

В. С. Личко

ДИСФУНКЦІЯ ЦИТОКІНОВОЇ СИСТЕМИ В ГОСТРОМУ ПЕРІОДІ ІНФАРКТУ ГОЛОВНОГО МОЗКУ В ДИНАМІЦІ КОРЕКЦІЇ КРІОКОНСЕРВОВАНОЮ СИРОВАТКОЮ КОРДОВОЇ КРОВІ ЛЮДИНИ

В. С. Лычко

Дисфункция цитокиновой системы в остром периоде инфаркта головного мозга в динамике коррекции криоконсервированной сывороткой кордовой крови человека

V. S. Lychko

The cytokine system dysfunction in the acute period of ischemic stroke in dynamics of correction with cryopreserved cord blood serum

Мета дослідження полягала у вивченні змін у системі тригерних цитокінів в динаміці лікування 350 хворих у гострому періоді інфаркту головного мозку препаратом криоконсервованої сироватки кордової крові (КСКК) людини «Кріоцелл-кріокорд».

Виявлена одночасна потужна активація про- та протизапальних цитокінів у дебюті захворювання підтверджує прямий стосунок їх до ранньої ініціації процесів локальної запальної реакції у відповідь на гостре ішемічне пошкодження мозкової тканини. Про наявність протизапальної дії КСКК свідчила позитивна динаміка нормалізації плазмових рівнів цитокінів у хворих, які додатково отримували КСКК.

Ключові слова: ішемія, кордова кров, цитокін, запалення, макрофаг

Цель исследования заключалась в изучении изменений в системе триггерных цитокинов в динамике лечения 350 больных в остром периоде инфаркта головного мозга препаратом криоконсервированной сыворотки кордовой крови (КСКК) человека «Криоцелл-криокорд».

Обнаруженная одновременная мощная активация про- и противовоспалительных цитокинов в дебюте заболевания подтверждает прямое отношение их к ранней инициации процессов локальной воспалительной реакции в ответ на острое ишемическое повреждение мозговой ткани. О наличии противовоспалительного действия КСКК свидетельствовала положительная динамика нормализации плазменных уровней цитокинов у больных, дополнительно получавших КСКК.

Ключевые слова: ишемия, кордовая кровь, цитокин, воспаление, макрофаг

The changes of the cytokine system in the dynamics of treatment of 350 patients in the acute period of ischemic stroke by cryopreserved cord blood serum (CCBS) "CryoCell-Cryocord" were studied.

This revealed simultaneous strong activation of pro- and anti-inflammatory cytokines in debut of the disease confirms their direct relevance to the early initiation of local inflammatory changes in response to acute ischemic brain tissue damage. Positive dynamics of normalization of plasma cytokine levels in patients, who additionally received CCBS can testify about anti-inflammatory effect of CCBS.

Key words: ischemia, cord blood, cytokine, inflammation, macrophage.

Розвиток локальної запальної реакції в зоні гострої гіпоксії під час інфаркту головного мозку (ІГМ) пов'язують із дією прозапальних цитокінів, що становлять групу пептидних розчинних імунних медіаторів [1, 2].

Одним із таких тригерів є інтерлейкін-6 (ІЛ-6), що діє як потужний активатор гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи та білків гострої фази запалення завдяки стимуляції трансмембранного рецептора *gp130* [3, 4]. Його секреція завжди посилюється під впливом стресу на фоні активації симпатoadреналової системи і регулюється деякими катехоламінами за принципом позитивного зворотного зв'язку [5].

Ще одним надважливим прозапальним цитокіном в розвитку ІГМ є фактор некрозу пухлин- α (ФНП- α), експресія якого спостерігається вже протягом першої години від появи неврологічного дефіциту [6]. Інтенсивність синтезу ФНП- α напряму залежить від сигналів, що надходять безпосередньо від пошкоджених гіпоксією нейронів протягом перших 1—4 годин, а вже в наступні 2—5 діб експресія його виявляється в астроцитах та імунних клітинах [7].

Проте в організмі наявна система, що має пригнічувати гострі стресові реакції, та реалізує власні ефекти завдяки продукції протизапальних цитокінів [2, 8].

Одним із них є ІЛ-4, що бере участь у диференціюванні Т-хелперів, контролює регуляцію продукції ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-5, ІЛ-6, ІЛ-8, активує макрофаги, посилюючи їхній цитотоксичний потенціал, індукує пролі-

ферацію НК-клітин, і за певних умов може брати участь у кумуляції лімфокин-активованих кілерів [9].

