

УРОВНИ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ α У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

Прилуцкая И.А., Крюк Ю.Я.

ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», г. Донецк, Донецкая Народная Республика

Резюме. Ишемический инсульт является наиболее частой формой инсульта и связан с изменением функции различных клеток крови, клеток костного мозга, высвобождения ими различных цитокинов, хемокинов и др. Существуют противоречивые данные об уровнях TNF α в сыворотке и плазме крови при остром ишемическом инсульте.

Мы обследовали 21 пациента с диагнозом «ишемический инсульт», проходившего лечение в условиях стационара. Тяжесть ишемического инсульта оценивалась врачами невропатологами в соответствии с критериями шкалы Национального института здоровья при поступлении и при выписке. У пациентов с ишемическим инсультом выявлено достоверное ($p < 0,001$) повышение концентрации TNF α в сыворотке в сравнении со здоровыми лицами. Наиболее высокие значения концентрации указанного маркера регистрировались в 1-й и 3-й дни заболевания, достоверно снижаясь к 14-му дню, но не достигая при этом уровня контрольной группы. Следует указать, что у пациентов с ишемическим инсультом имело место достоверное ($p < 0,001$) увеличение удельного веса лиц с концентрациями исследуемого цитокина выше 10 пг/мл в сыворотке ($76,2 \pm 9,3\%$ в 1-й день заболевания).

С целью статистической характеристики различий индивидуальной динамики пациентов была проведена процедура оптимального разделения обследованных на подгруппы в зависимости от уровня TNF α в 1-й день госпитализации с помощью использования дискриминантного анализа с расчетом классификационной матрицы.

Проведение корреляционного анализа показало многочисленные достоверные сильные положительные корреляционные связи между уровнями TNF α в 1-й и 3-й дни после госпитализации, а также между аналогичными показателями в 1-й и 14-й дни. Корреляционная связь концентрации TNF α ($\tau = 0,711$; $p < 0,01$) была обнаружена также между 3-м и 14-м днем. Также положительные корреляционные связи в различные периоды наблюдения, в основном значимые и сильные, установлены между абсолютными уровнями данного цитокина и разницей изменения его концентрации (дельта). Необходимо указать, что уровень TNF α в первый и третий день госпитализации положительно коррелировал (соответственно $\tau = 0,503$, $p < 0,01$; $\tau = 0,411$, $p < 0,01$) с объемом очага ишемии, выявленным с помощью нейровизуализационных методов исследования. Положительно коррелировал объем очага ишемии и с разницей концентрации TNF α в 1-3 и 1-14 дни (соответственно $\tau = 0,425$, $p < 0,01$; $\tau = 0,507$, $p < 0,01$).

Результаты наших исследований свидетельствуют о необходимости учета уровня TNF α при поступлении для планирования терапевтических мероприятий и интенсификации лечения в данных группах пациентов, особенно если на 3-й день терапии зарегистрировано повышение или недостаточное снижение TNF α .

Ключевые слова: фактор некроза опухолей α , ишемический инсульт, цитокин, тромбоз

Адрес для переписки:

Прилуцкая Ирина Александровна
ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького»
192288, Россия, Санкт-Петербург,
ул. Димитрова, 37, корп. 1, кв. 9.
Тел.: 8 (981) 747-80-57.
E-mail: priral1986@gmail.com

Address for correspondence:

Prilutskaya Irina A.
Donetsk National M. Gorky Medical University
192288, Russian Federation, St. Petersburg,
Dimitrov str., 37, bldg 1, apt 9.
Phone: 7 (981) 747-80-57.
E-mail: priral1986@gmail.com

Образец цитирования:

И.А. Прилуцкая, Ю.Я. Крюк «Уровни фактора некроза опухолей α у больных ишемическим инсультом» // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 4. С. 755-764. doi: 10.15789/1563-0625-2019-4-755-764
© Прилуцкая И.А., Крюк Ю.Я., 2019

For citation:

I.A. Prilutskaya, Yu. Ya. Kryuk "Levels of tumor necrosis factor alpha in patients with ischemic stroke", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2019, Vol. 21, no. 4, pp. 755-764. doi: 10.15789/1563-0625-2019-4-755-764
DOI: 10.15789/1563-0625-2019-4-755-764

LEVELS OF TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA IN PATIENTS WITH ISCHEMIC STROKE

Prilutskaya I.A., Kryuk Yu.Ya.

Donetsk National M. Gorky Medical University, Donetsk, Donetsk People's Republic

Abstract. Ischemic stroke is the most common form of brain stroke. It is associated with functional changes of various blood and bone marrow cell populations, altered release of various cytokines, chemokines, etc. There are conflicting data about serum and plasma TNF α levels in acute ischemic stroke.

We have examined 21 patients with a diagnosis of ischemic stroke treated at the hospital. The severity of ischemic stroke was evaluated by neurologists, in accordance with NIHSS criteria at admission and at discharge.

In the patients with ischemic stroke, we have found a significantly increased serum concentration of tumor necrosis factor- α ($p < 0.001$), as compared with healthy individuals. The highest concentrations of this marker were recorded on days 1 and 3 of the disease, being significant at $p < 0.001$ and $p = 0.003$, respectively, then decreasing by day 14, however, not reaching the levels of control group. It should be noted that, among patients with ischemic stroke, there is a significantly ($p < 0.001$) increased proportion of individuals with high serum concentrations (> 10 pg/ml) of this cytokine, i.e., $76.2 \pm 9.3\%$ on day 1 of the disease.

To statistically evaluate the individual differences of the patients' dynamics, they were divided into subgroups, depending on the level of TNF α on the 1st day of hospitalization, using a discriminant analysis with estimation of a classification matrix. The correlation analysis showed numerous strongly positive correlations between TNF α levels on the 1st and 3rd days, as well as between similar indexes on the 1st and 14th days. A correlation between TNF α concentrations on the 3rd and 14th day was also found ($r = 0.711$; $p < 0.01$). Also, positive correlation in various periods of observation was established between the absolute levels of cytokine and differences in their concentration changes. The level of tumor necrosis factor-alpha on the first and third day of hospitalization did positively correlate (respectively, $r = 0.503$, $p < 0.01$; $r = 0.411$, $p < 0.01$) with the volume of the ischemic lesion according neuroimaging methods research. The volume of the ischemic focus was positively correlated with the difference in the concentration of TNF α on days 1-3 and 1-14 (respectively, $r = 0.425$, $p < 0.01$; $r = 0.507$, $p < 0.01$).

