

С.П. Сергеева¹, П.Ф. Литвицкий¹, И.Д. Бреславич², М.М. Гультяев³

Изменение соотношения уровней растворимых TNF- α и TNF-R1 в крови как одно из ключевых звеньев патогенеза, диагностический и прогностический показатель при ишемическом инсульте

¹ Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава РФ, 119992, Москва, ул. Трубецкая д.8, стр.2

² Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские Горы, 1

³ Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Московский государственный медицинский стоматологический университет им. А.И. Евдокимова

Целью настоящего исследования было изучение динамики содержания sTNF- α , sTNF-R1 в крови пациентов, перенесших ИИ, корреляция их уровней с тяжестью неврологических проявлений. В исследовании приняли участие 60 пациентов, перенесших ИИ, 25 чел. составили группу контроля. Концентрацию sTNF- α , sTNF-R1 определяли иммуноферментным методом. Сделан вывод о том, что на 1 сутки развития ИИ взаимодействие sTNF- α и tmTNF-R1 потенцирует повреждение ткани головного мозга, запуская воспаление и апоптоз, на 7 и 21 сутки ИИ sTNF- α начинает оказывать нейропротекторный эффект. Взаимодействие sTNF- α с растворимой формой sTNF-R1 препятствует нарастанию повреждения. Сделан вывод о важном прогностическом значении динамики соотношения sTNF- α /sTNF-R1 при ИИ.

Ключевые слова: патогенез ишемического инсульта, прогностический маркер, sTNF- α , sTNF-R1

S.P. Sergeeva, P.F. Litvickiy, I.D. Breslavich, M.M. Gultyayev

The changes of plasma levels of soluble TNF- α and TNF-R1 ratio is a prognostic marker and key element of the stroke pathogenesis

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, B.Pirogovskaya str., Moscow, 119991

The goal of the present study was to investigate the plasma levels of sTNF- α , sTNF-R1 in acute stroke patients, to study the relation between ones, the neurological stroke severity and functional disability. The investigations comprised 60 ischemic stroke patients, 25 patients form control group. Plasma levels of sTNF- α , sTNF-R1 were detected by means of ELISA. The conclusion of interaction of sTNF- α and tmTNF-R1 increases inflammatory and apoptotic brain tissue damage on the first day of stroke is drawn. On the 7-th and 21-st days of stroke sTNF- α realize a neuroprotective effect. The interaction sTNF- α and sTNF-R1 blockade of damage expansion. As the result, prognostic significance of sTNF- α /sTNF-R1 is showed.

Key words: stroke pathogenesis, prognostic marker, sTNF- α , sTNF-R1

Иммунопатологические процессы играют существенную роль в патогенезе ишемического инсульта. Образующиеся при этом цитокины (главным образом, обладающие провоспалительным эффектом) продуцируются в зоне ишемии головного мозга активированными лейкоцитами, глиальными клетками, потенцируют воспаление, увеличивая лейкоцитарную инфильтрацию зоны ишемии мозга и степень повреждения нейронов [6].

TNF- α , обладающий провоспалительным действием, может служить сигналом к гибели клеток пу-

тем инициации апоптоза или некроза. TNF- α способен также вызывать экспрессию генов, способствующих ангиогенезу в зоне ишемии [1, 3]. TNF- α выступает и в качестве триггера процессов адаптации ткани мозга к ишемии. Индукция синтеза TNF- α при дозированных физических упражнениях, равно как и образование ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1 and 2), играют существенную роль в восстановлении функционирования гематоэнцефалического барьера [2].

