-18, пг/мл IL-18, pg/ml	r=0,73	r=0,79	r=0,61	r=0,65	r=-0,29	r=-0,47

Примечание: См. пункт 1 примечания к таблице 1.

Note: See point 1 of the note to Table 1.

 ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)

 10.46235/1028-7221-16662-TDO

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДАННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Анна Владимировна Луговая – к.м.н., врач аллерголог-иммунолог, врач клинической лабораторной диагностики, ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, старший научный сотрудник Научно-исследовательского центра «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» Северо-Западного отделения РАН, Санкт-Петербург, Россия;
адрес: 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д.6-8, корпус №11;
телефон/факс: 8(921)315-97-48 / 8(812)338-66-11;
e-mail: lugovaya2710spb@icloud.com

Anna Vladimirovna Lugovaya – PhD (Medicine), Clinical Allergist-Immunologist, Clinical Laboratory Diagnostition, Assistant of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics with a Course in Molecular Medicine, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation, Senior Researcher of the Research Center "St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology" of the North-Western Branch of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia;
address: 197022, St. Petersburg, L'va Tolstogo str. 6/8, building №11;
telephone/fax: 8(921)315-97-48 / 8(812)338-66-11;
e-mail: lugovaya2710spb@icloud.com

Блок 2. Информация об авторах

Калинина Н. М., д.м.н., профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, врач аллерголог-иммунолог, главный научный сотрудник ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия;
e-mail: doctkalin@mail.ru

Kalinina N. M., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Immunology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Leading Research Associate, Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russia;
e-mail: doctkalin@mail.ru

 ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)

 10.46235/1028-7221-16662-TDO
Иванов А. М., д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заведующий кафедрой клинической биохимии и лабораторной диагностики ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова», Санкт-Петербург, Россия;
e-mail: iamvma@mail.com
Ivanov A. M., PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Department of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia;
e-mail: iamvma@mail.com

Никитин Ю. В., врач аллерголог-иммунолог центра клинической лабораторной диагностики, преподаватель кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова», Санкт-Петербург, Россия;
e-mail: dr.iuriinikitin@gmail.com
Nikitin Yu. V., Clinical Allergologist-Immunologist, Center of Clinical Laboratory Diagnostics; Lecturer, Department of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia;
e-mail: dr.iuriinikitin@gmail.com

Сухина И. А., к.б.н., преподаватель кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова», Санкт-Петербург, Россия;
e-mail: kinya2000@mail.ru
Sukhina I. A., PhD (Biology), Lecturer, Department of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia;
e-mail: kinya2000@mail.ru

Митрейкин В. Ф., д.м.н., профессор кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;
e-mail: mvphch2742@mail.ru
Mitreikin V. Ph., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Pathological Physiology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia;
e-mail: mvphch2742@mail.ru

 ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)

 10.46235/1028-7221-16662-TDO
Забиров С. Ш., к.м.н., руководитель центра медицинской реабилитации и заведующий отделением медицинской реабилитации взрослых с нарушением функции ЦНС, врач-невролог, член Союза реабилитологов России, СПб ГБУЗ «Клиническая больница Святителя Луки», Санкт-Петербург, Россия;
e-mail: info@lucaclinic.ru
Zabirov S. Sh., S. Sh. Zabirov, PhD (Medicine), Head of the Center for Medical Rehabilitation and Head of the Department of Medical Rehabilitation of Adults with CNS Disabilities, Neurologist, Member of the Union of Rehabilitologists of Russia, City Clinical Hospital of St. Luke, St. Petersburg, Russia;
e-mail: info@lucaclinic.ru

Кирилкин Г. Э., клинический ординатор кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины, ФГБОУ ВО «ПСПБГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;
e-mail: germankirilkin@gmail.com
Kirilkin G. E., Clinical Resident of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics with a Course of Molecular Medicine, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia;
e-mail: germankirilkin@gmail.com

 ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)

 10.46235/1028-7221-16662-TDO

Блок 3. Метаданные статьи

ДИНАМИКА БИОМАРКЕРОВ АУТОФАГИИ И НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ АТЕРОТРОМБОТИЧЕСКОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

THE DYNAMICS OF BIOMARKERS OF AUTOPHAGY AND NEUROINFLAMMATION IN THE ACUTE PERIOD OF ATHEROTHROMBOTIC ISCHEMIC STROKE

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:
АУТОФАГИЯ, НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕ, ИНСУЛЬТ

AUTOPHAGY, NEUROINFLAMMATION, STROKE

Ключевые слова: аутофагия; постишемическое нейровоспаление, острый ишемический инсульт; биомаркеры нейровоспаления, провоспалительные цитокины; биомаркеры аутофагии; Beclin-1; LC3; p62; нейропептид S100B.
Keywords: autophagy; postischemic neuroinflammation; acute ischemic stroke; biomarkers of neuroinflammation; proinflammatory cytokines; autophagy biomarkers; Beclin-1; LC3; p62; neuropeptide S100B.