The results of our study show a necessity for measuring TNF α levels at admission, in order to plan treatment in these groups of patients, especially in cases of increase or insufficient decrease in TNF α recorded on the 3rd day of therapy.

Keywords: tumor necrosis factor α , ischemic stroke, cytokine, thrombosis

Ведущие позиции в структуре заболеваемости, инвалидизации и смертности взрослого населения большинства стран занимают острые цереброваскулярные заболевания, в частности ишемические инсульты (ИИ), что позволяет считать их проблемой чрезвычайной медицинской и социальной значимости [7, 23, 33]. По прогнозам, к 2030 году каждый год от инсульта будет умирать более 200 миллионов человек [7]. При этом ишемический инсульт является наиболее частой формой инсульта и составляет до 85% случаев от общего количества зарегистрированных его случаев [33]. В настоящее время считается, что одна из наиболее распространенных причин ИИ — это тромбоз. Главными участниками запуска артериального тромбоза и поддержки атерогенеза являются тромбоциты. С другой стороны, дальнейшему повреждению и воспалению при данной патологии способствуют лейкоциты. Во время ишемии головного мозга имеет место увеличение трансэндотелиальной миграции лейкоцитов с последующим высвобождением провоспалительных цитокинов и хемокинов.

На данный момент одними из наиболее изученных маркеров воспаления у пациентов с ишемическими инсультами являются С-реактивный белок, интерлейкин-1 и интерлейкин-6 [1, 5, 11, 31]. Исследования фактора некроза опухолей α (TNF α) у больных ИИ немногочисленны и неоднозначны. Существуют работы, указывающие на нейротоксическое действие высоких уровней провоспалительных цитокинов TNF α , IL-1 α , IL-1 β , что усугубляет ишемическое повреждение нервной ткани, вызывая апоптоз нервных клеток, увеличение токсичных форм монооксида азота и торможение нейрогенеза [8, 12, 38]. При этом ряд авторов указывает на нейропротективный эффект TNF α , направленный на защиту нейронов головного мозга от ишемического и эксайтотоксического повреждения [17, 30, 40].

Увеличение уровней TNF α , IL-1 и IL-6 при остром ишемическом инсульте было отмечено как в крови, так и в спинномозговой жидкости [27], а также непосредственно в головном мозге [16, 35]. Было показано, что ишемический инсульт связан с изменением функции различ-

ных клеток крови, в том числе тромбоцитов, а также клеток костного мозга, высвобождения ими различных, в том числе провоспалительных цитокинов, хемокинов и др. [13, 37]. Полученные данные обусловили пристальный интерес к изучению данных маркеров инсульта с целью улучшения диагностики, прогноза и терапии у пациентов, перенесших его [22, 37]. Данный интерес был усилен данными, показывающими, что TNF α , IL-1 и IL-6 могут модулировать развитие поражений при экспериментальном инсульте [18, 22].

Было показано, что анализ цитокинов в периферической крови может отражать их центральную продукцию. Вместе с тем существуют противоречивые данные об уровнях TNF α в сыворотке и плазме крови при остром ишемическом инсульте. Некоторые исследования показали, что уровни TNF α остаются неизменными после инсульта, в то время как другие сообщают о повышенных уровнях цитокина, хотя и с разными пиковыми периодами [10, 25, 41].

Противоречивы и результаты в отношении корреляции между периферическими уровнями TNF α и тяжестью инсульта, его прогнозом и др. [20, 30, 34, 39, 42]. Корреляция изменения вышеуказанного цитокина между 1-м, 3-м и 14 днем, как между собой, так и с объемом поражения головного мозга и показателями шкалы Национального института здоровья (NIHSS), как в момент госпитализации, так и при выписке, также противоречива.

Исходя из этого, определение уровней TNF α в различные сроки после начала ИИ и корреляции как исходной концентрации его, так и кон-

центраций данного цитокина при последующих исследованиях (в 3, 14 день) в динамике терапии, с тяжестью ишемического инсульта как в начале лечения, так и в момент выписки, имеет важное научное и практическое значение и требует дальнейшего изучения.

Таким образом, целью исследования являлась оценка уровня TNF α и динамики его изменений в сыворотке крови пациентов с ишемическим инсультом в на фоне терапии и наличия корреляционных связей уровня данного цитокина в течение 2 недель в различные сроки обследования, а также с объемом поражения головного мозга, тяжестью течения заболевания, оцененной с помощью шкалы NIHSS.

Материалы и методы

Обследован 21 пациент с диагнозом «ишемический инсульт», проходивший лечение в условиях стационара. Тяжесть ишемического инсульта оценивалась врачами-невропатологами в соответствии с критериями шкалы Национального института здоровья как при поступлении, так и при выписке. Дельта показателей шкалы NIHSS, выраженная в баллах, определялась арифметическим вычитанием значения шкалы NIHSS при выписке из значения при поступлении. Для расчета дельты показателей шкалы NIHSS в % полученную дельту в баллах делили на значение шкалы NIHSS при поступлении и умножали на 100%.

