

УДК: 616.831-005.1:612.017.12

СОДЕРЖАНИЕ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ И ВАСКУЛЯРНОЙ МОЛЕКУЛЫ АДГЕЗИИ 1 ТИПА В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Ю. А. Крохалева^{1*},
Н. Н. Страмбовская¹, кандидат медицинских наук,
П. П. Терешков¹, кандидат медицинских наук,
А. Е. Алферова²

¹ ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия», 672090, Россия, г. Чита, ул. Горького, 39а

² ГУЗ «Краевая клиническая больница», 672038, Россия, г. Чита, ул. Коханского, 7

РЕЗЮМЕ Цель – изучить уровень провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α) в крови у больных инсультом в остром периоде (1, 10 и 21-е сутки) и содержание молекул адгезии клеток сосудов sVCAM-1 в 1-е сутки в зависимости от степени тяжести заболевания.

Материал и методы. Обследовано 76 пациентов с инсультом в возрасте $52,0 \pm 5,4$ года. В 1-ю группу вошли 27 больных с инсультом, оценивающимся в 0–5 баллов по шкале NIHSS, во 2-ю – 49 человек с инсультом, оценивающимся в 5–20 баллов. Контрольную группу составили 79 лиц, не имеющих признаков цереброваскулярной патологии. Определяли уровень интерлейкина-1 β (IL-1 β), интерлейкина-6 (IL-6), фактора некроза опухоли α (TNF- α) и концентрацию молекул адгезии клеток сосудов 1 (VCAM-1) в плазме крови, взятой трижды у больных (в 1-е, на 10-е и 21-е сутки от начала заболевания) и одновременно у здоровых лиц.

Результаты. У пациентов с инсультом наблюдается увеличение концентрации цитокинов к 10-м суткам заболевания. К концу острого периода (21-е сутки) ИЛ-6 снижается, а содержание ИЛ-1 β остается значительно большим, чем в 1-е сутки. При средней степени тяжести инсульта уровень ИЛ-6 и sVCAM-1 выше, чем при легкой. Между содержанием ИЛ-6 и sVCAM-1 обнаружена сильная положительная корреляционная связь.

Заключение. Биохимические маркеры воспаления могут служить критериями прогноза инсульта.

Ключевые слова: инсульт, васкулярная молекула адгезии, цитокины.

* Ответственный за переписку: yulia.shalashowa@yandex.ru

В последнее время большое количество исследований направлено на изучение механизмов развития очаговой ишемии мозга. Особый интерес вызывают иммунологические механизмы. Данные, полученные в экспериментах на животных, свидетельствуют о ключевой роли цитокинов в развитии и исходе ишемического инсульта, запуске процессов, приводящих к повреждению мозговой ткани. В последние годы активно изучаются реакции локального воспаления в области ишемического очага, а также роль латентного воспалительного процесса в патологии сосудов и развитии на его основе атеросклероза как одной из причин возникновения инсульта. Ранним клиническим проявлением активации воспаления является повышение активности провоспалительных цитокинов [4, 9]. Высвобождение последних, в свою очередь, вызывает повышение концентрации молекул адгезии. В ряду таких адгезинов особое место занимает VCAM-1 (васкулярная молекула клеточной адгезии 1 типа). Ее растворимая форма (sVCAM-1) в крови отражает уровень экспрессии данного адгезина эндотелием сосудов и клетка-

ми тканей. Особый интерес вызывает содержание провоспалительных цитокинов и sVCAM-1, выполняющих роль биохимических маркеров активности воспалительного процесса у больных инсультом, что может служить критерием прогноза заболевания [1, 8].

Цель исследования – изучить уровень провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α) в крови у больных инсультом в остром периоде (1, 10 и 21-е сутки) и содержание молекул адгезии клеток сосудов sVCAM-1 в 1-е сутки в зависимости от степени тяжести заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 76 пациентов с инсультом в возрасте $52,0 \pm 5,4$ года, находившихся на лечении в стационарах г. Читы. Критериями отбора явились: наличие объективно доказанного (методами нейровизуализации) эпизода острого нарушения мозгового кровообращения и отсутствие в анамнезе онкологических, гематологических и инфекционных заболеваний, а также другой острой соматической патологии

(инфаркт миокарда). Степень тяжести заболевания определяли с помощью шкалы NIHSS (шкала инсульта Национального института здоровья). В 1-ю группу включили больных с легкой степенью тяжести инсульта (0–5 баллов по шкале NIHSS, $n = 27$), во 2-ю – со средней и тяжелой (5–20 баллов по шкале NIHSS, $n = 49$). Контрольную группу составили 79 относительно здоровых лиц, не имевших признаков цереброваскулярной патологии (средний возраст – $50,0 \pm 4,8$ года, $p > 0,05$). У всех обследованных было получено информированное согласие на участие в исследовании. Работа одобрена ЛЭК (протокол № 30 от 9.11.11 г.). Материалом для исследования послужила плазма крови, взятой трижды у больных инсультом (в 1, 10 и 21-е сутки от начала заболевания) и одновременно у здоровых резидентов.