Выделяют две формы TNF- α : мембраносвязанную (tmTNF- α) и образующуюся при действии матриксной металлопротеиназы TNF-превращающего фермента (TACE) растворимую форму (sTNF- α). Обе эти формы экспрессируются в центральной нервной системе клетками микроглии, астроцитами, отдельными популяциями нейронов. Они взаимодействуют со специфичными рецепторами TNF-R1 и TNF-R2 на поверхности клеток, оказывая вышеупомянутые эффекты. TNF-R1 экспрессируется всеми типами клеток и может быть активирован как мембраносвязанной, так и растворимой формой TNF- α . В отличие от этого, TNF-R2 экспрессируется клетками иммунной системы, микроглии, эндотелиоцитами и взаимодействует только с tmTNF- α , потенцируя действие R1. Доказано, что экспрессия TNF-R1 коррелирует с усилением гибели нейронов, а TNF-R2 участвует в реализации механизмов нейропротекции. Существуют также растворимые формы TNF-R1 и TNF-R2 (sTNF-R1 и sTNF-R2 соответственно), которые образуются путем альтернативного сплайсинга, в результате действия матриксной металлопротеиназы. Эти формы sTNF-R способны связывать свой лиганд TNF- α . При этом наибольшей афинностью к TNF- α обладает sTNF-R1 [4, 8].

Работы отдельных исследовательских групп показали наличие положительной связи между степенью повреждения головного мозга в результате его локальной ишемии, выраженностью неврологических проявлений и содержанием sTNF- α в крови, а также растворимых рецепторов к TNF- α [5, 7]. Однако не показаны корреляционные связи, прогностическое значение данных параметров на достаточной выборке.

Цель исследования — изучение динамики содержания sTNF- α , sTNF-R1 в крови пациентов, перенесших ИИ, корреляция их уровней с тяжестью неврологических проявлений и их динамикой.

Методика

Проведено проспективное одноцентровое контрольно-групповое исследование. Оно не изменяло плана диагностических и лечебных мероприятий: все пациенты получали объем медицинской помощи в соответствии со стандартом медицинской помощи больным с инсультом (при оказании специализированной помощи). Исследование соответствовало требованиям Хельсинкской Декларации Всемирной медицинской ассоциации (2000). Критериями включения были: впервые развившийся ИИ, установленный клинически и при помощи методов нейровизуализации (КТ, МРТ); критериями исключения: наличие черепно-мозговых травм, транзиторных ишемических атак, рассеянного склероза, онкологических и аутоиммунных заболеваний в анамнезе, аллергических реакций на момент исследования.

Критерии включения в группу контроля: возраст, сопоставимый с группой исследования, отсутствие в анамнезе острых нарушений мозгового кровообращения, черепно-мозговых травм, транзиторных ишемических атак, рассеянного склероза, онкологических и аутоиммунных заболеваний, аллергических реакций на момент исследования.

Для объективизации оценки тяжести состояния, выраженности очагового неврологического дефицита и динамики клинических показателей использовалась балльная шкала оценки тяжести неврологического дефицита после инсульта Национального института здоровья (NIHSS). Концентрацию TNF- α , TNF-R1 определяли на 1, 7 и 21 сутки после ИИ методом иммуно-ферментного анализа (ИФА) с использованием стандартных тест-систем (Bender Medsystems, Vienna, Austria).

Обследовали женщин (средний возраст 75 лет) и мужчин (средний возраст 68 лет), с впервые развившимся ИИ на 1, 7 и 21 сутки заболевания (n = 60). Группу контроля составили 25 чел. (средний возраст 72 года) (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика обследованных пациентов и группы контроля

		Группа контроля	Группа ИИ	Группа ИИ с благоприятным исходом	Группа ИИ с неблагоприятным исходом
Мужчины	кол-во	12	23	12	11
	возраст	69 \pm 7	68 \pm 9	66 \pm 9	70 \pm 7
Женщины	кол-во	13	37	23	14
	возраст	75 \pm 6	75 \pm 8	73 \pm 7	78 \pm 5
Всего	кол-во	25	60	35	25
	возраст	72 \pm 10	72 \pm 11	71 \pm 11	74 \pm 12

В зависимости от исхода острого периода ИИ были сформированы две подгруппы пациентов: подгруппа с благоприятным (балл по шкале NIHSS на 21 сутки менее 5) и с неблагоприятным исходом (балл по шкале NIHSS на 21 сутки более 5).

