

НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ АМИНОТИОЛЫ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ В СОЧЕТАНИИ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА

М. Ю. Максимова¹ ✉, А. В. Иванов², К. А. Никифорова², Э. Д. Вирус², Е. Т. Суанова³, Ф. Р. Охтова³, М. А. Пирадов¹, А. А. Кубатиев²

¹ Научный центр неврологии, Москва, Россия

² Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия

³ Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова, Москва, Россия

Установлено, что ишемический инсульт (ИИ) приводит к снижению ряда восстановленных форм низкомолекулярных аминотиолов (НМАТ). Целью исследования было оценить влияние сахарного диабета 2-го типа (Т2СД) на общее содержание, восстановленные формы и редокс статус НМАТ у пациентов с ИИ. Обследованы 175 пациентов с ИИ в бассейне внутренних сонных артерий (средний возраст 62 (55–69)) года, поступившие в центр в первые 10–24 ч с момента возникновения неврологических нарушений. В основную группу вошли 68 пациентов (41,2% мужчин) с ИИ и Т2СД. Группу сравнения составили 107 пациентов (57% мужчин) с ИИ и стрессовой гипергликемией, контрольную группу — 31 пациент (54,8% мужчин) с хронической цереброваскулярной патологией (ЦВП) без СД. Во всех случаях пациентам при поступлении проводили исследование НМАТ в плазме крови методом жидкостной хроматографии. Установлено, что ИИ у пациентов с Т2СД ассоциируется с резким снижением уровней общего цистеина (оЦис), общего глутатиона (оГлн), общего гомоцистеина (оГцис), восстановленного глутатиона (вГлн), редокс-статуса глутатиона (РС Глн), а также повышением редокс-статуса цистеина (РС Цис) и редокс-статуса гомоцистеина (РС Нсу Гцис). У пациентов с Т2СД, в отличие от пациентов с развитием стрессовой гипергликемии в остром периоде ИИ, отмечены более низкие показатели оЦис, оГлн и оГцис. Таким образом, уровень РС Глн, составляющий 4,06% и менее в первые сутки ИИ у пациентов с Т2СД, является предиктором неблагоприятного функционального прогноза (оценка по шкале mRS составляет 3 балла и более спустя 3 недели после ИИ).

Ключевые слова: ишемический инсульт, сахарный диабет 2-го типа, низкомолекулярные аминотиолы

Вклад авторов: М. Ю. Максимова — разработка концепции, обобщающий анализ полученных данных, написание статьи; А. В. Иванов — разработка концепции, анализ литературы, исследование низкомолекулярных аминотиолов; К. А. Никифорова — сбор и первичный анализ лабораторных показателей; Э. Д. Вирус — обобщающий анализ полученных лабораторных данных; Е. Т. Суанова — статистическая обработка полученных данных; Ф. Р. Охтова — проведение клинического обследования пациентов; М. А. Пирадов — организация исследования; А. А. Кубатиев — организация исследования

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБНУ НЦН (протокол № 3-1/16 от 16 марта 2016 г.), проведено в соответствии с основными принципами Хельсинкской декларации.

✉ **Для корреспонденции:** Марина Юрьевна Максимова
Волоколамское шоссе, д. 80, г. Москва, 125367, Россия; ncnmaximova@mail.ru

Статья получена: 25.10.2021 **Статья принята к печати:** 13.11.2021 **Опубликована онлайн:** 08.12.2021

DOI: 10.24075/vrgmu.2021.057

PLASMA LOW MOLECULAR WEIGHT AMINOTHIOLS IN ISCHEMIC STROKE PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Maksimova MYu¹ ✉, Ivanov AV², Nikiforova KA², Virus ED², Suanova ET³, Ochtova FR³, Piradov MA¹, Kubatiev AA²

¹ Research Center of Neurology, Moscow, Russia

² Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

³ Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

It was found that ischemic stroke (IS) results in decreased levels of a number of reduced forms of low molecular weight aminothiols (LMWTs). The study was aimed to assess the impact of type 2 diabetes mellitus (T2D) on the total content, reduced forms and redox status of LMWTs in patients with IS. A total of 175 patients with IS in the internal carotid artery basin (the average age was 62 (55–69)) years) were assessed, who were admitted to the Center within the first 10–24 h since the onset of neurological disorder. The index group included 68 patients with IS and T2D (males made up 41.2%). The comparison group consisted of 107 patients with IS and stress hyperglycemia (males made up 57%), and the control group included 31 non-diabetic patients with chronic cerebrovascular disease (CCVD) (males made up 54.8%). The admission plasma levels of LMWTs were assessed by liquid chromatography in all patients. It was found, that IS in patients with T2D was associated with the rapid decrease in total cysteine (tCys), total glutathione (tGSH), total homocysteine (tHcy), reduced glutathione (rGSH), and glutathione redox status (GSH RS), along with the increase in cysteine redox status (Cys RS) and homocysteine redox status (Hcy RS). In contrast to patients with stress hyperglycemia developing during the acute period of IS, patients with T2D had lower tCys, tGSH, and tHcy levels. Thus, GSH RS of 4.06% or lower in the first 24 hours after the IS in patients with T2D was a predictor of poor functional outcome (mRS score was 3 or more 3 weeks after IS).

Keywords: ischemic stroke, type 2 diabetes mellitus, low molecular weight aminothiols

Author contribution: Maksimova MYu — concept formulation, data synthesis, manuscript writing; Ivanov AV — concept formulation, literature analysis, assessment of low molecular weight aminothiols; Nikiforova KA — primary laboratory data acquisition; Virus ED — laboratory data synthesis; Suanova ET — statistical data processing; Ochtova FR — clinical assessment of patients; Piradov MA — study management; Kubatiev AA — study management.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Research Center of Neurology (protocol № 3-1/16 dated March 16, 2016), it was carried out in accordance with the basic principles outlined in the Declaration of Helsinki.

✉ **Correspondence should be addressed:** Marina Yu. Maksimova
Volokolamskoe shosse, 80, Moscow, 125367, Russia; ncnmaximova@mail.ru

Received: 25.10.2021 **Accepted:** 13.11.2021 **Published online:** 08.12.2021

DOI: 10.24075/brsmu.2021.057

Инсульт является важнейшей причиной заболеваемости, инвалидности и смертности населения многих стран. При сахарном диабете 2-го типа (Т2СД) риск развития ишемического инсульта (ИИ) увеличивается в 2–2,5 раза, риск смерти от инсульта в 3 раза [1, 2]. Гипергликемия в первые часы инсульта может явиться стрессовой реакцией организма на ишемию мозга [3]. Выраженность нейрогормональных и метаболических нарушений отражает тяжесть течения ИИ и влияет на прогноз заболевания [4].