Всем пациентам было выполнено визуализирующее исследование головного мозга (КТ или МРТ). Вычислялись как максимальный диаметр, так и объем зоны ишемии. Все пациенты получали лечение по основным направлениям:

ТАБЛИЦА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУНОФЕРМЕНТНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ α

TABLE 1. CHARACTERISTIC OF ELISA TEST-SYSTEM FOR TNF α DETERMINATION

Параметры Parameters	Характеристика Characteristics
Принцип метода Method	Твердофазный, ИФА ELISA
Общее время анализа Time of analysis	4 часа 4 hours
Диапазон измерений Range of measuring	0-500 пг/мл 0-500 pg/ml
Оптическая плотность диапазона Optical density	0,04-2,50
Чувствительность Sensitivity	2,0 пг/мл 2.0 pg/ml
Коэффициент вариации Coefficient of variation	≤ 5%
Объем сыворотки для исследования в дублях Serum volume for double investigation	200 мкл 200 μ l

ТАБЛИЦА 2. ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ СРЕДНИХ УРОВНЕЙ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ α В СЫВОРОТКЕ БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ, пг/мл

TABLE 2. LEVELS OF SERUM TNF α IN PATIENTS WITH ISCHEMIC STROKE ON 1ST, 3RD AND 14TH DAYS, pg/ml

	Контрольная группа Control group (n = 50)	Пациенты с ишемическим инсультом Patients with ischemic stroke (n = 21)		
		1-й день 1 st day	3-й день 3 rd day	14-й день 14 th day
Me \pm ошибка Me \pm error	2,9 \pm 0,8	17,3 \pm 2,4*, **	16,2 \pm 2,2*, ***	9,2 \pm 1,0*
95% CI	0,6-4,9	10,5-23,5	9,7-19,4	7,1-12,1

Примечание. * – $p < 0,01$ в сравнении с контрольной группой; ** – $p < 0,001$ в сравнении со значением на 14-й день; *** – $p = 0,003$ в сравнении со значением на 14-й день.

Note. *, $p < 0,01$ vs control group; **, $p < 0,001$ vs 14th day data; ***, $p = 0,003$ vs 14th day data.

поддержание проходимости дыхательных путей и сатурации, поддержание уровня системной перфузии (артериального давления), нейропротекторы, антиагреганты/антикоагулянты, антигипоксанты, ангиопротекторы. Никто из пациентов не получал тромболитическую терапию, механическую тромбэкстракцию или эндоваскулярное лечение. Определение уровня TNF α в сыворотке крови проводилось трижды – в 1, 3 и 14 день заболевания на фоне терапии. В качестве контрольной группы обследованы 50 здоровых доноров.

Определение содержания TNF α проводилось с помощью разработанных ООО «Укрмед-Дон» и сотрудниками кафедры клинической иммунологии, аллергологии и эндокринологии ДонНМУ им. М. Горького (г. Донецк) иммуноферментных тест-систем для определения указанного цитокина. Основные характеристики использованной тест-системы приведены в таблице 1. Данная тест-система имеет высокую чувствительность (2,0 пг/мл), отличается достаточной стабильностью (годна в течение 12 месяцев), низким коэффициентом вариации (не более 5%), комплектуется готовыми к использованию стандартами и конъюгатом [6]. Она была зарегистрирована в Украине для использования как в научных исследованиях, так и в практическом здравоохранении. Тест-система является вариантом твердофазного иммуноферментного анализа. Для увеличения чувствительности ее использовали во время инкубации сыворотки и контрольных образцов (2 часа), после отмывки и конъюгата (1,5 часа), максимальный объем реагентов (200 мкл) при 37,2 °C и встряхивании планшеты с частотой 250 встряхиваний в минуту.

Дельта уровня TNF α (Δ TNF α) между 1-м и 3-м днем, выраженная в пг/мл, определялась арифметическим вычитанием значения уровня цитокина в 3-й день из значения уровня в 1-й день. Для расчета дельты уровня TNF α в %, полу-

ченную дельту в пг/мл делили на значение уровня маркера в 1-й день и умножали на 100%. Для расчета дельты уровня TNF α между 1-м и 14-м днем, а также 3-м и 14-м днем использовали концентрации фактора в соответствующие дни наблюдения и приведенную выше методику.

Проводимая при помощи программы MedStat статистическая обработка полученного материала включала анализ распределения. Оптимальное разделение обследованных в зависимости от уровня TNF α в 1-й день госпитализации проводили с помощью дискриминантного анализа методом расчета классификационной матрицы. В связи с непараметрическим характером распределения данных рассчитывались медиана, ошибка медианы, 95% доверительный интервал, использовались непараметрические критерии сравнения (критерий Данна при сравнении с контрольной группой, T-критерий Вилкоксона при сравнении центральных тенденций связанных выборок, W-критерий Вилкоксона при сравнении центральных тенденций независимых выборок, угловое преобразование Фишера с учетом поправки Йейтса при сравнении долей). Для определения силы связи между признаками рассчитывался коэффициент корреляции Кендалла. Количественную интерпретацию коэффициентов Кендалла оценивали исходя из шкалы Чеддока [4].

Результаты и обсуждение

Анализ результатов исследования показал, что у обследованных пациентов с ишемическим инсультом имело место достоверное повышение средних уровней фактора некроза опухоли- α в первые 2 недели заболевания в сравнении с контролем (табл. 2). При этом, если средние значения уровней исследуемого цитокина в 1 и 3 день госпитализации существенно не отличались между собой ($p = 0,257$), то на 14 день наблюдалось достоверное снижение концентрации TNF α

в сыворотке обследуемых ($p < 0,001$ в сравнении с предыдущими исследованиями). Вместе с тем через 14 дней уровни фактора некроза опухоли- α не достигали показателей здоровых лиц.

Кроме того, для обследованных с ишемическим инсультом было характерно увеличение удельного веса лиц с более высокими концентрациями TNF α в сыворотке. Так, 76,2 \pm 9,3% пациентов с ИИ в 1-й день и 71,4 \pm 9,9% в 3-й день заболевания характеризовались уровнем исследуемого цитокина выше 10 пг/мл. Частота регистрации указанных значений TNF α на 14-й день составила 38,1 \pm 10,6% ($p = 0,031$ и $p = 0,066$ в сравнении с показателями в 1-й и 3-й дни соответственно). Следует отметить, что в контрольной группе у всех обследованных значения TNF α не превышали 10 пг/мл.

Индивидуальная динамика показателей TNF α в сыворотке крови на 1-й, 3-й и 14-й дни ишемического инсульта представлена на рисунке 1. Необходимо указать на большую гетерогенность как исходных уровней фактора некроза опухоли-альфа, так и динамики его у наших обследованных пациентов. Следует отметить, что большинство из них имели высокие уровни фактора некроза опухоли-альфа, близкие или превышающие 20 пг/мл. Необходимо указать, что 8 из обследованных (38,1 \pm 10,6%) показали увеличение уровня TNF α на 3-й день по сравнению с показателями на 1-е сутки, но затем снижение на 14-й день ниже первоначального уровня. При этом 2 из них имели показатели фактора некроза опухоли-альфа в пределах до 10 пг/мл. Следует указать, что всего у 5 лиц из 21 обследованного пациента были зарегистрированы низкие показатели (от 5,9 до 9,4 пг/мл) TNF α при поступлении. При этом у одного из них было зарегистрировано небольшое (на 3,3%) повышение уровня фактора некроза опухоли-альфа в сыворотке на 14-й день по сравнению с 1-м днем при его снижении на 3-и сутки от начала заболевания (соответственно, 5,9; 5,3 и 6,1 пг/мл).

С целью статистической характеристики различий индивидуальной динамики пациентов было проведена процедура оптимального разделения обследованных на подгруппы в зависимости от уровня TNF α в 1-й день госпитализации с помощью использования дискриминантного анализа с расчетом классификационной матрицы. В качестве группирующей переменной использовались различные диапазоны содержания TNF α , в качестве независимых переменных — уровни фактора на 3-й и 14-й дни госпитализации, дельты уровней его на 1-й и 3-й, 1-й и 14-й и 3-й и 14-й дни в пг/мл и в %, показатели шкалы NIHSS при поступлении и выписке, а также их дельты в баллах и в %, значения максимального

линейного размера и объема ишемического очага. Максимальный коэффициент результативности (от 76 до 84%) имел место при распределении обследованных по концентрации TNF α в 1-й день на 3 группы: ниже 10 пг/мл, от 10 до 20 пг/мл и выше 20 пг/мл.

Проведенный далее анализ уровня фактора некроза опухоли-альфа в 3-х выделенных дискриминантным анализом вышеуказанных группах лиц показал, что содержание TNF α в 3 и 14 день после госпитализации на фоне проводимого лечения имело достоверную разницу ($p < 0,01$ – $p < 0,001$) в зависимости от исходной концентрации его в день поступления (табл. 3). Уровень его был существенно выше у лиц, имеющих концентрацию данного цитокина в сыворотке крови при поступлении 10–20 пг/мл и > 20 пг/мл. При этом данные различия (в сравнении с группой пациентов с TNF $\alpha < 10$ пг/мл) были зарегистрированы в этих группах, несмотря на существенно большее снижение уровня данного цитокина (Δ TNF α , в том числе и в %) в период с 1-го или с 3-го дня по 14 день (от $p < 0,05$ до $p < 0,001$). Достоверные отличия интенсивности снижения фактора некроза опухоли-альфа установлены на 3 и 14 день терапии между группами лиц, имевших в начале лечения концентрацию TNF α в сыворотке крови в пределах 10–20 пг/мл и > 20 пг/мл в сравнении с пациентами с концентрацией его < 10 пг/мл. При этом обнаружено, что изменения индексов шкалы NIHSS в динамике проведенного лечения существенно отличались ($p < 0,001$) между группами пациентов, имеющих уровни фактора некроза опухоли-альфа в первый день поступления < 10 пг/мл и > 20 пг/мл.

Проведение корреляционного анализа (табл. 4) показало многочисленные достоверные сильные положительные корреляционные связи между уровнями TNF α в 1-й и 3-й дни после госпитализации, а также между аналогичными показателями в 1-й и 14-й дни. Корреляционная связь концентрации фактора некроза опухоли-альфа ($\tau = 0,711$; $p < 0,01$) была обнаружена также между 3-м и 14-м днем. Также положительные корреляционные связи в различные периоды наблюдения, в основном значимые и сильные, установлены между абсолютными уровнями данного цитокина и разницей изменения его концентрации (дельта). Следует отметить, что различия TNF α , выраженные в процентах от исходного уровня в 1–14 и 3–14 дни, положительно коррелировали, соответственно, с концентрацией его в день поступления и с уровнем данного цитокина в 3, 14 день лечения. Необходимо указать, что уровень фактора некроза опухоли-альфа в первый и третий день госпитализации положительно коррелировал (соответственно, $\tau = 0,503$,

ТАБЛИЦА 3. УРОВНИ TNF α И ПОКАЗАТЕЛЕЙ NIHSS В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ ЕГО В 1 ДЕНЬ (Me \pm m)

TABLE 3. LEVELS OF TNF α AND NIHSS VALUES, DEPENDING ON THE CONCENTRATION OF HIM IN 1ST DAY (Me \pm m)

TNF α в 1 день, пг/мл TNF α on the 1 st day, pg/ml	Анализируемые показатели Analyzed indicators						
	TNF α , пг/мл TNF α , pg/ml		Δ TNF α , пг/мл Δ TNF α , pg/ml		Δ TNF α , %	Δ по шкале NIHSS Δ on the NIHSS scale	
	3 день 3 rd day	14 день 14 th day	1-14 день 1 st -14 th day	3-14 день 3 rd -14 th day	1-14 день 1 st -14 th day	баллов points	%
< 10 (n = 5)	7,90 \pm 0,97	6,10 \pm 0,94	0,60 \pm 0,95	0,90 \pm 1,09	8,06 \pm 11,23	2,00 \pm 1,80	33,30 \pm 9,43
10-20 (n = 9)	15,80 \pm 1,45 *(1)	8,40 \pm 0,89 *(1)	7,60 \pm 0,86 **(1)	6,80 \pm 1,04 ****(1)	47,62 \pm 3,70 ****(1)	1,00 \pm 0,91	10,00 \pm 10,09
> 20 (n = 7)	23,50 \pm 3,51 *(1, 2)	13,40 \pm 1,11 *(1),**(2)	11,50 \pm 2,98 *(1),****(2)	9,10 \pm 3,11 *(1)	48,73 \pm 5,79 ****(1)	0 \pm 1,25 **(1)	0 \pm 11,88 **(1)

Примечание. * – p < 0,01; ** – p < 0,001; *** – p < 0,05. Группы сравнения: (1) – < 10 пг/мл; (2) – 10-20 пг/мл.

Note. *, p < 0.01; **, p < 0.001; ***, p < 0.05. Comparison groups: (1) – < 10 pg/ml; (2) – 10-20 pg/ml.

p < 0,01; $\tau = 0,411$, p < 0,01) с объемом очага ишемии, выявленным с помощью нейровизуализационных методов исследования. Положительно коррелировал объем очага ишемии и с разницей концентрации TNF α в 1-3 и 1-14 дни (соответственно, $\tau = 0,425$, p < 0,01; $\tau = 0,507$, p < 0,01). Немаловажным является также факт обнаруженной обратной связи изменения за 14 дней неврологических нарушений, выявленных по шкале NIHSS (как абсолютных, так и относительных их значений) с изменениями, регистрируемыми в концентрации фактора некроза опухоли-альфа с 1 по 3 день лечения (соответственно, $\tau = 0,324$, p < 0,03; $\tau = 0,363$, p < 0,02). При этом индексы NIHSS при поступлении и при выписке (17 \pm 1,71 дней) имели сильную положительную корреляционную связь ($\tau = 0,779$, p < 0,01), причем степень изменения NIHSS в процессе лечения имела достоверную корреляционную связь с показателями ее при поступлении ($\tau = 0,411$, p < 0,01).

Таким образом, нами в динамике обследования пациентов, страдающих ишемическим инсультом выявлено повышение уровня фактора некроза опухоли-альфа при поступлении и достоверные корреляционные зависимости изменения его уровня в динамике терапии в течение 14 дней наблюдения за пациентами. Несмотря на противоречивость данных литературы, не каждый из источников которой свидетельствует о достоверном изменении концентрации TNF α [29, 41], наши данные свидетельствуют о существенном увеличении уровня данного цитокина в сыворотке крови в среднем у наблюдаемых нами лиц. Правда, при этом довольно существенный процент лиц имел показатели TNF α (около 20-24%) в пределах < 10 пг/мл. Полученные в нашей работе результаты согласуются с результатами ряда авторов [19, 32, 42], показавших повышение

среднего уровня его в сыворотке периферической крови. Следует отметить, что наши данные показывают у ряда больных возрастание концентрации фактора некроза опухоли-альфа на 3 день лечения, несмотря на то, что отдельные источники указывают на пик его синтеза в первые 24 часа после развития ишемии [9, 42] или в другое более позднее время. Вместе с тем мы считаем, что этот результат не является фактом, существенно противоречащим нашим результатам так как в настоящее время установлена фазность и длительность продукции данного цитокина различными клетками в очаге ишемии [35]. Кроме того, следует указать, что данный факт увеличения фактора некроза опухоли-альфа на 3-й день может свидетельствовать, по нашему мнению, о неблагоприятном развитии заболевания. Ведь эта динамика была зарегистрирована среди большинства лиц, имеющих изначально одни из наиболее высоких показателей TNF α . В контексте к этому в работе показаны корреляционные связи фактора некроза опухоли-альфа с выявляемым нейровизуализационными методами объемом поражения головного мозга. Наши данные согласуются с результатами исследований, получивших аналогичные результаты [15, 22, 24, 29, 39]. Следует отметить, что мы не получили существенных корреляционных связей между уровнями TNF α и индексами шкалы NIHSS. Имеются работы, показывающие, что уровень фактора некроза опухоли-альфа может не иметь зависимости со степенью тяжести неврологических нарушений, выявляемых с помощью данной шкалы, исходом ишемического шока [14, 19]. Вместе с тем примененный нами впервые в мире подход при данной патологии (в доступной нам литературе такого типа анализа динамики уровня TNF α и шкалы NIHSS не найдено), анализа разницы

ТАБЛИЦА 4. КОРРЕЛЯЦИЯ УРОВНЕЙ TNF α , ДЕЛЬТЫ ПО ШКАЛЕ NIHSS И ОБЪЕМА ОЧАГА ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

TABLE 4. CORRELATION OF TNF α LEVELS, DELTAS ON THE NIHSS SCALE AND VOLUME OF THE LESION OF ISCHEMIC STROKE

Показатель Indicator	День Day	Уровень TNF α , пг/мл TNF α level, pg/ml			Δ уровня TNF α , пг/мл Δ TNF α level, pg/ml			Δ по шкале NIHSS Δ on the NIHSS scale		Объем очага Focal volume
		1 1 st	3 3 rd	14 14 th	1-3 1 st -3 rd	1-14 1 st -14 th	3-14 3 rd -14 th	баллов points	%	
Уровень TNF α , пг/мл TNF α level, pg/ml	1 1 st	–	0,782	0,75	–	0,766	0,558	–	–	0,503
	3 3 rd	< 0,01	–	0,711	–	0,593	0,74	–	–	0,411
	14 14 th	< 0,01	< 0,01	–	–	0,504	0,45	–	–	–
Δ уровня TNF α , пг/мл Δ TNF α level, pg/ml	1-3 1 st -3 rd	–	–	–	–	0,382	–	-0,324	-0,363	0,425
	1-14 1 st -14 th	< 0,001	< 0,01	< 0,01	0,01	–	0,504	–	–	0,507
	3-14 3 rd -14 th	< 0,01	< 0,01	< 0,01	–	< 0,01	–	–	–	–
Δ по шкале NIHSS Δ on the NIHSS scale	баллов points	–	–	–	0,03	–	–	–	0,767	–
	%	–	–	–	0,02	–	–	< 0,01	–	–
Объем очага Focal volume		< 0,01	< 0,01	–	< 0,01	< 0,01	–	–	–	–

Примечание. В верхней половине таблицы представлены коэффициенты корреляции Кендалла, в нижней половине – степень их достоверности.

Note. Kendall correlation coefficients are presented in the upper half of the table, and the confidence degree in the lower half.