Для анализа фактических данных использовали следующие статистические методы: дисперсионный, корреляционный, регрессионный, кластерный анализ данных. Данные были проверены на нормальность распределения по тесту Шапиро—Уилка. Использовались параметрические (t-тест Стьюдента) и непараметрические (U-тест Манна—Уитни) критерии оценки статистической значимости различий. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

У пациентов, перенесших ИИ, отмечено статистически значимое по сравнению с группой контроля увеличение концентрации sTNF- α во все сроки исследования (рис. 1), однако наиболее выражено оно было на 1 сутки, что совпадает с результатами наших предыдущих исследований и данными литературы [3, 5, 6].

В группе пациентов с благоприятным исходом содержание sTNF- α на 1 сутки ИИ была статистически значимо ниже, чем у пациентов с неблагоприятным исходом ($p < 0,05$). Указанный параметр не имеет прогностического значения, так как не получено статистически значимой зависимости между концентрацией sTNF- α на 1 сутки и баллом по шкале NIH на 21 сутки исследования ($r = 0,323$, $p = 0,07$). При корреляционном анализе с учетом подгрупп пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходом ИИ получены противоположно направленные результаты: в группе пациентов с благоприятным исходом зависимость sTNF- α на 1 сутки от NIH на 21 была отрицательной ($r = -0,27$), а в группе с неблагоприятным исходом положительной ($r = 0,29$) при $p > 0,05$. Динамика содержания sTNF- α в крови не отражала тяжести состояния пациента ($r = 0,1$, $p > 0,05$).

Концентрация sTNF-R1 у пациентов обеих подгрупп не отличалась значимо от таковой в группе контроля. Прогностического значения концентрация sTNF-R1 не имела ($r = -0,23$, $p > 0,05$). При корреляционном анализе с учетом подгрупп пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходом (так же как и при анализе концентрации sTNF- α) получены противоположно направленные результаты: в группе пациентов с благоприятным исходом зависимость sTNF-R1 на 1 сутки от NIH на 21 была положительной ($r = 0,5$, $p > 0,05$), а в группе с неблагоприятным исходом — отрицательной ($r = -0,45$, $p < 0,05$). Динамика концентрации sTNF- α не отражала динамики тяжести состояния пациента ($r = -0,03$, $p > 0,05$).

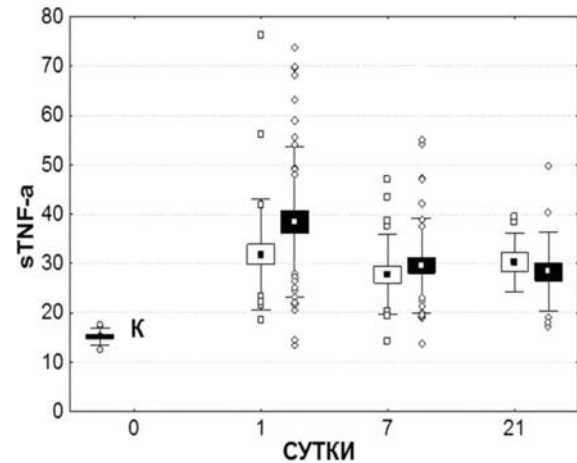


Рис. 1. Концентрация sTNF- α в крови на 1, 7, 21 сутки после ИИ у пациентов в группе с благоприятным исходом (белый), в группе с неблагоприятным исходом (черный) и в группе контроля (К) (пг/мл).