Установлена высокая частота атеросклероза внутренних сонных артерий (ВСА) у пациентов с Т2СД по сравнению с пациентами без него. В связи с этим у лиц с Т2СД наиболее часто патогенетическим подтипом ИИ является атеротромботический инсульт [5].

Одним из ведущих факторов патогенеза ИИ является окислительный стресс. Накопление продуктов свободнорадикального окисления вызывает блок SH-групп ферментов и их инактивацию, гидроксильное ДНК, ее фрагментацию и обусловленную этим дестабилизацию клеточных мембран [6, 7].

Низкомолекулярные аминотиолы (НМАТ) высокочувствительны к окислительному стрессу. В плазме крови преобладают их окисленные формы; отношение восстановленных форм к общему содержанию каждого тиола характеризует редокс-статус (РС). В проведенных экспериментальных и клинических исследованиях установлено снижение уровня восстановленных форм в остром периоде ИИ, что может свидетельствовать об активации окислительных процессов при недостаточности антиоксидантной защиты [8, 9].

У больных с Т2СД выявлено как увеличение уровня общего гомоцистеина (оГлс), так и снижение уровня общего глутатиона (оГлн) у женщин [10]. В других работах при Т2СД было отмечено снижение редокс-статуса глутатиона (РС Глн) в плазме [11] и цельной крови [12]. При ишемической болезни сердца (ИБС) установлена обратная зависимость между гипергликемией и уровнем оГлн в плазме крови ($r = -0,328$; $p = 0,011$), кроме того, показано, что Т2СД является фактором, оказывающим дополнительное отрицательное влияние на уровень оГлн [13]. Возможно, что низкий уровень оГлн в плазме крови связан с повышением активности γ -глутамилцистеинтрансферазы при гипергликемии [10]. Было также показано, что в эритроцитах больных Т2СД наблюдается снижение синтеза Глн и, возможно, возрастает скорость его потребления [14].

Цель исследования — оценить влияние Т2СД на общее содержание (о), восстановленные формы (в) и РС НМАТ в плазме крови у пациентов с ИИ.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 175 пациентов с ИИ в бассейне ВСА (89 мужчин и 86 женщин в возрасте 46–84 лет (средний возраст 62 (55–69) года), поступившие в Научный центр неврологии (Москва, Россия) в первые 10–24 ч с момента возникновения неврологических нарушений. В основную группу вошли 68 пациентов (41,2% мужчин) с ИИ и Т2СД. Группу сравнения составили 107 пациентов (57% мужчин) с ИИ и стрессовой гипергликемией, контрольную группу — 31 пациент (54,8% мужчин) с хронической цереброваскулярной патологией (ЦВГ) без СД (средний возраст 69 (60–75) лет).

Критерии включения: возраст от 45 лет до 85 лет; первичный ИИ; время поступления — первые 6–24 ч с

момента развития неврологической симптоматики; инфаркт в бассейне ВСА, подтвержденный данными нейровизуализации; Т2СД или стрессовая гипергликемия в момент поступления; информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения: СД 1-го типа; острый инфаркт миокарда; декомпенсированная почечная, печеночная, дыхательная недостаточность; сердечная недостаточность III–IV ФК.

Всем пациентам проводили общеклиническое и неврологическое обследование.

Оценку тяжести неврологических нарушений при поступлении больных и в конце острого периода ИИ проводили при помощи шкалы инсульта Национальных институтов здоровья (National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) [15]. Неврологические нарушения соответствуют легкой степени тяжести при NIHSS < 7; средней степени тяжести при $7 \leq \text{NIHSS} < 14$; тяжелому инсульту при $14 \leq \text{NIHSS}$. Повседневную деятельность и самообслуживание больных при поступлении и в 21-е сутки ИИ оценивали с помощью индекса Бартел (Bartel Index, BI) [16], функциональный статус — с использованием модифицированной шкалы Рэнкина (modified Renkin scale, mRS). Способности выполнять все обычные обязанности и участвовать в повседневной деятельности соответствовала оценка к 21 суткам 0–2 баллов по данной шкале, неблагоприятному функциональному прогнозу — ≥ 3 баллов [17].

Диагноз ИИ устанавливали на основании клинической картины и данных магнитно-резонансной томографии (Magnetom Symphony и Magnetom Avanto, 1,5 Т) в стандартных режимах (T2, T1, T2-FLAIR, T2*). Исследование церебральных артерий проводили с помощью МР-ангиографии в режиме 3D-TOF. Дуплексное исследование артерий головного мозга выполняли на приборе Philips iU22 (Philips; Нидерланды).

Патогенетический подтип ИИ определяли в соответствии с международными критериями TOAST (Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment) [18].

Исследование фибриногена проводили на автоматическом коагулометре ACL 9000 (Instrumentation Laboratory; США).

Уровни глюкозы (гексокиназным методом), гликированного гемоглобина (HbA1c) (иммунотурбометрическим методом), общего холестерина, липопротеинов низкой плотности, мочевины и креатинина исследовали на биохимическом анализаторе Konelab 30i (Thermo Fisher Scientific; Финляндия) с использованием наборов реагентов (Randox; Великобритания).

Всем пациентам с ИИ проводили определение гликемии при поступлении. HbA1c исследовали при гликемии от 6,1 ммоль/л и более при поступлении. Уровень HbA1c отражает гликемию за последние три месяца. Диагноз Т2СД устанавливали на основании критериев Американской диабетической ассоциации [19].

Всем пациентам с ИИ осуществляли базисную терапию, включающую гипотензивные, антиагреггационные и гиполипидемические препараты. Сахароснижающую терапию проводили под контролем гликемии.

Содержание НМАТ определяли, как описано ранее [8]. Венозную кровь собирали в пробирки с цитратом натрия (0,38%) и центрифугировали при 3000 g в течение 3 мин. Плазму для анализа общего содержания НМАТ отбирали и хранили при -20 °С. Для дериватизации 100 мкл плазмы смешивали с 10 мкл 50 мМ дитиотеритола

и 10 мкл внутреннего стандарта (пеницилламин 0,45 мМ). Растворы дитиотреитола и пеницилламина содержали 10 мМ ЭДТА-Na. Смесь инкубировали при 37 °С в течение 15 мин. Затем вносили в пробу 5,5'-дитиобиснитробензойную кислоту (600 мкл, 20 мМ) в этаноле и инкубировали смесь при 4 °С в течение 30 мин. После центрифугирования в течение 5 мин при 15 000 g осушали супернатант под вакуумом при 60 °С в течение 2 ч. Перед анализом осадок ресуспендировали в 30 мМ NaOH.

Для определения восстановленных форм HMAT к плазме (100 мкл) добавляли к 25 мкл раствора 5-сульфосалициловой кислоты (230 г/л) сразу после ее выделения, замораживали и хранили при –80 °С. Перед дериватизацией образцы центрифугировали в течение 5 мин при 15 000 g. Затем 40 мкл супернатанта смешивали с 40 мкл 20 мМ 5,5'-дитиобиснитробензойной кислоты и с 2,5 мкМ пеницилламина в 0,4 М Na-фосфатном буфере (pH 8,0). Затем добавляли 10 мкл 1 М NaOH, раствор перемешивали в течение 5 с и добавляли 12,5 мкл 1 М HCl с 20 мМ N-этилмалеимида для остановки реакции.

Для анализа использовали хроматографическую систему Waters ACQUITY (Waters, Милфорд; США), оснащенную УФ-детектором PDA (поглощение 330 нм; разрешение 10,8 нм; частота 5 с-1) и колонку Poroshell 120 SBC18 (2,8 мкм, 150 мкм — 2 мм) (Agilent; США). Температуру колонки и образцов поддерживали на уровне 50 и 10 °С соответственно. Объем ввода образца составлял 10 мкл, а скорость потока составляла 0,2 мл/мин. Элюент А — 0,1 М ацетат аммония с 0,12% (об./об.) HCOOH, элюент Б — ацетонитрил. Хроматографию проводили с элюированием Б с линейным градиентом от 2,5 до 10% в течение 5 мин. Регенерацию выполняли с использованием

70% Б в течение 1,5 мин, уравнивание — с помощью 2,5% Б в течение 4 мин.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного пакета IBM SPSS Statistics Version 20.0 (IBM Corp.; США). Для получения дискриминативных данных использовали модуль «описательные статистики». Количественные признаки описывали с помощью медианы, 25%- и 75%-го квартилей (Me (Q₁–Q₃%)), качественные данные представляли в виде абсолютных частот и процентов. При сравнении групп по количественному признаку использовали тесты Краскела–Уоллиса и Манна–Уитни. Для обнаружения прогностических факторов использовали методы логистической регрессии. Отбор переменных проводили методом условного включения переменных. Для оценки качества модели логистической регрессии использовали ROC-анализ и вычисление статистических характеристик тестов (чувствительность, специфичность). Для оценки прогностической силы модели проводили оценку площади под кривой AUC (Area Under Curve). Для определения оптимального порога отсечения учитывали требование соблюдения баланса между чувствительностью и специфичностью. Для всех сравнений и тестов применяли двусторонний критический уровень значимости, равный 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основные характеристики пациентов с ИИ и хронической ЦВП представлены в табл. 1. Группы пациентов не различались по возрасту, полу, показателям липидного и белкового обмена. Пациенты с ИИ до включения в исследование постоянно принимали гипотензивные препараты в 46 случаях (26,3%), антиагреганты — в 22

Таблица 1. Характеристика пациентов с ИИ и хронической цереброваскулярной патологией

Показатель	Пациенты с ИИ (n = 175)	Пациенты с хронической ЦВП без СД (n = 31)	p
Возраст, лет; Me (Q ₁ –Q ₃)	62 (55–69)	63 (58–69)	0,583
Пол (мужчины/женщины) (%)	89/86 (50,9/49,1)	17/14 (54,8/45,2)	0,702
Подтип ИИ:			
Атеротромботический инсульт (АТИ), n (%)	35 (20,0%)		
Кардиогенный эмболический инсульт (КЭИ), n (%)	50 (28,6%)		
Лакунарный инсульт (ЛИ), n (%)	90 (51,4%)		
Тяжесть инсульта при поступлении:			
NIHSS < 7 (легкая)	92 (52,6%)		
7 ≤ NIHSS < 14 (умеренная)	67 (38,3%)		
14 ≤ NIHSS (тяжелая)	16 (9,1%)		
NIHSS при поступлении; Me (Q ₁ –Q ₃)	6 (3–11)		
NIHSS на 21-е сут.; Me (Q ₁ –Q ₃)	3 (2–7)		
mRs при поступлении; Me (Q ₁ –Q ₃)	3 (2–4)		
mRs на 21-е сут.; Me (Q ₁ –Q ₃)	2 (1–3)		
Индекс Бартел при поступлении; Me (Q ₁ –Q ₃)	70 (20–90)		
Индекс Бартел на 21-е сут.; Me (Q ₁ –Q ₃)	85 (60–98)		
Хорошее восстановление (mRs 0–1), n (%)	79 (45,1%)		
Глюкоза, ммоль/л (при поступлении); Me (Q ₁ –Q ₃)	6,50 (6,22–7,72)	5,6 (5,3–6,0)	< 0,0001
Холестерин общий, ммоль/л (при поступлении); Me (Q ₁ –Q ₃)	5,9 (5,0–6,9)	5,9 (4,9–6,6)	0,277
ХС ЛПНП, ммоль/л (при поступлении); Me (Q ₁ –Q ₃)	2,33 (1,80–2,97)	2,2 (1,4–3,0)	0,433
Креатинин, мкмоль/л	91,0 (79,0–103,0)	86,0 (75,0–97,0)	0,059
Мочевина, ммоль/л (при поступлении); Me (Q ₁ –Q ₃)	6,5 (5,9–6,9)	6,2 (5,6–6,8)	0,841
Фибриноген, г/л (при поступлении); Me (Q ₁ –Q ₃)	3,40 (2,90–4,13)	3,58 (2,97–4,06)	0,119

Таблица 2. Сравнительный анализ плазменного уровня низкомолекулярных амиотиолов (мкМ) и их редокс-статуса (%) у пациентов с ИИ и в группе контроля (тест Манна–Уитни)

Показатель	Пациенты с ИИ ($n = 175$); Ме (Q_1 – Q_3)	Пациенты с хронической ЦВП без СД ($n = 31$); Ме (Q_1 – Q_3)	p
oЦис (мкМ)	332,3 (226,8–375,9)	267,1 (230,4–321,5)	0,720
oГлн (мкМ)	1,64 (1,02–2,52)	3,09 (2,10–3,66)	< 0,0001
oГцис (мкМ)	13,54 (8,64–18,93)	13,01 (11,45–15,93)	0,932
вЦис (мкМ)	6,28 (4,98–7,19)	6,32 (5,57–8,36)	0,330
вГлн (мкМ)	0,038 (0,024–0,058)	0,242 (0,177–0,374)	< 0,0001
вГцис (мкМ)	0,16 (0,13–0,23)	0,14 (0,10–0,17)	0,018
РС Цис, %	2,03 (1,64–2,67)	2,49 (1,98–2,97)	0,066
РС Глн, %	2,04 (1,51–3,47)	8,36 (6,68–15,96)	< 0,0001
РС Гцис, %	1,18 (0,90–1,91)	1,09 (0,83–1,33)	0,041

случаях (12,6%), антикоагулянты — в 11 (6,3%) и статины — в 8 случаях (4,6%). В группе с хронической ЦВП профилактическую терапию до включения пациентов в исследование не проводили.

Инсульт, обусловленный атеротромбозом ВСА, был диагностирован в 35 случаях (20%), кардиогенный эмболический инсульт — в 50 (28,6%), лакунарный инсульт,

обусловленный патологией мелких артерий, — в 90 случаях (51,4%).

При атеротромботическом инсульте имели место ступенчатое развитие неврологических нарушений и возникновение одиночных больших инфарктов корково-подкорковой локализации вне областей смежного кровоснабжения.

Таблица 3. Характеристика пациентов с ИИ в сочетании с Т2СД и пациентов с ИИ в сочетании со стрессовой гипергликемией (тест Манна–Уитни)

Показатель	Пациенты с ИИ в сочетании с Т2СД ($n = 68$)	Пациенты с ИИ и стрессовой гипергликемией ($n = 107$)	p
Возраст, лет; Ме (Q_1 – Q_3)	68 (55–75)	62 (54–67)	0,046
Пол (мужчины/женщины), (%)	28/40 (41,2/58,8)	61/46 (57,0/43,0)	0,045
Подтип ИИ:			
Атеротромботический инсульт (АТИ), n (%)	4 (5,9%)	31 (29,0%)	< 0,0001
Кардиогенный эмболический инсульт (КЭИ), n (%)	34 (50,0%)	16 (15,0%)	< 0,0001
Лакунарный инсульт (ЛИ), n (%)	30 (44,1%)	60 (56,1%)	0,162
Тяжесть инсульта при поступлении:			
NIHSS < 7 (легкая)/	32 (47,1%)	60 (56,1%)	0,278
$7 \leq$ NIHSS < 14 (умеренная)/	30 (44,1%)	37 (34,6%)	0,264
$14 \leq$ NIHSS (тяжелая)	6 (8,8%)	10 (9,3%)	1,000
NIHSS при поступлении; Ме (Q_1 – Q_3)	7 (4–11)	6 (3–10)	0,238
NIHSS на 21-е сут.; Ме (Q_1 – Q_3)	3 (2–8)	3 (2–7)	0,390
mRs при поступлении; Ме (Q_1 – Q_3)	70 (28–81)	70 (20–90)	0,790
mRs на 21-е сут.; Ме (Q_1 – Q_3)	85 (60–100)	85 (60–95)	0,957
Индекс Бартел при поступлении; Ме (Q_1 – Q_3)	3 (2–4)	3 (2–4)	0,922
Индекс Бартел на 21-е сут.; Ме (Q_1 – Q_3)	2 (1–3)	2 (1–3)	0,762
Хорошее восстановление (mRs 0-1), n (%); Ме (Q_1 – Q_3)	30 (44,1%)	49 (45,8%)	0,877
Длительность Т2СД, лет; Ме (Q_1 – Q_3)	7 (5–10)	–	
Глюкоза, ммоль/л (при поступлении); Ме (Q_1 – Q_3)	6,50 (6,18–8,11)	6,40 (6,16–7,08)	0,083
HbA1c, %; Ме (Q_1 – Q_3)	7,8 (6,8–9,6)	5,5 (5,4–5,8)	< 0,0001
Холестерин общий, ммоль/л (при поступлении); Ме (Q_1 – Q_3)	5,50 (5,00–6,63)	6,00 (5,00–7,00)	0,353
ХС ЛПНП, ммоль/л (при поступлении); Ме (Q_1 – Q_3)	2,33 (2,16–2,94)	2,27 (1,72–2,98)	0,432
Креатинин, мкмоль/л (при поступлении); Ме (Q_1 – Q_3)	94,0 (80,0–107,0)	88,0 (78,0–100,0)	0,075
Мочевина, ммоль/л (при поступлении); Ме (Q_1 – Q_3)	6,40 (5,25–6,93)	6,60 (6,10–6,90)	0,233
Фибриноген, г/л (при поступлении); Ме (Q_1 – Q_3)	3,61 (3,05–4,11)	3,39 (2,83–4,13)	0,267

Таблица 4. Сравнение плазменного уровня низкомолекулярных аминокислот (мкМ) и их редокс-статуса (%) у пациентов с ИИ в сочетании с Т2СД и у пациентов с ИИ в сочетании со стрессовой гипергликемией (тест Манна-Уитни)

Показатель	Пациенты с ИИ в сочетании с Т2СД (n = 68); Ме (Q ₁ -Q ₃)	Пациенты с ИИ и стрессовой гипергликемией (n = 107); Ме (Q ₁ -Q ₃)	p
оЦис (мкМ)	135,6 (126,7–150,5)	342,6 (307,0–390,0)	< 0,0001
оГлн (мкМ)	0,84 (0,55–1,1)	2,13 (1,32–2,71)	< 0,0001
оГцис (мкМ)	5,48 (4,75–6,5)	15,24 (12,97–20,61)	< 0,0001
вЦис (мкМ)	6,57 (4,44–7,72)	6,24 (5,03–7,14)	0,904
вГлн (мкМ)	0,038 (0,017–0,051)	0,036 (0,025–0,06)	0,223
вГцис (мкМ)	0,15 (0,12–0,19)	0,17 (0,13–0,24)	0,099
РС Цис, %	4,53 (2,85–5,69)	1,87 (1,46–2,27)	< 0,0001
РС Глн, %	4,47 (2,09–6,02)	1,96 (1,45–2,74)	< 0,0001
РС Гцис, %	2,61 (1,47–3,35)	1,08 (0,84–1,42)	< 0,0001

Причинами тромбоэмболии артерий мозга из сердца были эмбологенные формы ИБС (пароксизмальная форма фибрилляции предсердий в 29 случаях (58%), постоянная форма фибрилляции предсердий — в 17 случаях (34%), постинфарктный кардиосклероз — в 4 случаях (8%)). У 34 пациентов фибрилляция предсердий была диагностирована впервые в остром периоде ИИ. Клинически для кардиогенного эмболического инсульта было характерно внезапное появление стойкой неврологической симптоматики. По данным МРТ корково-подкорковые инфаркты локализовались преимущественно в бассейне средней мозговой артерии.

ИИ, обусловленный гипертоническими малыми глубинными инфарктами головного мозга, характеризовался постепенным нарастанием неврологических нарушений в виде лакунарных синдромов. Малые глубинные инфаркты локализовались в базальных ядрах, белом веществе полушарий большого мозга, внутренней капсуле. У 71 пациента (78,9%) с лакунарным инсультом выявлена артериальная гипертония 3-й степени, у 19 пациентов (21,1%) — артериальная гипертония 2-й степени.