Объединенный иммунологический форум 2024.
Количество страниц текста – 6,
Количество таблиц – 3,
Количество рисунков – 0.
03.04.2024

 ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)

 10.46235/1028-7221-16662-TDO

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

№	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1.	Луговая А.В., Калинина Н.М., Иванов А.М., Никитин Ю.В., Сухина И.А., Митрейкин В.Ф., Семенова Е.В. Выявление взаимосвязи между биомаркерами аутофагии, апоптоза и воспаления в остром периоде атеротромботического ишемического инсульта // *Медицинская иммунология, 2023, Т. 25, № 4. С. 939-946.* [Lugovaya A.V., Kalinina, N.M., Ivanov A.M., Nikitin Yu. V., Sukhina I.A., Mitreikin V.Ph., Semenova E.V. Identification of the relationship between biomarkers of autophagy, apoptosis and inflammation in the acute period of atherothrombotic		[doi: 10.15789/1563-0625-IOT-2832]

 ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)

	ischemic stroke. *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology, 2023, Vol. 25, no. 4, pp. 939-946. (In Russ.)]*		
2.	Chen R., Jiang M., Li B., Zhong W., Wang Z., Yuan W., Yan J. The role of autophagy in pulmonary hypertension: a double-edge sword. Apoptosis, 2018, Vol. 23, no. 9, pp. 459-469.		[doi: 10.1007/s10495-018-1477-4]
3.	Guimarães de Almeida Barros A., Roquim E Silva L., Pessoa A., Eiras Falcão A., Viana Magno L.A., Valadão Freitas Rosa D., Aurelio Romano Silva M., Marques de Miranda D., Nicolato R. Use of biomarkers for predicting a malignant course in acute ischemic stroke: an observational case-control study.		[doi: 10.1038/s41598-023-43408-z]

	Sci. Rep. 2023, Vol. 13, no. 1, 16097.		
4.	Hu K., Gao Y., Chu S., Chen N. Review of the effects and Mechanisms of microglial autophagy in ischemic stroke. Int. Immunopharmacol., 2022, Vol. 108, 108761.		[10.1016/j.intimp.2022.108761]
5.	Jiang C.T., Wu W.F., Deng Y.H., Ge J.W. Modulators of microglia activation and polarization in ischemic stroke (Review). Mol. Med. Rep., 2020, Vol. 21, no. 5, pp. 2006-2018.		[doi: 10.3892/mmr.2020.11003]
6.	Lasek-Bal A., Jedrzejowska-Szypulka H., Student S., Warsz-Wianecka A., Zareba K., Puz P., Bal W., Pawletko K., Lewin-Kowalik J. The importance of selected markers of inflammation and blood-brain barrier damage for short-term ischemic stroke		[doi: 10.26402/jpp.2019.2.04]

	prognosis. J. Physiol. Pharmacol., 2019, Vol. 70, no. 2, pp. 209-217.		
7.	Li H., Qiu S., Li X., Li M., Peng Y. Autophagy biomarkers in CSF correlates with infarct size, clinical severity and neurological outcome in AIS patients. *J. Transl. Med. 2015. Vol. 13. P. 359.*		[doi: 10.1186/s12967-015-0726-3]
8	Li R., Fan W., Li D., Liu X. Correlation of common inflammatory cytokines with cognition impairment, anxiety, and depression in acute ischemic stroke patients. *Braz. J. Med. Biol. Res., 2022, Vol. 55: e11517.*		[doi: 10.1590/1414-431X2021e11517]
9.	Lu X., Zhang J., Ding Y., Wu J., Chen G. Novel Therapeutic Strategies for Ischemic Stroke: Recent Insights into Autophagy. Oxidative Medicine and Cellular	.	[doi: 10.1155/2022/3450207]

	Longevity, 2022, Vol. 2022, 3450207.		
10.	Mo Y., Sun Y.Y., Liu K.Y. Autophagy and inflammation in ischemic stroke. Neural Regen. Res. 2020, Vol. 15 no. 8, pp. 1388-1396.		[doi: 10.4103/1673-5374.274331]
11.	Tsygan N.V., Trashkov A.P., Litvinenko I.V., Yakovleva V.A., Ryabtsev A.V., Vasiliev A.G., Churilov L.P. Autoimmunity in acute ischemic stroke and the role of blood–brain barrier: the dark side or the light one? Front. Med., 2019, Vol. 13, no. 4, pp. 420-426.		[doi: 10.1007/s11684-019-0688-6]
12.	Qin X., Akter F., Qin L., Cheng J., Guo M., Yao S., Jian Z., Liu R., Wu S. Adaptive Immunity Regulation and Cerebral Ischemia.		[doi: 10.3389/fimmu.2020.00689]

 10.46235/1028-7221-16662-TDO

	Front. Immunol., 2020, Vol. 11, 689.		
13.	Zhu H., Hu S., Li Y., Sun Y., Xiong X., Hu X., Chen J., Qiu S. Interleukins and Ischemic Stroke. *Front. Immunol., 2022, Vol. 13, 828447.*		[doi: 10.3389/fimmu.2022.828447]
14.	Zhu H., Hu S., Li Y., Sun Y., Xiong X., Hu X., Chen J., Qiu S. Interleukins and Ischemic Stroke. Front. Immunol., 2022, Vol. 13, 828447.		[doi: 10.3389/fimmu.2022.828447]

 ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)