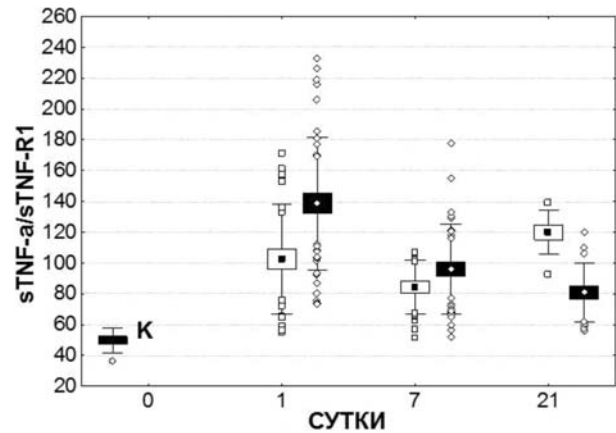


Рис. 2. Соотношение концентрации sTNF- α и sTNF-R1 в крови на 1, 7, 21 сутки после ИИ у пациентов в группе с благоприятным исходом (белый), в группе с неблагоприятным исходом (черный) и в группе контроля (К).

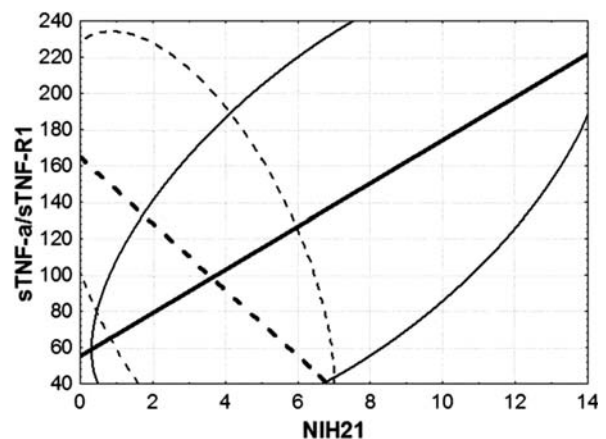


Рис. 3. Зависимость между соотношением концентрации sTNF- α и sTNF-R1 в крови на 1 сутки после ИИ и баллом по шкале NIH на 21 сутки после ИИ у пациентов в группе с благоприятным исходом (пунктир), в группе с неблагоприятным исходом (сплошная).

Данные к рисункам

ХОРОШИЙ		
ПАРАМЕТР	sTNF- α , пг/мл	sTNF- α /sTNF-R1, 10 ⁻³
КОНТРОЛЬ	15,16 ± 0,51	49,82 ± 2,46
1	31,85 ± 2,06	102,35 ± 6,49
7	27,78 ± 1,76	84,25 ± 3,84
21	30,28 ± 1,98	119,74 ± 4,77

ПЛОХОЙ		
ПАРАМЕТР	sTNF- α , пг/мл	sTNF- α /sTNF-R1, 10 ⁻³
КОНТРОЛЬ	15,16 ± 0,51	49,82 ± 2,46
1	38,36 ± 2,3	138,56 ± 6,47
7	29,58 ± 1,56	96,07 ± 4,71
21	28,34 ± 1,85	80,75 ± 4,38

	УРАВНЕНИЕ РЕГРЕССИИ	R	P
ХОРОШИЙ	$y = 164,82 - 18,25 \cdot x$	-0,57	0,068
ПЛОХОЙ	$y = 55,44 - 11,88 \cdot x$	0,66	0,001

Соотношение sTNF- α /sTNF-R1 во все сроки исследования в обеих подгруппах было статистически значимо выше, чем в группе контроля (рис. 2).

Однако если у пациентов с неблагоприятным исходом это соотношение статистически значимо снижалось с 1 по 21 сутки на 40% ($p < 0,05$), то в другой подгруппе статистически значимой динамики не отмечено ($p > 0,05$). Результаты корреляционного анализа соотношения sTNF- α /sTNF-R1 показали его важное прогностическое значение, так как статистически значимо прямо коррелировали с баллом НИН на 21 сутки исследования ($r = 0,47$, $p < 0,01$), а средние значения соотношения в подгруппах на 1 сутки различались на 35% ($p = 0,06$). При корреляционном анализе с учетом подгрупп пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходом получены альтернативные результаты: в группе пациентов с благоприятным исходом зависимость соотношения sTNF- α /sTNF-R1 на 1 сутки от НИН на 21 была обратной ($r = -0,56$, $p > 0,05$), а в группе с неблагоприятным исходом прямая ($r = 0,66$, $p < 0,01$) (рис. 3).