Исходная оценка тяжести ИИ позволила выявить неврологические нарушения легкой степени (NIHSS < 7) в 92 случаях (52,6%), средней степени (7 ≤ NIHSS < 14) — в 67 случаях (38,3%), тяжелой степени (14 ≤ NIHSS) — в 16 случаях (9,1%) (см. табл. 1).

Уровень гликемии при поступлении среди пациентов с ИИ составил 6,50 (6,22–7,72) ммоль/л.

Проведенный анализ НМАТ показал, что в группе ИИ по сравнению с пациентами группы хронической ЦВП показатели оГлн, вГлн, РС Глн были значительно ниже (p < 0,0001), а вГцис и РС Гцис — выше (p = 0,018 и p = 0,041) (табл. 2).

Таблица 5. Плазменный уровень низкомолекулярных аминокислот (мкМ) и их редокс-статус (%) у пациентов с ИИ в сочетании с Т2СД с учетом функционального восстановления (тест Манна-Уитни)

Показатель	Пациенты с ИИ в сочетании с Т2СД (mRS 0–2 на 21-е сут.), n = 28; Ме (Q ₁ -Q ₃)	Пациенты с ИИ в сочетании с Т2СД (mRS 3 и более баллов на 21-е сут.); n = 40; Ме (Q ₁ -Q ₃)	p
оЦис (мкМ)	132,8 (125,7–140,0)	139,2 (132,2–57)	0,090
оГлн (мкМ)	0,85 (0,74–1,02)	0,61 (0,35–1,16)	0,416
оГцис (мкМ)	5,87 (4,78–6,38)	5,33 (4,53–7,01)	0,823
вЦис (мкМ)	6,57 (4,18–8,53)	6,55 (4,72–7,72)	0,959
вГлн (мкМ)	0,042 (0,02–0,053)	0,026 (0,014–0,042)	0,129
вГцис (мкМ)	0,15 (0,12–0,17)	0,15 (0,12–0,23)	1,000
РС Цис, %	5,26 (3,20–6,10)	3,51 (2,06–5,04)	0,043
РС Глн, %	4,92 (3,40–6,43)	2,79 (1,97–4,63)	0,018
РС Гцис, %	2,7 (1,97–3,57)	2,17 (1,13–3,18)	0,158

При анализе общей выборки уровень вГцис у мужчин с ИИ был выше, чем у женщин (0,17 (0,14–0,24) мкМ против 0,15 (0,12–0,21) мкМ; p = 0,026).

В группе пациентов с ИИ, включенных в исследование, Т2СД был диагностирован в 68 случаях, стрессовая гипергликемия — в 107 случаях (табл. 3). Длительность заболевания Т2СД менее 5 лет отмечена у 22 пациентов (32,4%), более 5 лет — у 46 (67,6%) пациентов. В группе пациентов с ИИ в сочетании с Т2СД уровень HbA1c составил 7,8% (6,8–9,6). Уровень менее 6,5% определен у 107 (61,1%) пациентов, от 6,5 до 6,9% — у 32 (18,3%), от 7 до 7,9% — у 20 (11,4%), от 8% и выше — у 16 (9,2%).

Инсульт, обусловленный тромбоэмболией артерий мозга из сердца, чаще отмечали среди пациентов с Т2СД (p < 0,0001), атеротромботический инсульт — среди пациентов со стрессовой гипергликемией (p < 0,0001). Отличий в частоте лакунарного инсульта между группами не выявлено (p = 0,162). По степени тяжести неврологических нарушений и функциональному статусу в остром периоде инсульта обследованные группы пациентов были сопоставимы (см. табл. 3).

В группе пациентов с ИИ в сочетании с Т2СД выявлено значительное снижение уровней оЦис, оГлн и оГцис по сравнению с пациентами группы ИИ и стрессовой гипергликемии (p < 0,0001). При этом уровни вЦис, вГлн и вГцис не имеют достоверных различий между группами пациентов с Т2СД и стрессовой гипергликемией. Возможно, что с этим связаны более высокие показатели РС Цис, РС Глн и РС Гцис в группе пациентов с ИИ и Т2СД (p < 0,0001) (табл. 4).

Статистически значимой связи между уровнем глюкозы крови и уровнями НМАТ не выявлено как в общей группе пациентов с ИИ, так и в отдельных группах пациентов (Т2СД и стрессовой гипергликемии).

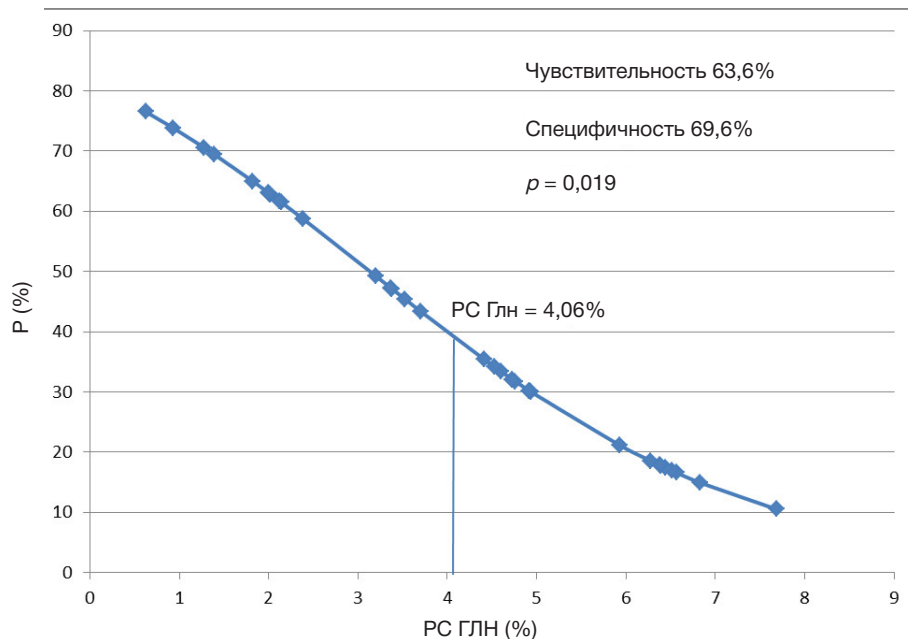


Рис. ROC кривая неблагоприятного функционального прогноза ($mRS \geq 3$) у пациентов с ИИ в сочетании с Т2СД при оценке редокс-статуса глутатиона

При разделении пациентов с ИИ в сочетании с Т2СД в зависимости от степени функционального восстановления к 21 суткам анализ HMAT показал, что в группе пациентов с легкими ограничениями повседневной деятельности (mRS — 0 до 2 баллов) показатели PC Цис и PC Глн были значительно выше, по сравнению с пациентами с тяжелыми нарушениями функциональной активности (PC Цис — 5,26 против 3,51 мкМ, $p = 0,043$; PC Глн — 4,92 против 2,79 мкМ, $p = 0,018$) (табл. 5).

Для выявления маркеров неблагоприятного прогноза ($mRS \geq 3$) у пациентов с ИИ в сочетании с Т2СД использовали методы логистической регрессии. Прогностическая значимость PC Глн представлена на рис. ROC-анализ 68 пациентов с ИИ в бассейне ВСА в сочетании с Т2СД показал, что пороговый уровень PC Глн $\leq 4,06\%$ в первые сутки ИИ является предиктором неблагоприятного прогноза ИИ ($mRS \geq 3$ баллов через 21 день после ИИ). Чувствительность модели составила 63,6%, специфичность — 69,6%, площадь под ROC-кривой — $0,74 \pm 0,09$, что соответствует хорошему качеству для прогнозирования функционального восстановления при ИИ.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Хроническую гипергликемию при Т2СД рассматривают как один из неблагоприятных факторов риска развития ИИ. Глюкоза — химическое соединение, активно вступающее в реакции взаимодействия с белками и липидами с образованием конечных продуктов гликозилирования [20, 21]. Гипергликемия, хронический окислительный стресс, митохондриальная дисфункция при Т2СД приводят к дисфункции эндотелия, нарушению ангиогенеза, активации гемостаза, повышенной проницаемости гематоэнцефалического барьера [22]. Гипергликемия резко усиливает окислительные процессы путем снижения уровней витаминов E, C и других антиоксидантов (мочевой кислоты) [11], а также является дополнительным фактором, стимулирующим и облегчающим образование активных форм кислорода [23].

Хроническую гипергликемию определяют по степени связывания гемоглобина с глюкозой и процентному содержанию HbA1c. Чем выше уровень HbA1, тем более высокие значения гликемии отмечали у пациента в

последние три месяца. В норме этот показатель не превышает 6,5%. Увеличение HbA1c на каждый 1% повышает риск развития инсульта на 17% [24]. В проведенном нами исследовании длительность Т2СД составила 7 лет, уровень HbA1c — 7,8 %.

При ИИ воздействие гипергликемии на головной мозг опосредовано как нарушением церебральной микроциркуляции, так и токсическим воздействием на ткань мозга. С гипергликемией связывают накопление лактата, образование свободных радикалов, развитие цитотоксического отека мозга, нарушение проницаемости гематоэнцефалического барьера [25, 26].

Гипергликемия при Т2СД и ИИ приводит к истощению антиоксидантной системы и нарушению всех видов тканевого обмена. Показателем окислительно-восстановительного гомеостаза в клетках и тканях и индикатором антиоксидантного потенциала плазмы крови служит соотношение «тиолы / дисульфиды» или «SH / SS» [11, 27].

Глутатион — тиолсодержащий эндогенный трипептид, образованный цистеином, глутаминовой кислотой и глицином. Он синтезируется непрерывно, однако с относительно низкой скоростью [28]. Глутатион является также фактором, регулирующим метаболизм глюкозы у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями [13]. Полиморфизм глутатион-S-трансферазы, фермента глутатион-опосредованной детоксикации ксенобиотиков, способствует раннему развитию сердечно-сосудистых осложнений при сахарном диабете [29].

При остро возникшем окислительном стрессе уровень общего глутатиона (Gsh) снижается, уровень окисленного глутатиона увеличивается (GSSG), в результате чего ускоряется цикл Gsh / GSSG [27].

Гипергликемия в остром периоде ИИ связана с неблагоприятным функциональным прогнозом [4], однако эффективность влияния сахароснижающей терапии с применением инсулина на тяжесть и исход инсульта остается недоказанной [1].

Полученные результаты показывают, что Т2СД у пациентов с ИИ ассоциируется с резким снижением оЦис, оГлн и оГцис, вГлн и PC Глн, но при этом наблюдается повышение PC Цис и PC Гцис в плазме крови.

Возможно, что хронический окислительный стресс приводит к истощению НМАТ в плазме крови. Необратимая утилизация Глн может происходить при высокой интенсивности окислительного стресса, когда Глн экспортируется из клеток, чтобы предотвратить значительный сдвиг в окислительно-восстановительном равновесии [28]. По-видимому, это основной механизм, объясняющий отсутствие связей между оГлн, оЦис и оГцис, а также оГлн и вГлн. Статистически значимых связей между уровнями глюкозы крови и НМАТ также не выявлено. Это свидетельствует о том, что изменения в метаболизме НМАТ при Т2СД опосредованы негликемическими механизмами.

Уровень РС Глн, равный 4,06% и менее в первые сутки ИИ, является предиктором неблагоприятного прогноза ИИ (mRS \geq 3 через 3 недели после ИИ). В связи с этим поиск

подходов к коррекции метаболизма глутатиона у пациентов с Т2СД можно рассматривать как потенциальную задачу терапии в остром периоде ИИ.

ВЫВОДЫ

Т2СД является фактором, оказывающим значительное влияние на метаболизм НМАТ у пациентов с ИИ. Несмотря на отсутствие связи между уровнями глюкозы и НМАТ, наличие Т2СД было ассоциировано со снижением общего содержания гомоцистеина, цистеина и глутатиона, а редокс-статус глутатиона, равный 4,06% и менее в первые сутки ИИ, был связан с неблагоприятным функциональным прогнозом. Коррекция метаболизма глутатиона при ИИ в сочетании с Т2СД может оказывать положительное влияние на течение ИИ.

Литература

- Hill MD Stroke and diabetes mellitus. *Handb Clin Neurol.* 2014;126:167-74. DOI: 10.1016/B978-0-444-53480-4.00012-6.
- Sarwar N, Aspelund T, Eiriksdottir G, Gobin R, Seshasai SR, Forouhi NG, et al. Markers of dysglycaemia and risk of coronary heart disease in people without diabetes: Reykjavik prospective study and systematic review. *PLoS Med.* 2010; 7 (5): e1000278. DOI: 10.1371/journal.pmed.1000278.
- Barth E, Albuszies G, Baumgart K, Matejovic M, Wachter U, Vogt J, et al. Glucose metabolism and catecholamines. *Crit Care Med.* 2007; 35 (9 Suppl): S508-18. DOI: 10.1097/01.CCM.0000278047.06965.20.
- Zhu B, Pan Y, Jing J, Meng X, Zhao X, Liu L, et al. Stress Hyperglycemia and Outcome of Non-diabetic Patients After Acute Ischemic Stroke. *Front Neurol.* 2019; 10: 1003. DOI: 10.3389/fneur.2019.01003.
- Tuttolomondo A, Pinto A, Salemi G, Di Raimondo D, Di Sciacca R, Fernandez P, et al. Diabetic and non-diabetic subjects with ischemic stroke: differences, subtype distribution and outcome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2008; 18 (2): 152-7. DOI: 10.1016/j.numecd.2007.02.003.
- Zhao H, Han Z, Ji X, Luo Y. Epigenetic regulation of oxidative stress in ischemic stroke. *Aging Dis.* 2016; 2016; 7 (3): 295-306. DOI: 10.14336/AD.2015.1009.
- Khoshnam SE, Winlow W, Farzaneh M, Farbood Y, Moghaddam HF Pathogenic mechanisms following ischemic stroke. *Neurol Sci.* 2017; 38 (7): 1167-86. DOI: 10.1007/s10072-017-2938-1.
- Ivanov AV, Alexandrin VV, Paltsyn AA, Nikiforova KA, Virus ED, Luzyanin BP, et al. Plasma low-molecular-weight thiol/disulphide homeostasis as an early indicator of global and focal cerebral ischaemia. *Redox Rep.* 2017; 22 (6): 460-6. DOI: 10.1080/13510002.2017.1311464.
- Maksimova MY, Ivanov AV, Virus ED, Alexandrin VV, Nikiforova KA, Bulgakova PO, et al. Disturbance of thiol/disulfide aminothiols homeostasis in patients with acute ischemic stroke: Preliminary findings. *Clin Neurol Neurosurg.* 2019; 183: 105393. DOI: 10.1016/j.clineuro.2019.105393.
- Duman BS, Oztürk M, Yilmazeri S, Hatemi H. Thiols, malonaldehyde and total antioxidant status in the Turkish patients with type 2 diabetes mellitus. *Tohoku J Exp Med.* 2003; 201 (3): 147-55. DOI: 10.1620/tjem.201.147.
- Tessier D, Khalil A, Fülöp T. Effects of an oral glucose challenge on free radicals/antioxidants balance in an older population with type II diabetes. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 1999; 54 (11): M541-5. DOI: 10.1093/gerona/54.11.m541.
- Forrester TE, Badaloo V, Bennett FI, Jackson AA. Excessive excretion of 5-oxoproline and decreased levels of blood glutathione in type II diabetes mellitus. *Eur J Clin Nutr.* 1990; 44 (11): 847-50. PMID: 2086214.
- Karolczak K, Kubalczak P, Głowacki R, Pietruszyński R, Watała C. An inverse relationship between plasma glutathione concentration and fasting glycemia in patients with coronary artery disease and concomitant type 2 diabetes: A pilot study. *Adv Clin Exp Med.* 2017; 26 (9): 1359-66. DOI: 10.17219/acem/65441.
- Lutchmansingh FK, Hsu JW, Bennett FI, Badaloo AV, McFarlane-Anderson N, Gordon-Strachan GM, et al. Glutathione metabolism in type 2 diabetes and its relationship with microvascular complications and glycemia. *PLoS One.* 2018; 13 (6): e0198626. DOI: 10.1371/journal.pone.0198626.
- Fussner J, Velasco C. Stroke Coordinator Boot Camp. Assessing Stroke — Scores and Scales — American Heart Association. Available from: <https://www.heart.org>.
- Quinn TJ, Langhorne P, Stott DJ. Barthel index for stroke trials: development, properties, and application. *Stroke.* 2011; 42 (4): 1146-51. DOI: 10.1161/STROKEAHA.110.598540.
- Harrison JK, McArthur KS, Quinn TJ. Assessment scales in stroke: clinimetric and clinical considerations. *Clin Interv Aging.* 2013; 8: 201-11. DOI: 10.2147/CIA.S32405.
- Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke* 1993; 24: 35-41. DOI: 10.1161/01.STR.24.1.35.
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2013; 36: S67-S74. PMID:15618111.
- Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 2001; 414 (6865): 813-20. DOI: 10.1038/414813a.
- Nishikawa T, Kukidome D, Sonoda K, Fujisawa K, Matsuhisa T, Motoshima H, et al. Impact of mitochondrial ROS production on diabetic vascular complications. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007; 77 Suppl 1: S41-5. DOI: 10.1016/j.diabres.2007.01.031.
- Smith CJ, Lawrence CB, Rodriguez-Grande B, Kovacs KJ, Pradillo JM, Denes A. The immune system in stroke: clinical challenges and their translation to experimental research. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2013; 8 (4): 867-87. DOI: 10.1007/s11481-013-9469-1.
- Poulsen RC, Knowles HJ, Carr AJ, Hulley PA. Cell differentiation versus cell death: extracellular glucose is a key determinant of cell fate following oxidative stress exposure. *Cell Death Dis.* 2014; 5 (2): e1074. DOI: 10.1038/cddis.2014.52.
- Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ.* 2000; 321 (7258): 405-12. DOI: 10.1136/bmj.321.7258.405.
- Bruno A, Liebeskind D, Hao Q, Raychev R; UCLA Stroke Investigators. Diabetes mellitus, acute hyperglycemia, and ischemic stroke. *Curr Treat Options Neurol.* 2010; 12 (6): 492-