изменений данных показателей, в том числе и в процентах от исходных, показал обратные достоверные коррелятивные связи между Δ TNF α и Δ NIHSS. Важность данного подхода при анализе материала показывают также выявленные различия в отобранных с помощью дискриминационного анализа группах Δ уровня TNF α в 1-14 день наблюдения и Δ по шкале NIHSS (в том числе и в процентах от исходных значений). Следует отметить важный факт существенных различий изменения уровня фактора некроза опухоль-альфа в группах с различной его исходной (при поступлении) концентрацией и достоверных отличий в этих группах (обратной динамики) шкалы NIHSS. Это согласуется с фактами наличия в основном сильных корреляционных связей концентрации TNF α в различные дни наблюдения и лечения и корреляции Δ TNF α в динамике. Кроме того, данные ряда авторов подтверждают наши данные и свидетельствуют о более высо-

ких его уровнях при клиническом ухудшении течения ишемического инсульта и корреляции TNF α с исходом заболевания [15, 29, 39]. Показано, что концентрация его >14 пг/мл ассоциируется с плохим исходом болезни [39]. Результаты наших исследований и ряд вышеприведенных данных свидетельствуют о необходимости учета уровня данного показателя при поступлении для планирования терапевтических мероприятий и интенсификации лечения в данных группах пациентов, особенно если на 3-й день терапии зарегистрировано повышение или недостаточное снижение TNF α .

Заключение

Полученные в работе данные указывают на важность исследования фактора некроза опухоль-альфа – цитокина, который вместе с интерлейкином 1 стимулирует продукцию интерлей-

кина 6 [36]. Несомненно, концентрация TNF α в периферической крови может повышаться и отражать динамику его синтеза в очагах ишемии. Провоспалительные цитокины, в основном IL-6 и TNF α , стимулируют продукцию матриксных металлопротеиназ (ММП), особенно ММП-9, которые вызывают разрушение гематоэнцефалического барьера и опосредуют миграцию лейкоцитов [26, 28]. Конечно же, следует учитывать тот факт, что изменения уровня TNF α могут являться не только результатом синтеза его в очагах ишемии. Очень возможно, что это вносит существенный вклад в разноречивость данных литературы и обуславливает поиск новых диагностических маркеров ишемического инсульта и что ряд авторов считает роль биомаркеров и данного цитокина в работах, посвященных данной патологии для определения тяжести течения ишемического инсульта и решения других вопросов не определенной окончательно [21, 28]. Известно, что TNF α может синтезироваться и секретироваться многими клетками, в том числе и вне данных очагов поражения [29]. Несомненно, что данный факт в комплексе с другими вносит свой вклад в гетерогенность результатов, полученных нами как в плане исходных уровней фактора некроза опухоли-альфа, так и при выявленных нами различий динамики его изменений. Вместе с тем, исходя из полученных данных и проведенного

анализа литературы, мы считаем, что его значения могут и отражают, хотя бы частично, уровень и характер реактивности пациентов, их реакцию при ишемическом инсульте. Наши данные показывают перспективность исследования TNF α , особенно его изменений, в определении тяжести течения и прогнозе течения ишемического инсульта. Очень важно, что по исходным показателям данного цитокина и его изменению в течение даже первых 3-х дней мы можем корректировать терапию. В принципе, полученные нами данные согласуются с работами ряда авторов, выявивших сходные закономерности синтеза провоспалительных цитокинов у пациентов с ишемическим инсультом, что указывает на возможность использования оценки цитокинового профиля, в том числе и TNF α , для определения эффективности терапии, ее коррекции, прогнозирования течения заболевания и др. [2, 3, 28, 29]. Конечно же, в различия получаемых данных различными группами авторов вносят вклад и генетические особенности пациентов, различия этиологических факторов ишемического инсульта, наличие сопутствующей патологии и многое другое. Наши исследования свидетельствуют о важности и необходимости дальнейшего изучения данного вопроса, в том числе с использованием современных, многогранных математических подходов.

Список литературы / References

1. Баранова Е.В. Маркер воспаления у больных с различными типами мозговых инсультов // Международный неврологический журнал, 2014. Т. 67, № 5. С. 45-48. [Baranova E.V. Marker of inflammation in patients with different types of cerebral strokes. *Mezhdunarodnyy neurologicheskiy zhurnal = International Neurological Journal*, 2014, Vol. 67, no. 5, pp. 45-48. (In Russ.)]
2. Бояджян А.С., Аракелова Э.А., Айвазян В.А. Интерлейкины и хемокины при остром ишемическом инсульте, отягощенном и не отягощенном диабетом // Цитокины и воспаление, 2008. № 1. С. 40-43. [Boyajyan A.S., Arakelova E.A., Ayvazyan V.A., Manukyan L.A. Interleukins and chemokines in acute ischemic stroke complicated and non-complicated with diabetes. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2008, Vol. 7, no. 1, pp. 40-43. (In Russ.)]
3. Ефремов В.В. Нарушение цитокинового статуса при ишемии головного мозга и его коррекция флогензимом // Вестник ВолгМУ, 2006. Т. 18, № 2. С. 58-61. [Efremov V.V. Cytokine status disturbances in acute brain ischemia and its correction with phlogenzyme. *Vestnik VolgMU = Journal of Volgograd State Medical University*, 2006, Vol. 18, no. 2, pp. 58-61. (In Russ.)]
4. Любушин Н.П., Лещева В.Б., Дьякова В.Г. Анализ финансово-экономической деятельности предприятия: Учеб. пособие для вузов. М.: ЮНИТИ-ДАНА, 2002. 471 с. [Lyubushin N.P., Leshcheva V.B., Dyakova V.G. Analysis of financial and economic activity of the enterprise: Textbook, a manual for universities]. Moscow: Uniniti-Dana, 2002. 471 p.
5. Ованесян И.Г., Ованесян Р.А. Связь показателей агрегации тромбоцитов и концентрации интерлейкинов-1 β и -4 в остром периоде ишемического инсульта // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски, 2016. Т. 116, № 12. С. 7-9. [Ovanesyan I.G., Ovanesyan R.A. Relationship between platelet aggregation and interleukins IL-1 β and IL-4 in the acute stage of ischemic stroke. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova = S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*, 2016, Vol. 116, no. 12, pp. 7-9. (In Russ.)]
6. Прилуцкий А.С., Деев В.А., Лесниченко Д.А., Коваленко В.В. Исследование уровней С-реактивного белка и фактора некроза опухолей при гнойно-септических процессах абдоминальной полости // Питание экспериментальной та клінічної медицини, 2012. Вип. 16, Т. 2. С. 403-408. [Prilutsky A.S., Deev V.A., Lesnichenko D.A., Kovalenko V.V. Study of C-reactive protein and tumor necrosis factor α at purulent septic

processes abdominal cavity. *Pytannya eksperimentalnoyi ta klinichnoyi medytsyny = Issues of Experimental and Clinical Medicine*, 2012, Vol. 16, no. 2, pp. 403-408. (In Russ.)]

7. Титов Б.В., Матвеева Н.А., Мартынов М.Ю., Фаворова О.О. Ишемический инсульт как комплексное полигенное заболевание // Молекулярная биология, 2015. Т. 49, № 2. С. 224-248. [Titov B.V., Matveeva N.A., Martynov M.Yu., Favorova O.O. Ischemic stroke as a complex polygenic disease. *Molekulyarnaya biologiya = Molecular Biology*, 2015, Vol. 49, no. 2, pp. 195-216. (In Russ.)]

8. Barreto G., White R.E., Ouyang Y., Xu L., Giffard R.G. Astrocytes: targets for neuroprotection in stroke. *Cent. Nerv. Syst. Agents Med. Chem.*, 2011, Vol. 11, no. 2, pp. 164-173.

9. Beridze M., Sanikidze T., Shakarishvili R., Intskirveli N., Bornstein N.M. Selected acute phase CSF factors in ischemic stroke: Findings and prognostic value. *BMC Neurol.*, 2011, no. 11, p. 41.

10. Bokhari F.A., Shakoori T.A., Butt A., Ghafoor F. TNF-alpha: a risk factor for ischemic stroke. *J. Ayub. Med. Coll. Abbottabad.*, 2014, Vol. 26, no. 2, pp. 111-114.

11. Dadu R.T., Fornage M., Virani S.S., Nambi V., Hoogeveen R.C., Boerwinkle E., Alonso A., Gottesman R.F., Mosley T.H., Ballantyne C.M. Cardiovascular biomarkers and subclinical brain disease in the atherosclerosis risk in communities study. *Stroke*, 2013, Vol. 44, pp. 1803-1808.

12. del Zoppo G.J., Milner R., Mabuchi T., Hung S., Wang X., Berg G.I., Koziol J.A. Microglial activation and matrix protease generation during focal cerebral ischemia. *Stroke*, 2007, Vol. 38, Suppl. 1, pp. 646-651.

13. Denes A., McColl B.W., Leow-Dyke S.F., Chapman K.Z., Humphreys N.E., Grecis R.K., Allan S.M., Rothwell N.J. Experimental stroke-induced changes in the bone marrow reveal complex regulation of leukocyte responses. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2011, Vol. 31, pp. 1036-1050.

14. Dieplinger B., Bocksrucker C., Egger M., Eggers C., Haltmayer M., Mueller T. Prognostic value of inflammatory and cardiovascular biomarkers for prediction of 90-day all-cause mortality after acute ischemic stroke-results from the linz stroke unit study. *Clin Chem.*, 2017, Vol. 63, no. 6, pp. 1101-1109.

15. Domac F.M., Somay G., Misirli H., Erenoglu N.Y. Tumor necrosis factor alpha serum levels and inflammatory response in acute ischemic stroke. *Neurosciences (Riyadh)*, 2007, Vol. 12, no. 1, pp. 25-30.

16. Dziewulski D., Mossakowski M.J. Cellular expression of tumor necrosis factor α and its receptors in human ischemic stroke. *Clin. Neuropathol.*, 2003, Vol. 22, pp. 35-40.

17. Echeverry R., Wu F., Haile W.B., Wu J., Yepes M. The cytokine tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis and its receptor fibroblast growth factor-inducible 14 have a neuroprotective effect in the central nervous system. *J. Neuroinflammation*, 2012, Vol. 9, pp. 45-52.

18. Emsley H.C., Smith C.J., Gavin C.M., Georgiou R.F., Vail A., Barberan E.M., Hallenbeck J.M., del Zoppo G.J., Rothwell N.J., Tyrrell P.J., Hopkins S.J. An early and sustained peripheral inflammatory response in acute ischaemic stroke: relationships with infection and atherosclerosis. *J. Neuroimmunol.*, 2003, Vol. 139, pp. 93-101.

19. Intiso D., Zarrelli M.M., Lagioia G., Di Rienzo F., Checchia De Ambrosio C., Simone P., Tonali P., Cioffi Daggar R.P. Tumor necrosis factor alpha serum levels and inflammatory response in acute ischemic stroke patients. *Neurol. Sci.*, 2004, Vol. 24, no. 6, pp. 390-396.

20. Intiso D., Stampatore P., Zarrelli M.M., Guerra G.L., Arpaia G., Simone P., Tonali P., Beghi E. Incidence of first-ever ischemic and hemorrhagic stroke in a well-defined community of southern Italy, 1993-1995. *Eur. J. Neurol.*, 2003, Vol. 10, no. 5, pp. 559-565.

21. Jane J., Lo R., Graham C.A. BET 2: Blood biomarkers as an alternative to imaging in diagnosing acute ischaemic stroke. *Emerg. Med. J.*, 2018, Vol. 35, no. 5, pp. 336-338.

22. Jickling G.C., Sharp F.R. Blood biomarkers of ischemic stroke. *Neurotherapeutics*, 2011, Vol. 8, pp. 349-360.

23. Krishnamurthi R.V., Feigin V.L., Forouzanfar M.H., Mensah G.A., Connor M., Bennett D.A., Moran A.E., Sacco R.L., Anderson L.M., Truelsen T., O'Donnell M., Venketasubramanian N., Barker-Collo S., Lawes C.M., Wang W., Shinohara Y., Witt E., Ezzati M., Naghavi M., Murray C., Global Burden of Diseases IRFS, Group GBDSE. Global and regional burden of first-ever ischaemic and haemorrhagic stroke during 1990-2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet Glob. Health*, 2013, no. 1, pp. 259-281.

24. Lambertsen K.L., Biber K., Finsen B. Inflammatory cytokines in experimental and human stroke. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2012, Vol. 32, no. 9, pp. 1677-1698.

25. Liu Y.Z., Wang C., Wang Q., Lin Y.Z., Ge Y.S., Li D.M., Mao G.S. Role of fractalkine/CX3CR1 signaling pathway in the recovery of neurological function after early ischemic stroke in a rat model. *Life Sci.*, 2017, Vol. 184, pp. 87-94.

26. Lu G., He Q., Shen Y., Cao F. Potential biomarkers for predicting hemorrhagic transformation of ischemic stroke. *Int. J. Neurosci.*, 2018, Vol. 128, no. 1, pp. 79-89.

27. Maas M.B., Furie K.L. Molecular biomarkers in stroke diagnosis and prognosis. *Biomark Med.*, 2009, Vol. 3, pp. 363-383.

28. Maestrini I., Ducroquet A., Moulin S., Leys D., Cordonnier C., Bordet R. Blood biomarkers in the early stage of cerebral ischemia. *Rev. Neurol. (Paris)*, 2016, Vol. 172, no. 3, pp. 198-219.

29. Martínez-Sánchez P., Gutiérrez-Fernández M., Fuentes B., Masjuán J., Cases M.A., Novillo-López M.E., Díez-Tejedor E. Biochemical and inflammatory biomarkers in ischemic stroke: translational study between humans and two experimental rat models. *J. Transl. Med.*, 2014, no. 12, p. 220.

30. Mattson M.P. NF-kappaB in the survival and plasticity of neurons. *Neurochem. Res.*, 2005, Vol. 30, pp. 883-893.

31. Mazaheri S., Reisi E., Poorolajal J., Ghiasian M. C-Reactive protein levels and clinical outcomes in stroke patients: a prospective cohort study. *Arch. Iran Med.*, 2018, Vol. 21, no. 1, pp. 8-12.
32. Monbailliu T., Goossens J., Hachimi-Idrissi S. Blood protein biomarkers as diagnostic tool for ischemic stroke: a systematic review. *Biomark Med.*, 2017, Vol. 11, no. 6, pp. 503-512.
33. Musuka T.D., Wilton S.B., Traboulsi M., Hill M.D. Diagnosis and management of acute ischemic stroke: speed is critical. *CMAJ*, 2015, Vol. 187, pp. 887-893.
34. Ormstad H., Aass H.C.D., Lund-Sørensen N., Amthor K., Sandvik L. Serum levels of cytokines and C-reactive protein in acute ischemic stroke patients, and their relationship to stroke lateralization, type, and infarct volume. *J. Neurol.*, 2011, Vol. 258, no. 4, pp. 677-685.
35. Sairanen T., Carpen O., Karjalainen-Lindsberg M.L., Paetau A., Turpeinen U., Kaste M., Lindsberg P.J. Evolution of cerebral tumor necrosis factor-alpha production during human ischemic stroke. *Stroke*, 2001, Vol. 32, pp. 1750-1758.
36. Shalaby M.R., Waage A., Aarden L., Espevik T. Endotoxin, tumor necrosis factor-a and interleukin 1 induce interleukin 6 production *in vivo*. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1989, Vol. 53, no. 3, pp. 488-498.
37. Sharp F.R., Jickling G.C., Stamova B., Tian Y., Zhan X., Liu D., Kuczynski B., Cox C.D., Ander B.P. Molecular markers and mechanisms of stroke: RNA studies of blood in animals and humans. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2011, Vol. 31, pp. 1513-1531.
38. Sieber M.W., Claus R.A., Witte O.W., Frahm C. Attenuated inflammatory response in aged mice brains following stroke. *PLoS ONE*, 2011, Vol. 6, no. 10, pp. 5-11.
39. Sotgiu S., Zanda B., Marchetti B., Fois M.L., Arru G., Pes G.M., Salaris F.S., Arru A., Pirisi A., Rosati G. Inflammatory biomarkers in blood of patients with acute brain ischemia. *Eur. J. Neurol.*, 2006, Vol. 13, no. 5, pp. 505-513.
40. Sriram K., O'Callaghan J.P. Divergent roles for tumor necrosis factor- α in the brain. *JNIP*, 2007, Vol. 2, no. 2, pp. 140-153.
41. Wytrykowska A., Proszba-Mackiewicz M., Nyka W.M. IL-1 β , TNF- α , and IL-6 levels in gingival fluid and serum of patients with ischemic stroke. *J. Oral Sci.*, 2016, Vol. 58, no. 4, pp. 509-513.
42. Zaremba J., Losy J. Early TNF-alpha levels correlate with ischaemic stroke severity. *Acta Neurol. Scand.*, 2001, Vol. 104, no. 5, pp. 288-295.

Авторы:

Прилуцкая И.А. — аспирант кафедры патологической физиологии ГОУ ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», г. Донецк, Донецкая Народная Республика

Крюк Ю.Я. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии ГОУ ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», г. Донецк, Донецкая Народная Республика

Authors:

Prilutskaya I.A., Graduate Student, Department of Pathological Physiology, Donetsk National M. Gorky Medical University, Donetsk, Donetsk People's Republic

Kryuk Yu.Ya., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Pathological Physiology, Donetsk National M. Gorky Medical University, Donetsk, Donetsk People's Republic

Поступила 16.11.2018

Отправлена на доработку 19.11.2018

Принята к печати 03.05.2019

Received 16.11.2018

Revision received 19.11.2018

Accepted 03.05.2019