Определение интерлейкина-1 β (IL-1 β), интерлейкина-6 (IL-6), фактора некроза опухолей- α (TNF- α) проводили тест-системами фирмы «Вектор-Бест» (Россия), а концентрацию молекул адгезии клеток сосудов-1 (VCAM-1) определяли тест-системами фирмы «MILLIPORE» (США) с помощью иммуноферментного анализатора Expert 96 (Великобритания).

Статистическая обработка результатов выполнялась с использованием программных пакетов Biostat и Excel 2007. Рассчитывали и анализировали средние значения (M), стандартные отклонения (m), значимость различий оценивали по критерию Манна – Уитни (u -тест). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Связь количественных признаков исследовали с применением коэффициента корреляции Спирмена (r). Сила связей оценивалась по величине коэффициента корреляции: сильная при $R = 0,7–1,0$, средняя при $R = 0,3–0,7$ и слабая при $R = 0,3$ и менее.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В нашем исследовании зафиксирована низкая концентрация ИЛ-1 β и высокий уровень ИЛ-6 в 1-е сутки от начала инсульта. Пик концентраций пришелся на 10-е сутки, причем содержание ИЛ-1 β увеличилось в 14,2 раза, в то время как ИЛ-6 – в 1,14 раза по сравнению с 1-ми сутками. К концу острого периода заболевания (21-е сутки) уровень ИЛ-1 β снизился в 1,42 раза, ИЛ-6 – в 2,4 раза в сравнении с 10-ми сутками (табл. 1). Содержание TNF- α в крови оказалось равно 0 пг/мл как у больных инсультом в динамике острого периода заболевания, так и у здоровых лиц.

Содержание ИЛ-1 β у большинства пациентов с инсультом в 1-е сутки было равно 0 пг/мл, и лишь у 2 человек его концентрация составила 0,46 и

43,18 пг/мл. Такое повреждение центральной нервной системы, как инсульт, в первые часы вызывает иммуносупрессию, которая является следствием нарушения регуляции церебрально-иммунных взаимодействий. ИЛ-6 может играть двойную роль в развитии воспалительного ответа: оказывать типичные для этой группы провоспалительные эффекты и, одновременно ингибируя выработку ИЛ-1, проявлять противовоспалительные свойства [4]. Помимо этого при ишемическом инсульте наблюдается также развитие воспалительного ответа организма на системном уровне. Выраженность и баланс именно этих противовоспалительных реакций будет влиять на прогноз заболевания [7]. Возможно, эти механизмы и объясняют столь низкую концентрацию ИЛ-1 β и высокий уровень ИЛ-6 в 1-е сутки от начала инсульта в проведенном нами исследовании. Снижение уровня ИЛ-1 β и ИЛ-6 к концу острого периода заболевания (21-е сутки) в сравнении с 10-ми сутками, скорее всего, можно объяснить тем, что ИЛ-1 β подавляет ИЛ-6, и этот процесс направлен на угнетение системного воспалительного ответа по истечении времени с момента повреждения головного мозга. По некоторым данным, уровень цитокинов зависит от локализации и размеров зоны повреждения [4]. Мы не исследовали связь данных показателей с уровнем цитокинов.

Известно, что у пациента в острой стадии ишемического инсульта происходит повышение концентрации различных цитокинов, среди которых наибольшая роль отводится ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α в периферической крови и ликворе [2, 4]. В настоящее время накоплены многочисленные данные о содержании цитокинов у больных инсультом в динамике. Например, в одном из исследований описано, что уровень ИЛ-1 α у больных геморрагическим инсультом многократно возрастал уже в 1-е сутки заболевания по сравнению со здоровыми лицами, достигал пика к 3-м суткам и снижался на 10-е сутки по сравнению с показателями как в 1-е сутки заболевания, так и в 3-и. В другом исследовании замечено, что концентрация ИЛ-1 α в сыворотке крови в 1-е сутки инсульта была значительно выше по сравнению с контрольной группой (соответственно $919,1 \pm 46,7$ и 26 ± 8 пг/мл). Мониторинг содержания ИЛ-1 α в остром периоде ишемического инсульта показал снижение его в сыворотке крови к 10-м и 21-м суткам.

Что касается sVCAM-1, то ее референтные пределы составляют 1090 ± 273 нг/мл [3, 5]. VCAM-1 экспрессируется только после стимуляции клеток ИЛ-1, ФНО- α или эндотоксином. Содержание в крови ИЛ-1 и ФНО- α у участников клинической группы в данном исследовании определилось в низких концентрациях, быть может поэтому уро-

Таблица 1. Содержание цитокинов в крови больных инсультом в динамике острого периода заболевания, пг/мл ($M \pm m$)

| Показатель | Пациенты с инсультом (n = 78) | | | Контрольная группа (n = 79) |
|----------------------|-------------------------------|--|-----------------------------|-----------------------------|
| | 1-е сутки | 10-е сутки | 21-е сутки | |
| IL-1 β , пг/мл | 1,2 ^{*†} | 14,2 \pm 7,4 ^{*Δ} | 10, \pm 4,2 ^{**} | 2,1 [*] |
| IL-6, пг/мл | 8,1 \pm 3,9 ^{**} | 9,3 \pm 4,9 ^{**} | 3,9 \pm 1,6 [*] | 2,0 \pm 0,8 |
| sVCAM-1, нг/мл | 160 \pm 77 | – | – | – |

Примечание. Статистическая значимость различий: * – $p < 0,0001$ по сравнению с контролем; ** – $p < 0,0001$ по сравнению с данными на 21-е сутки от начала инсульта; † – $p < 0,0001$ по сравнению с данными на 10-е сутки; Δ – $p < 0,05$, * – $p < 0,0001$ при сравнении уровней разных цитокинов внутри группы.

Таблица 2. Содержание sVCAM-1, ИЛ-6 у больных инсультом в зависимости от степени тяжести, нг/мл ($M \pm m$)

| Маркеры | Средняя степень тяжести ОНМК (n = 49) | Легкая степень тяжести ОНМК (n = 27) |
|----------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
| sVCAM-1, нг/мл | 97,3 \pm 42,1 ^{**} | 61,3 \pm 20,4 [*] |
| ИЛ-6, пг/мл | 6,8 \pm 3,7 [*] | 4,2 \pm 1,7 |

Примечание. Статистическая значимость различий: * – $p < 0,05$ по сравнению с показателями при легкой степени тяжести инсульта; * – $R = 0,9$ линейная связь с ИЛ-6.

вень молекул клеточной адгезии оказался ниже референтных величин.

Содержание sVCAM-1 определялось у больных ИБС (ишемической болезнью сердца), у которых ее концентрация составила 907,5 нг/мл, а уровень ИЛ-6 – 2,9 пг/мл [5]. Роль sVCAM-1 изучалась в развитии дисфункции эндотелия при геморрагической лихорадке с почечным синдромом (ГЛПС). Концентрация sVCAM-1 во все периоды при среднетяжелой и тяжелой неосложненной формах ГЛПС статистически значимо выше контроля с максимумом в периоды олигурии [1].

ИЛ-6 является одним из важнейших медиаторов острой фазы воспаления. Секретируется макрофагами, фибробластами, клетками сосудистого эндотелия и др. ИЛ-6 обладает как воспалительным, так и противовоспалительным действием. Увеличивает проницаемость эндотелия; стимулирует образование гепатоцитами белков острой фазы воспаления; обладает эффектом отрицательной обратной связи по отношению к образованию интерлейкина-1 и TNF- α [2, 7]. Авторами одного из исследований установлена статистически значимая положительная корреляционная связь между уровнем VCAM-1 и содержанием ИЛ-6 плазмы крови у больных ишемической болезнью сердца: $r = 0,25$, $p < 0,05$ [6].

В данном исследовании мы определили содержание данной молекулы и ИЛ-6 в крови больных инсультом в зависимости от степени тяжести. Анализируя результаты, мы выявили сильную

корреляционную связь между уровнями sVCAM-1 и ИЛ-6. Оказалось, что чем выше концентрация ИЛ-6, тем выше содержание sVCAM-1 (см. табл. 2).

Несмотря на низкую концентрацию sVCAM-1 в обеих группах по сравнению с референтным пределом, у больных со средней степенью тяжести этот показатель все же статистически значимо выше, чем у пациентов с легкой степенью. Содержание ИЛ-6 также оказалось больше в группе лиц со средней степенью тяжести инсульта. Между изучаемыми показателями в пределах одной группы прослеживается сильная положительная связь ($R = 0,9$; $p < 0,0001$).