503. DOI: 10.1007/s11940-010-0093-6.
26. Venkat P, Chopp M, Chen J. Blood-Brain Barrier Disruption, Vascular Impairment, and Ischemia/Reperfusion Damage in Diabetic Stroke. *J Am Heart Assoc.* 2017; 6 (6): e005819. DOI: 10.1161/JAHA.117.005819.
 27. Jones DP. Redox potential of GSH/GSSG couple: assay and biological significance. *Methods Enzymol.* 2002; 348: 93–112. DOI: 10.1016/s0076-6879(02)48630-2.
 28. Wu G, Fang YZ, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr.* 2004; 134 (3): 489–92. DOI: 10.1093/jn/134.3.489.
 29. Etemad A, Vasudevan R, Aziz AF, Yusof AK, Khazaei S, Fawzi N, et al. Analysis of selected glutathione S-transferase gene polymorphisms in Malaysian type 2 diabetes mellitus patients with and without cardiovascular disease. *Genet Mol Res.* 2016; 15 (2). DOI: 10.4238/gmr.15025845.
- ## References
1. Hill MD Stroke and diabetes mellitus. *Handb Clin Neurol.* 2014;126:167-74. DOI: 10.1016/B978-0-444-53480-4.00012-6.
 2. Sarwar N, Aspelund T, Eiriksdottir G, Gobin R, Seshasai SR, Forouhi NG, et al. Markers of dysglycaemia and risk of coronary heart disease in people without diabetes: Reykjavik prospective study and systematic review. *PLoS Med.* 2010; 7 (5): e1000278. DOI: 10.1371/journal.pmed.1000278.
 3. Barth E, Albuszies G, Baumgart K, Matejovic M, Wachter U, Vogt J, et al. Glucose metabolism and catecholamines. *Crit Care Med.* 2007; 35 (9 Suppl): S508–18. DOI: 10.1097/01.CCM.0000278047.06965.20.
 4. Zhu B, Pan Y, Jing J, Meng X, Zhao X, Liu L, et al. Stress Hyperglycemia and Outcome of Non-diabetic Patients After Acute Ischemic Stroke. *Front Neurol.* 2019; 10: 1003. DOI: 10.3389/fneur.2019.01003.
 5. Tuttolomondo A, Pinto A, Salemi G, Di Raimondo D, Di Sciacca R, Fernandez P, et al. Diabetic and non-diabetic subjects with ischemic stroke: differences, subtype distribution and outcome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2008; 18 (2): 152–7. DOI: 10.1016/j.numecd.2007.02.003.
 6. Zhao H, Han Z, Ji X, Luo Y. Epigenetic regulation of oxidative stress in ischemic stroke. *Aging Dis.* 2016; 2016; 7 (3): 295–306. DOI: 10.14336/AD.2015.1009.
 7. Khoshnam SE, Winlow W, Farzaneh M, Farbood Y, Moghaddam HF Pathogenic mechanisms following ischemic stroke. *Neurol Sci.* 2017; 38 (7): 1167–86. DOI: 10.1007/s10072-017-2938-1.
 8. Ivanov AV, Alexandrin VV, Paltsyn AA, Nikiforova KA, Virus ED, Luzyanin BP, et al. Plasma low-molecular-weight thiol/disulphide homeostasis as an early indicator of global and focal cerebral ischaemia. *Redox Rep.* 2017; 22 (6): 460–6. DOI: 10.1080/13510002.2017.1311464.
 9. Maksimova MY, Ivanov AV, Virus ED, Alexandrin VV, Nikiforova KA, Bulgakova PO, et al. Disturbance of thiol/disulfide aminothiols homeostasis in patients with acute ischemic stroke stroke: Preliminary findings. *Clin Neurol Neurosurg.* 2019; 183: 105393. DOI: 10.1016/j.clineuro.2019.105393.
 10. Duman BS, Oztürk M, Yilmazeri S, Hatemi H. Thiols, malonaldehyde and total antioxidant status in the Turkish patients with type 2 diabetes mellitus. *Tohoku J Exp Med.* 2003; 201 (3): 147–55. DOI: 10.1620/tjem.201.147.
 11. Tessier D, Khalil A, Fülöp T. Effects of an oral glucose challenge on free radicals/antioxidants balance in an older population with type II diabetes. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 1999; 54 (11): M541–5. DOI: 10.1093/gerona/54.11.m541.
 12. Forrester TE, Badaloo V, Bennett FI, Jackson AA. Excessive excretion of 5-oxoproline and decreased levels of blood glutathione in type II diabetes mellitus. *Eur J Clin Nutr.* 1990; 44 (11): 847–50. PMID: 2086214.
 13. Karolczak K, Kubalczyk P, Głowacki R, Pietruszyński R, Watała C. An inverse relationship between plasma glutathione concentration and fasting glycemia in patients with coronary artery disease and concomitant type 2 diabetes: A pilot study. *Adv Clin Exp Med.* 2017; 26 (9): 1359–66. DOI: 10.17219/acem/65441.
 14. Lutchmansingh FK, Hsu JW, Bennett FI, Badaloo AV, McFarlane-Anderson N, Gordon-Strachan GM, et al. Glutathione metabolism in type 2 diabetes and its relationship with microvascular complications and glycemia. *PLoS One.* 2018; 13 (6): e0198626. DOI: 10.1371/journal.pone.0198626.
 15. Fussner J, Velasco C. Stroke Coordinator Boot Camp. Assessing Stroke — Scores and Scales — American Heart Association. Available from: <https://www.heart.org>.
 16. Quinn TJ, Langhorne P, Stott DJ. Barthel index for stroke trials: development, properties, and application. *Stroke.* 2011; 42 (4): 1146–51. DOI: 10.1161/STROKEAHA.110.598540.
 17. Harrison JK, McArthur KS, Quinn TJ. Assessment scales in stroke: clinimetric and clinical considerations. *Clin Interv Aging.* 2013; 8: 201–11. DOI: 10.2147/CIA.S32405.
 18. Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke* 1993; 24: 35–41. DOI: 10.1161/01.STR.24.1.35.
 19. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2013; 36: S67–S74. PMID:15618111.
 20. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 2001; 414 (6865): 813–20. DOI: 10.1038/414813a.
 21. Nishikawa T, Kukidome D, Sonoda K, Fujisawa K, Matsuhisa T, Motoshima H, et al. Impact of mitochondrial ROS production on diabetic vascular complications. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007; 77 Suppl 1: S41–5. DOI: 10.1016/j.diabres.2007.01.031.
 22. Smith CJ, Lawrence CB, Rodriguez-Grande B, Kovacs KJ, Pradillo JM, Denes A. The immune system in stroke: clinical challenges and their translation to experimental research. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2013; 8 (4): 867–87. DOI: 10.1007/s11481-013-9469-1.
 23. Poulsen RC, Knowles HJ, Carr AJ, Hulley PA. Cell differentiation versus cell death: extracellular glucose is a key determinant of cell fate following oxidative stress exposure. *Cell Death Dis.* 2014; 5 (2): e1074. DOI: 10.1038/cddis.2014.52.
 24. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ.* 2000; 321 (7258): 405–12. DOI: 10.1136/bmj.321.7258.405.
 25. Bruno A, Liebeskind D, Hao Q, Raychev R; UCLA Stroke Investigators. Diabetes mellitus, acute hyperglycemia, and ischemic stroke. *Curr Treat Options Neurol.* 2010; 12 (6): 492–503. DOI: 10.1007/s11940-010-0093-6.
 26. Venkat P, Chopp M, Chen J. Blood-Brain Barrier Disruption, Vascular Impairment, and Ischemia/Reperfusion Damage in Diabetic Stroke. *J Am Heart Assoc.* 2017; 6 (6): e005819. DOI: 10.1161/JAHA.117.005819.
 27. Jones DP. Redox potential of GSH/GSSG couple: assay and biological significance. *Methods Enzymol.* 2002; 348: 93–112. DOI: 10.1016/s0076-6879(02)48630-2.
 28. Wu G, Fang YZ, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr.* 2004; 134 (3): 489–92. DOI: 10.1093/jn/134.3.489.
 29. Etemad A, Vasudevan R, Aziz AF, Yusof AK, Khazaei S, Fawzi N, et al. Analysis of selected glutathione S-transferase gene polymorphisms in Malaysian type 2 diabetes mellitus patients with and without cardiovascular disease. *Genet Mol Res.* 2016; 15 (2). DOI: 10.4238/gmr.15025845.