Анализ результатов исследования позволяет сделать вывод о том, что на 1 сутки развития ИИ взаимодействие sTNF- α и tmTNF-R1 потенцирует повреждение ткани головного мозга, запуская нарастающую цепную реакцию таких процессов, как воспаление и апоптоз. Напротив, взаимодействие sTNF- α с растворимой формой sTNF-R1 препятствует нарастанию повреждения.

Приведенные выше факты свидетельствуют о важном прогностическом значении динамики соотношения sTNF- α /sTNF-R1 при ИИ. Они объясняют также различия в изменении этого показателя в подгруппах с благоприятным и неблагоприятным исходами ИИ, а также прямую зависимость выраженности неврологического дефицита от концентрации

sTNF- α в крови пациентов с ИИ на данном сроке исследования.

Есть основания считать, что при благоприятном исходе ИИ на его 7 и 21 сутки sTNF- α начинает оказывать нейропротекторный эффект, играя ключевую роль в восстановлении функционирования гематоэнцефалического барьера: в крови пациентов с благоприятным исходом на 21 сутки наблюдается уменьшение концентрации sTNF-R1, а величина соотношения sTNF- α /sTNF-R1 достоверно не изменяется с течением времени. В отличие от этого, при неблагоприятном исходе к 21 суткам уровень этого показателя достоверно понижается.

Список литературы

1. *Goukassian D.A., Qin G., Dolan C.* et al. Tumor necrosis factor-alpha receptor p75 is required in ischemia-induced neovascularization // *Circulation*. — 2007. — Vol. 115. — P. 752-762.
2. *Guo M., Lin V., Davis W.* Preischemic induction of TNF- α by physical exercise reduces blood-brain barrier dysfunction in stroke // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. — 2008. — Vol. 28. — P. 1422-1430.
3. *Huang J, Upadhyay U.M., Tamargo R.J.* Inflammation in stroke and focal cerebral ischemia // *Surg. Neurol*. — 2006. — Vol. 66. — P. 232-245.
4. *Idriss H.T., Naismith J.N.* TNF alpha and the TNF receptor superfamily: structure-function relationships // *Microscopy Research and Technique*. — 2000. — Vol. 50. — P. 184-195.
5. *Lambertsen K.L., Biber K., Finsen B.* Inflammatory cytokines in experimental and human stroke // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. — 2012. — Vol. 32. — P. 1677-1698.
6. *Ormstad H., Dalsbotten H.C., Lund-Sorensen N.* Serum levels of cytokines and C-reactive protein in acute ischemic stroke patients, and their relationship to stroke laterali-

zation, type, and infarct volume // J. Neurol. — 2011. — Vol. 258. — P. 677-685.

7. *Pana W., Dinga Y., Yua Y.* et al. Stroke upregulates TNF transport across the blood-brain barrier // Experimental Neurology. — 2006. — Vol. 198, №1. — P. 222-233.

8. *Wajant H., Pfizenmaier K., Scheurich P.* Tumor necrosis factor signaling // Cell Death Differ. — 2003. — Vol. 10. — P. 45-65.

Поступила 22.06.13

Сведения об авторах:

Сергеева С.П. — канд. мед. наук, доцент кафедры патофизиологии ГБОУ ВПО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ

Литвицкий П.Ф. — д-р мед. наук, зав. кафедрой патофизиологии ГБОУ ВПО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ

Бреславич И.Д. — соискатель кафедры аэромеханики и газовой динамики МГУ им. М.В. Ломоносова

Гультяев М.М. — канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патогенеза и методов лечения инфекционных заболеваний ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова