

В. С. Личко

ІМУННІ ПРЕДИКТОРИ ГОСТРОГО ПЕРІОДУ ІНФАРКТУ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

В. С. Лычко

Иммунные предикторы острого периода инфаркта головного мозга

V. Lychko

Immune predictors in acute phase of ischemic stroke

Гострий період інфаркту головного мозку (ІГМ) завжди супроводжується істотними змінами цитокинового статусу хворих, впливає на подальший перебіг захворювання, визначає ступінь його тяжкості і прогноз.

Мета дослідження — вивчити комплексні особливості зміни цитокинового профілю у пацієнтів різного ступеня тяжкості в гострій фазі ІГМ для оптимізації діагностики та виявлення нових прогностичних факторів.

Було проведено імунологічний моніторинг хворих на ІГМ: визначено рівні прозапальних (інтерлейкін-6 (ІЛ-6) і ФНП-α) та протизапальних цитокинів (ІЛ-4 і ІЛ-10) в сироватці крові 350 пацієнтів з ІГМ під час госпіталізації на 1-у, 10-у і 21-у добу лікування. Результати дослідження продемонстрували високі рівні зазначених речовин в дебюті ІГМ і в динаміці захворювання, що визначали ступінь тяжкості стану хворих. Отримані дані дали змогу розробити нові прогностичні критерії важкості гострого періоду ІГМ.

Концентрація ІЛ-6 в плазмі крові в дебюті захворювання може досягати $32,75 \pm 3,44$ пг/мл. Рівні від $34,77 \pm 2,9$ пг/мл до $35,26 \pm 1,96$ пг/мл вказують на тяжкість місцевої запальної відповіді. Рівень TNF-α на 1-у добу досягає $16,13 \pm 0,77$ пг/мл. Несприятливими для прогнозу слід вважати концентрації в межах $18,69 \pm 0,64$ — $18,87 \pm 0,83$ пг/мл. У 1-у добу концентрація ІЛ-4 може досягати $4,51 \pm 1,67$ пг/мл, а ІЛ-10 — $2,36 \pm 0,31$ пг/мл. Високий рівень ІЛ-4 в сироватці крові від $5,15 \pm 1,17$ пг/мл до $5,42 \pm 0,27$ пг/мл і ІЛ-10 — від $2,48 \pm 0,33$ пг/мл до $2,57 \pm 0,11$ пг/мл може свідчити про істотну інтенсивність запальних процесів в зоні ураження, що також завжди негативно впливає на результат хвороби.

Ключові слова: цитокини, інтерлейкін, гострий період, запалення, предиктор

Імунозапальні реакції різного ступеня вираженості виявляються практично при всіх формах гострої цереброваскулярної патології, а інфаркт головного мозку (ІГМ) є класичним прикладом асептичного запального процесу, що розгортається разом із формуванням зони некрозу мозкової тканини, та напряму впливає на ступінь пошкодження. Інтенсивність

Острый период инфаркта головного мозга (ИГМ) всегда сопровождается значительными изменениями цитокинового статуса больных, влияет на дальнейшее течение заболевания, определяет степень его тяжести и прогноз.

Цель исследования — изучить комплексные особенности изменения цитокинового профиля у пациентов разной степени тяжести в острой фазе ИГМ для оптимизации диагностики и выявления новых прогностических факторов.

Было проведено иммунологический мониторинг больных ИГМ: определены уровни провоспалительных (интерлейкин-6 (ИЛ-6) и ФНО-α) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4 и ИЛ-10) в сыворотке крови 350 пациентов с ИГМ при госпитализации на 1, 10 и 21 сутки лечения. Результаты исследования продемонстрировали высокие уровни указанных веществ в дебюте ИГМ и в динамике заболевания, что определяли степень тяжести состояния больных. Полученные данные позволили разработать новые прогностические критерии тяжести острого периода ИГМ.

Концентрация ИЛ-6 в плазме крови в дебюте заболевания может достигать $32,75 \pm 3,44$ пг/мл. Уровни от $34,77 \pm 2,9$ пг/мл до $35,26 \pm 1,96$ пг/мл указывают на тяжесть местного воспалительного ответа. Уровень TNF-α на 1 сутки достигает $16,13 \pm 0,77$ пг/мл. Неблагоприятными для прогноза следует считать концентрации в пределах $18,69 \pm 0,64$ — $18,87 \pm 0,83$ пг/мл. В 1-е сутки концентрация ИЛ-4 может достигать $4,51 \pm 1,67$ пг/мл, а ИЛ-10 — $2,36 \pm 0,31$ пг/мл. Высокий уровень ИЛ-4 в сыворотке крови от $5,15 \pm 1,17$ пг/мл до $5,42 \pm 0,27$ пг/мл и ИЛ-10 от $2,48 \pm 0,33$ пг/мл до $2,57 \pm 0,11$ пг/мл может свидетельствовать о значительной интенсивности воспалительных процессов в области поражения, что также всегда негативно влияет на исход болезни.

Ключевые слова: цитокин, интерлейкин, острый период, воспаление, предиктор

системних реакцій під час розвитку запалення насамперед визначається рівнями прозапальних цитокинів, простагландинів, кінінів, деяких гормонів, серед яких найважливішу роль відіграють інтерлейкін-6 (ІЛ-6) та фактор некрозу пухлин-α (ФНП-α) [1—3]. Швидке збільшення вмісту в крові останніх є відповідною реакцією імунної системи на пошкодження і має сприяти мобілізації захисних сил організму. Тому особливої актуальності набуває імунологічний моніторинг в ди-

The acute phase of ischemic stroke (IS) is always accompanied by significant changes in the cytokine status of patients, which affects the further course of disease, determines the severity and prognosis. The purpose of the research was to study complex features peculiarities of changes in cytokine profile in patients of various degrees of severity in the acute phase of IS to optimize diagnosis and identify new prognostic factors.

Immunological monitoring of 350 patients with IS was performed to determine the plasma levels of main pro- and anti-inflammatory cytokines. The results of the study showed high levels of these substances in debut of IS and in dynamics of the disease, which determined the severity of patients. The data obtained allowed us to develop new prognostic criteria for severity in the acute phase of IS.

The levels of proinflammatory (interleukin-6 (IL-6) and TNF-α) and anti-inflammatory cytokines (IL-4 and IL-10) in the serum of 350 patients with IS during hospitalization on the 1st, 10th and 21st day of treatment were performed.

The plasma concentration of IL-6 in the debut of the disease can reach 32.75 ± 3.44 pg/ml. The levels from 34.77 ± 2.9 pg/ml to 35.26 ± 1.96 pg/ml indicate the severity of local inflammatory response. The levels of TNF-α at day 1 reaches 16.13 ± 0.77 pg/ml unfavorable for the forecast should be considered concentrations within 18.69 ± 0.64 — 18.87 ± 0.83 pg/ml. On the 1st day, the concentration of IL-4 can reach 4.51 ± 1.67 pg/ml, and IL-10 — 2.36 ± 0.31 pg/ml. High levels of IL-4 in serum from 5.15 ± 1.17 pg/ml to 5.42 ± 0.27 pg/ml, and IL-10 from 2.48 ± 0.33 pg/ml to 2.57 ± 0.11 pg/ml can indicate a significant intensity of inflammatory processes in the lesion area, which is also always adversely affected by the outcome of the disease.

Keywords: cytokine, interleukin, acute phase, inflammation, predictor

наміці розвитку ІГМ, що дає змогу оцінювати тяжкість ураження, прогнозувати подальший перебіг і виходи захворювання [4, 5].

Водночас, зниження інтенсивності локального запального процесу в пошкодженій мозковій речовині пов'язане з продукцією протизапальних цитокінів, найважливішими з яких є ІЛ-4 і ІЛ-10, що інгібують синтез прозапальних імунних факторів, пригнічують проліферативну відповідь імуніцитів на антигени та активність макрофагів, а також підвищують синтез імуноглобулінів [6—8].

Метою роботи було комплексне вивчення особливостей змін цитокінового профілю хворих різного ступеня тяжкості в гострому періоді ІГМ для оптимізації діагностики та визначення нових прогностичних факторів.

Для визначення ступеня дисфункції цитокінової системи під час ІГМ було проведено дослідження рівнів прозапальних (ІЛ-6 і ФНП- α) і протизапальних цитокінів (ІЛ-4 і ІЛ-10) в сироватці крові 350 хворих з цієї патологією під час госпіталізації на 1-у, 10-у і 21-у добу лікування. Як групу порівняння додатково було обстежено 30 умовно здорових осіб (17 чоловіків і 13 жінок, середній вік — $60,4 \pm 0,8$ років), що однорідні за статтю та віком із групою хворих на ІГМ.

Тяжкість стану оцінювали за допомогою шкали інсульту Національного інституту здоров'я США (NIHSS) з оцінкою за 15 показниками [9], що виражалася в балах, у перші години захворювання, в динаміці лікування на 10-у та 21-у добу. На підставі цього усіх хворих було поділено на дві клінічні групи: перша ($n = 183$) — хворі в стані середнього ступеня тяжкості (середній бал за шкалою NIHSS — $11,74 \pm 0,33$); друга ($n = 167$) — хворі в тяжкому стані (середній бал за шкалою NIHSS — $23,11 \pm 0,37$).

Визначення плазмових рівнів ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-10, ФНП- α проводили методом твердофазного імунферментного аналізу з використанням тест-систем виробництва ТОВ «Укрмед-Дон» (Україна), за протоколом фірми-виробника, на імунферментному планшетному аналізаторі «Stat Fax 3200» (Awareness Technology, США).

Плазмовий рівень ІЛ-6 в контрольній групі становив $3,51 \pm 0,28$ пг/мл, що загалом відповідало літературним даним [5]. Загальний вміст ІЛ-6 в обох групах хворих на ІГМ на 1-у, 10-у і 21-у добу захворювання виявився вищим за контрольні величини ($p < 0,05$). Середня концентрація ІЛ-6 в обох групах хворих у дебюті захворювання становила $32,75 \pm 3,44$ пг/мл, на 10-у добу — $22,64 \pm 3,11$ пг/мл та на 21-у — $9,24 \pm 3,62$ пг/мл.

На 10-у добу захворювання в обох групах хворих спостерігалось достовірне зниження рівнів ІЛ-6 порівняно з показниками 1-ї доби, тоді як на 21-у — цей показник практично наближався до контрольних величин ($p < 0,05$).

Під час аналізу середніх величин ІЛ-6 у хворих на ІГМ було виявлено, що найвищі рівні ІЛ-6 в сироватці крові визначалися у хворих із процесом тяжкого ступеня під час госпіталізації ($34,33 \pm 2,9$ пг/мл), водночас їх рівні перевищували показники контрольної групи ($3,51 \pm 0,28$ пг/мл) майже в 10 разів, $p < 0,001$.

У хворих на ІГМ середнього ступеня тяжкості рівні ІЛ-6 перевищували показники контрольної групи в 5 разів ($17,62 \pm 2,3$ пг/мл, $p < 0,001$). Виявлені зміни

вказують на суттєве та раннє напруження цитокінової системи в усіх хворих, що найбільш характерне для тяжких ІГМ.

Оцінюючи динаміку рівнів ІЛ-6 на 21-у добу лікування, можна простежити позитивні зміни показника, який наближався до контрольних величин у середньотяжких хворих, а максимальні величини були виявлені у хворих на тяжкий ІГМ ($10,84 \pm 1,44$ пг/мл), що все ще більше ніж втричі перевищували контрольні показники.

В дебюті захворювання та на 10-у добу також були виявлені достовірно вищі за контрольні величини концентрації ФНП- α в обох групах хворих без винятку, які становили відповідно $16,13 \pm 0,77$ пг/мл та $13,2 \pm 0,66$ пг/мл при контрольному значенні $4,12 \pm 0,34$ пг/мл. Як видно — перевищення рівнів було майже в 4 та 3,2 рази відповідно.

На 10-у добу захворювання в групах хворих спостерігалось достовірне зниження рівнів ФНП- α порівняно з величинами в дебюті захворювання. На 21-у добу після появи гострої неврологічної симптоматики в групах всіх хворих зберігалася загальна тенденція до зниження концентрації ФНП- α , але все ще рівень показника, що вивчали, перевищував контрольні величини — $7,02 \pm 0,44$ пг/мл проти $4,12 \pm 0,34$ пг/мл відповідно.

В обох групах хворих за ступенем тяжкості виявлено підвищені рівні ФНП- α порівняно з контролем ($p < 0,05$). Максимальні величини ФНП- α визначені у групі тяжких хворих ($21,06 \pm 0,50$ пг/мл).

У обох групах хворих за ступенем тяжкості виявлено тенденцію до зниження рівнів ФНП- α на 10-у добу ІГМ порівняно з вихідними показниками, що фіксували на 1-у добу, але вона досягала ступеня достовірності тільки в групі тяжких хворих ($p < 0,05$). Оцінюючи динаміку рівнів ФНП- α на 21-у добу лікування, виявили, що максимально наближеними до контролю величини показника були в групі хворих із середньотяжким станом ($5,34 \pm 0,15$ пг/мл).

Рівень ІЛ-4 в контрольній групі становив $1,48 \pm 0,21$ пг/мл. Загальний вміст ІЛ-4 в обох групах хворих на ІГМ на 1-у, 10-у і 21-у добу захворювання виявився достовірно вищим за контрольні величини. Середня концентрація ІЛ-4 в обох групах хворих у дебюті захворювання становила $4,51 \pm 1,67$ пг/мл, що втричі перевищувала контрольні величини.

На 10-у добу захворювання в обох групах хворих спостерігалось несуттєве зниження сироваткових рівнів ІЛ-4, але воно не досягало достовірних величин порівняно з показниками 1-ї доби ($p > 0,05$). В динаміці на 21-у добу цей показник і далі знижувався, але все ще не наближався до контрольних величин, перевищуючи їх у 1,5 рази ($p < 0,05$).

Аналіз отриманих середніх величин виявив, що найвищий вміст ІЛ-4 в сироватці крові визначено у хворих із тяжким ІГМ під час госпіталізації, до того ж їх рівні перевищували показники контрольної групи майже в 3,6 рази ($5,28 \pm 0,34$ пг/мл проти $1,48 \pm 0,21$ пг/мл групи контролю, $p < 0,001$). У хворих на ІГМ середнього ступеня тяжкості рівні ІЛ-4 також перевищували показники контрольної групи, але лише в 2,5 рази ($3,74 \pm 0,69$ пг/мл, $p < 0,05$). Виявлені зміни можуть вказувати на функціональну напруженість

протизапальної системи в усіх хворих на ІГМ, що найвищою мірою виражена при тяжких процесах.

У хворих на ІГМ середнього ступеня тяжкості рівні ІЛ-4 на 10-у добу захворювання несуттєво знижувалися порівняно з показниками на 1-у добу після появи гострої неврологічної симптоматики ($p > 0,05$). Це можна пояснити тим, що при несуттєвому ураженні мозкової тканини локальна запальна реакція не досягає критичного рівня, і її розвиток здатні обмежити фізіологічні протизапальні системи, складником яких і є ІЛ-4.

У хворих на тяжкий ІГМ були виявлені нижчі величини ІЛ-4 на 10-у добу порівняно з відповідними показниками 1-ї групи ($p < 0,05$). У відносному виразі рівні ІЛ-4 у хворих на тяжкий ІГМ на 10-у добу достовірно знижувалися на 28,3 %.

Якщо оцінювати динаміку рівнів цього показника на 21-у добу лікування, то можна простежити позитивні зміни його, що виражалось в наближенні до контрольних величин практично в обох групах хворих за ступенем тяжкості. Особливо це було видно у хворих середнього ступеня тяжкості. Максимальні величини рівнів ІЛ-4 на 21-у добу були виявлені у хворих на тяжкий ІГМ ($3,25 \pm 0,29$ пг/мл), що все ще у 2,2 рази перевищували контрольні показники.

Рівень ІЛ-10 в контрольній групі становив $0,57 \pm 0,17$ пг/мл, що загалом відповідало літературним даним [10]. Загальний вміст ІЛ-10 в обох групах хворих на ІГМ протягом усього періоду спостереження виявився достовірно вищим за контрольні величини. Зокрема, середня концентрація показника в обох групах хворих під час госпіталізації становила $2,36 \pm 0,31$ пг/мл, що більше ніж в 4 рази перевищувала контрольні величини.

На 10-у добу захворювання в обох групах хворих спостерігалось несуттєве зниження плазмових рівнів ІЛ-10, але воно не досягало достовірних величин порівняно з показниками, що були зафіксовані під час госпіталізації ($p > 0,05$). В динаміці лікування на 21-у добу цей показник і далі знижувався, але все ще не наближався до контрольних величин і в 2,4 рази перевищував їх ($p < 0,05$).

Подібна тенденція до зниження величин ІЛ-10 в сироватці крові також простежувалася у хворих на 21-у добу захворювання: рівень становив $1,14 \pm 0,13$ пг/мл, що в 2,1 рази нижче за величини на 1-у добу ($p < 0,05$).

Найвищий вміст ІЛ-10 в сироватці крові визначався у хворих на тяжкий ІГМ на 1-у добу, його рівень перевищував показники контрольної групи майже в 4,4 рази ($2,52 \pm 0,44$ пг/мл проти $0,57 \pm 0,17$ пг/мл групи контролю, $p < 0,001$). У хворих на ІГМ середнього ступеня тяжкості рівні ІЛ-10 також перевищували в 3,5 рази ($2,00 \pm 0,16$ пг/мл, $p < 0,05$) показники контрольної групи. Виявлені в процесі дослідження факти вказують на ранню активацію протизапальних цитокінів у дебюті ІГМ в усіх групах хворих.

У хворих на ІГМ середнього ступеня тяжкості на 10-у добу спостерігалось несуттєве зниження величин показника порівняно з концентраціями на час госпіталізації, але воно не досягало рівня достовірності. Аналогічна тенденція простежувалася в групі хворих із тяжким ступенем ураження ($p > 0,05$).

Оцінення динаміки рівнів ІЛ-10 сироватки крові на 21-у добу захворювання показало подальше їх зни-

ження практично в обох групах хворих за ступенем тяжкості, але говорити хоча б про наближення до величин контрольної групи не можна. Достовірно зниження рівнів ІЛ-10 зафіксоване тільки з порівняння величин, що отримані під час госпіталізації та на 21-у добу захворювання, в обох групах хворих.

Про залежність ступеня тяжкості хворих в дебюті захворювання від рівнів цитокінів у плазмі крові свідчать прямі кореляційні зв'язки з величинами ІЛ-6 ($r = 0,89$; $p < 0,05$), ФНП- α ($r = 0,89$; $p < 0,05$), ІЛ-4 ($r = 0,95$; $p < 0,05$), ІЛ-10 ($r = 0,97$; $p < 0,05$), що не втрачали своєї сили та спрямування в динаміці лікування.

Про одночасну потужну активацію про- та протизапальної цитокінових систем в перебігу ІГМ свідчить наявність прямих кореляційних зв'язків між рівнями ІЛ-6 та ІЛ-4 ($r = 0,87$; $p < 0,05$), ФНП- α та ІЛ-4 ($r = 0,86$; $p < 0,05$), ІЛ-6 та ІЛ-10 ($r = 0,91$; $p < 0,05$), ФНП- α та ІЛ-10 ($r = 0,88$; $p < 0,05$).

Підсумовуючи вищенаведене, можна стверджувати, що вже з перших годин ІГМ спостерігається дисбаланс у функціонуванні імунної системи, який проявляється в одночасному літичному підвищенні рівнів як прозапальних (ІЛ-6, ФНП- α), так і протизапальних (ІЛ-4, ІЛ-10) цитокінів.

Виявлені особливості підтверджують прямий стосунок вказаних факторів до ранньої ініціації процесів як активації, так і пригнічення локальної запальної реакції у відповідь на ішемічне пошкодження мозкової тканини та подальшу участь їх у патогенетичних механізмах розвитку гострої церебральної ішемії.

Для визначення ступеня активації системи тригерних прозапальних цитокінів у гострому періоді ІГМ доцільним є визначення плазмової концентрації ІЛ-6, що в дебюті захворювання може досягати $32,75 \pm 3,44$ пг/мл. Рівні від $34,77 \pm 2,9$ пг/мл до $35,26 \pm 1,96$ пг/мл свідчать про вираженість локальної запальної реакції. З подібною метою також рекомендується вимірювати рівень ФНП- α в сироватці крові хворих, що на 1-у добу досягає $16,13 \pm 0,77$ пг/мл. Неприятливими для прогнозу слід вважати концентрації цього чинника в межах $18,69 \pm 0,64$ — $18,87 \pm 0,83$ пг/мл.

В дебюті захворювання рекомендується визначення плазмових рівнів протизапальних цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-10 для оцінення прогнозу захворювання. На 1-у добу концентрація ІЛ-4 може сягати $4,51 \pm 1,67$ пг/мл, а ІЛ-10 — $2,36 \pm 0,31$ пг/мл. Високі рівні ІЛ-4 в сироватці крові від $5,15 \pm 1,17$ пг/мл до $5,42 \pm 0,27$ пг/мл, а ІЛ-10 — від $2,48 \pm 0,33$ пг/мл до $2,57 \pm 0,11$ пг/мл можуть вказувати на суттєву інтенсивність запальних процесів у зоні ураження, що також завжди несприятливо відбивається на виході захворювання.

Список літератури

1. Release of IL-6 After Stroke Contributes to Impaired Cerebral Autoregulation and Hippocampal Neuronal Necrosis Through NMDA Receptor Activation and Upregulation of ET-1 and JNK / Armstead W. M., Hekierski H., Pastor P. [et al.] // Translational Stroke Research. 2019. Vol. 10, no. 1. P. 104—111. DOI: 10.1007/s12975-018-0617-z.
2. IL-6 Plasma Levels Correlate With Cerebral Perfusion Deficits and Infarct Sizes in Stroke Patients Without Associated Infections / Hotter B., Hoffmann S., Ulm L. [et al.] // Frontiers in Neurology. 2019. Vol. 10. P. 1—8. DOI: 10.3389/fneur.2019.00083.

3. Microglia-derived TNF-alpha mediates endothelial necrosis aggravating blood brain-barrier disruption after ischemic Stroke / Chen A. Q., Fang Z., Chen X. L. [et al.] // Cell Death & Disease. 2019. Vol. 10. P. 1—18. DOI: 10.1038/s41419-019-1716-9.
4. Anrather J., Iadecola C. Inflammation and Stroke: An Overview // Neurotherapeutics. 2016. Vol. 13, no. 4. P. 661—670. DOI: 10.1007/s13311-016-0483-x.
5. Inflammatory Markers and Outcomes After Lacunar Stroke Levels of Inflammatory Markers in Treatment of Stroke Study / Boehme A. K., McClure L. A., Zhang Y. [et al.] // Stroke. 2016. Vol. 47, no. 3. P. 659—667. DOI: 10.1161/strokeaha.115.012166.
6. Role of interleukin-10 in Acute Brain injuries / Garcia J. M., Stillings S. A., Leclerc J. L. [et al.] // Frontiers in Neurology. 2017. Vol. 8. DOI: 10.3389/fneur.2017.00244.
7. Changes in the cellular immune system and circulating inflammatory markers of stroke patients / Jiang C., Kong W. X., Wang Y. J. [et al.] // Oncotarget. 2017. Vol. 8, no. 2. P. 3553—3567. DOI: 10.18632/oncotarget.12201.
8. Lively S., Hutchings S., Schlichter L. C. Molecular and Cellular Responses to Interleukin-4 Treatment in a Rat Model of Transient Ischemia // Journal of Neuropathology and Experimental Neurology. 2016. Vol. 75, no. 11. P. 1058—1071. DOI: 10.1093/jnen/nlw081.
9. Baseline NIH Stroke Scale is an inferior predictor of functional outcome in the era of acute stroke intervention / Reznik M. E., Yaghi S., Jayaraman M. V. [et al.] // International Journal of Stroke. 2018. Vol. 13, no. 8. P. 806—810. DOI: 10.1177/1747493018783759.
10. Link between Interleukin-10 Level and Outcome after Ischemic Stroke / Chang L. T., Yuen C. M., Liou C. W. [et al.] // Neuroimmunomodulation. 2010. Vol. 17, no. 4. P. 223—228. DOI: 10.1159/000290038.

Надійшла до редакції 30.07.2020

ЛИЧКО Володимир Станіславович, кандидат медичних наук, доцент кафедри нейрохірургії та неврології медичного інституту Сумського державного університету, м. Суми, Україна; e-mail: volodlychko@gmail.com

LYCHKO Volodymyr, MD, PhD, Associate Professor of Department of Neurosurgery and Neurology of the Sumy State University, Sumy, Ukraine; e-mail: volodlychko@gmail.com