ВЫВОДЫ

У больных инсультом отмечается увеличение концентрации цитокинов к 10-м суткам заболевания. К концу острого периода (21-е сутки) наблюдается снижение ИЛ-6 в сравнении с 10-ми и 1-ми сутками, а содержание ИЛ-1 β остается значительно больше, чем в 1-е сутки, и меньше, чем в 10-е сутки. У больных со средней степенью тяжести заболевания уровень ИЛ-6 и sVCAM-1 выше по сравнению с пациентами, имеющих легкую степень заболевания. Между ИЛ-6 и sVCAM-1 обнаружена сильная положительная корреляционная связь ($R = 0,9$; $p < 0,0001$), от чего, возможно, зависит течение и исход инсульта. Следовательно, эти биохимические маркеры воспаления могут служить критериями прогноза инсульта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Байгильдина, А. А. Роль адгезивных молекул VCAM-1 и VE-кадгерина в развитии дисфункции эндотелия при геморрагической лихорадке с почечным синдромом / А. А. Байгильдина // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2009. – Т. 5, № 4. – С. 478–481.
2. Жданов, Г. Н. Клинические и иммунологические аспекты в дифференциальной диагностике, лечении и прогнозировании ишемического инсульта : автореф. дис. д-ра мед. наук : 14.00.13 / Жданов Геннадий Николаевич. – М., 2007. – 18 с.
3. Коршунов, Г. В. Маркеры системного воспалительного ответа при коксартрозе / Г. В. Коршунов, С. Г. Шахмартова, Д. М. Пучиньян // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2013. – Т. 9, № 4. – С. 679–683.
4. Провоспалительные цитокины в прогнозе ишемического инсульта / Т. С. Мищенко [и др.] // Новости медицины и фармации. – 2010. – Неврология (328) (тематический номер).
5. Раичевич, Н. Оценка прогностической значимости уровней молекул адгезии sICAM-1, sVCAM-1 и других маркеров воспаления у больных хронической ишемической болезнью сердца : дис. ... канд. мед. наук : 14.01.05 / Раичевич Н. – М., 2014. – 145 с.
6. Саха Сумита. L162V полиморфизм гена рецепторов активатора пролиферации пероксисом- α и факторы иммунного воспаления у больных ишемической болезнью сердца : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.05 / Сумита Саха. – СПб., 2013. – 17 с.
7. Симбирцев, А. С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 9–16.
8. Шаряков, Д. Е. Значение молекулы адгезии VCAM1 при внегоспитальных пневмониях / Д. Е. Шаряков, В. М. Семенов // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2011. – № 4. – С. 54–58.

CONTENT OF ANTIINFLAMMATORY CYTOKINES AND VASCULAR ADHESION MOLECULE OF 1 TYPE IN STROKE ACUTE PERIOD

Yu. A. Krokhalova,
N. N. Strambovskaya, Candidate of Medical Science,
P. P. Tereshkov, Candidate of Medical Science,
A. E. Alferova

ABSTRACT

Aim – to examine the level of anti-inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, FHO- α) in blood of patients with stroke acute period (1, 10 and 21st days) and the content of sVCAM-1 vascular adhesion molecule on the first day in dependence on the disease severity degree.

Materials and methods. 76 patients with stroke aged $52,0 \pm 5,4$ years were examined. First group includes 27 patients with light degree of stroke severity (0-5 points upon NIHSS scale), second group includes 49 persons with middle and serious degrees. Control group includes 79 individuals without cerebrovascular pathology signs. Interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor α (TNF- α) and vascular concentration adhesion molecule-1 (VCAM-1) in blood plasma which was taken for three times in patients (on 1st, 10th and 21st days from the disease onset) and simultaneously in healthy persons.

Results. The increase of all cytokines concentration was observed in stroke patients to the tenth day of the disease. The decrease of IL-6 was stated to the end of acute period (21st day) in comparison with 10th and 1st days; IL-1 β content remained significantly more than on the first day and less than on tenth one. IL-6 and VCAM-1 level was higher in the middle degree of stroke severity in comparison with the light one. Serious positive correlation of IL-6 and sVCAM content was determined.

Conclusion. Inflammation biochemical markers might serve as stroke prognostic criteria.

Key words: anti-inflammatory cytokines, vascular adhesion molecule, stroke.