Пригнічуючи функції макрофагів і секрецію ними ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-8 і ФНП- α , ІЛ-4 демонструє протизапальний ефект. Водночас він може підвищувати цитотоксичну активність макрофагів, сприяти міграції нейтрофілів у вогнище запалення, підсилувати продукцію колонієстимулюючих факторів [10, 11].

Ще одним із найважливіших протизапальних цитокінів є ІЛ-10, що продукується насамперед імунними клітинами, як-от Т-хелпери, В-лімфоцити, моноцити, макрофаги, огрядні клітини й ін. [12]. Численні впливи різноманітних факторів, як-от гіпоксія, ендотоксини, катехоламіни можуть стимулювати імуніцити до гіперпродукції ІЛ-10 [13].

Метою дослідження було вивчення змін у системі тригерних прозапальних (ІЛ-6, ФНП- α) і протизапальних (ІЛ-4, ІЛ-10) цитокінів у гострому періоді ІГМ в динаміці лікування препаратом криоконсервованої сироватки кордової крові (КСКК) людини «Кріоцелл-кріокорд», що містить цілий набір біологічно активних речовин, як-от опіоїдні пептиди, ферменти, фактори росту, адаптогени, імуномодулятори, інтерферон та ін. Препарат був розроблений та виготовлений у ДП «Міжвідомчий науковий центр кріобіології і кріомедицини НАН, МОЗ, АМН України» (Харків, Україна).

Визначення плазмових рівнів ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-10, ФНП- α проводили методом твердофазного імуноферментного аналізу.

Основою роботи були матеріали комплексного обстеження 350 хворих із першим у житті ІГМ на 1-у, 10-у та 21-у добу захворювання. 185 хворих (52,8 %)

були особами чоловічої статі, 165 (47,2 %) — жіночої. Середній вік обстежених хворих був $65,2 \pm 0,7$ років (у межах від 46 до 79 років). Як групу порівняння додатково 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.

Залежно від призначеної медикаментозної терапії всі хворі були випадковим способом до початку лікування поділені на дві групи: пацієнти пер-

шої ($n = 175$) отримували недиференційовану терапію з призначенням 300 мг ацетилсаліцилової кислоти; другої ($n = 175$) — терапію пацієнтів першої групи, що була доповнена введенням внутрішньовенно 1 мл розчину КСКК протягом 10 діб.

Загальний вміст ІЛ-6 у групі всіх хворих на ІГМ на 1-у добу захворювання виявився вірогідно вищим за контрольні величини в 9,3 раза (таблиця).

Загальні рівні про- та протизапальних цитокінів у сироватці крові хворих на ІГМ в динаміці лікування ($M \pm m$, пг/мл)

Цитокіни	Усі хворі			1 група			2 група			Контрольна група
	1-а доба	10-а доба	21-а доба	1-а доба	10-а доба	21-а доба	1-а доба	10-а доба	21-а доба	
ІЛ-6	32,75±3,44	16,13±0,77	13,2±0,66	34,58±2,77	15,89±1,05	14,57±0,38	33,78±3,03	16,38±0,78	11,84±0,67* [^]	3,51±0,28
ФНП-α	16,13±0,77	13,2±0,66	6,97±0,44	15,89±1,05	14,57±0,38	8,62±0,24	16,38±0,78	11,84±0,67* [^]	5,33±0,37	4,12±0,34
ІЛ-4	4,51±1,67	3,86±0,99	2,3±0,89	4,48±1,27	4,12±1,11	2,78±0,54 [^]	4,55±2,07	3,6±0,88	1,82±1,24* [^]	1,48±0,21
ІЛ-10	2,36±0,31	1,62±0,43	1,37±0,24	2,31±0,21	1,69±0,64	1,6±0,35	2,41±0,41	1,55±0,22	1,14±0,13 [^]	0,57±0,17

Примітки. Всі показники вірогідні порівняно з контролем ($p < 0,05$); * — $p < 0,05$ між 1-ю та 2-ю групами хворих; [^] — $p < 0,05$ до та після лікування всередині групи

В динаміці спостерігалось зниження плазмового рівня показника, але на 21-у добу він все ще в 2,6 раза перевищував величину контролю.

Під час оцінювання динаміки рівнів ІЛ-4 у групах стає очевидним більш істотне зниження показника на 21-у добу в другій групі хворих порівняно з першою.

Подібна тенденція була виявлена під час дослідження сироваткових рівнів ФНП-α, коли на 1-у добу ІГМ фіксувалися в 3,9 раза вищі за контрольні величини. В динаміці захворювання на 21-у добу рівень ФНП-α в другій групі хворих, що додатково отримували КСКК, знижувався в 3,1 раза, тимчасом як у хворих другої групи — лише в 1,8 раза (див. таблицю).

Виявлені зміни можуть свідчити про істотне напруження тригерних механізмів з швидкою активацією цитокінової системи вже з перших годин ІГМ у відповідь на пошкодження головного мозку [14, 15].

Середня концентрація протизапального цитокіну ІЛ-4 у групі всіх хворих у дебюті захворювання становила $4,51 \pm 1,67$ пг/мл, що в 3,0 раза перевищувала контрольні величини (див. таблицю). На 21-у добу плазмовий рівень ІЛ-4 знижувався, але все ще в 1,6 раза був вищим за норму.

Вірогідніша динаміка показника спостерігалася в другій групі хворих, і на 21-у добу захворювання його величина становила $1,82 \pm 1,24$ пг/мл, що було максимально наближене до контрольних рівнів ($1,48 \pm 0,21$ пг/мл). Натомість у першій групі хворих рівень ІЛ-4 все ще був вищим в 1,9 раза за норму.

Плазмовий рівень ІЛ-10 в контрольній групі становив $0,57 \pm 0,17$ пг/мл, що загалом відповідало літературним даним [16]. Середня концентрація цитокіну ІЛ-10 у групі всіх хворих під час госпіталізації становила $2,36 \pm 0,31$ пг/мл, що більше ніж в 4 раза перевищувало контрольні величини (див. таблицю). В динаміці на 21-у добу рівень знижувався, але все ще в 2,4 раза був вищим за норму.

У групі хворих на ІГМ, що додатково отримували КСКК, спостерігалось вірогідне зниження рівня ІЛ-10

на 21-у добу, але все ще в 2,0 рази він перевищував контрольні рівні. У хворих першої групи величина показника була вищою у 2,8 раза.

Про одночасну потужну активацію про- та протизапальної цитокінових систем в процесі 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 захворювання 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 сунонок 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.

Додаткове застосування у лікувальному комплексі імунобіологічного препарату «Кріоцелл-кріокорд» спричинило більш істотну та швидку стабілізацію рівнів ІЛ-6 та ФНП-α, які були максимально наближені до контрольних, що суттєво впливало на перебіг і прогноз захворювання. Вірогідного зниження рівнів протизапальних цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-10 у процесі дослідження виявити не вдалося, що свідчить про вираженість локальної запальної реакції навіть на кінець гострого періоду захворювання. Але порівнюючи їхні величини із групою хворих, що додатково не отримували КСКК, доводиться констатувати все ж таки нижчі рівні цих показників.

Проведене дослідження підтвердило наявність протизапальної дії КСКК, яка може реалізуватися завдяки присутності в складі препарату цитокінів, як-от ІЛ-4, ІЛ-8, ІЛ-10 та трансформуючого фактора росту β [17, 18].

Список літератури

1. Lambertsen K. L., Biber K., Finsen B. Inflammatory cytokines in experimental and human stroke // *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2012. Vol. 32, No. 9. P. 1677—1698. DOI: 10.1038/jcbfm.2012.88.
2. Postischemic Inflammation in Acute Stroke / [Vidale S., Consoli A., Arnaboldi M., Consoli D.] // *Journal of Clinical Neurology*. 2017. Vol. 13, No. 1. P. 1—9. DOI: 10.3988/jcn.2017.13.1.1.
3. The balance of interleukin (IL)-6, IL-6 center dot soluble IL-6 receptor (sIL-6R), and IL-6 center dot sIL-6R center dot sgp130 complexes allows simultaneous classic and trans-signaling / Baran P., Hansen S., Waetzig G. H. [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. 2018. Vol. 293, No. 18. P. 6762—6775. DOI: 10.1074/jbc.RA117.001163.
4. Soluble gp130 prevents interleukin-6 and interleukin-11 cluster signaling but not intracellular autocrine responses / Lamertz L., Rummel F., Polz R. [et al.] // *Science Signaling*. 2018. Vol. 11, Issue 550. eaar7388. DOI: 10.1126/scisignal.aar7388.
5. Mattingly A. J., Laitano O., Clanton T. L. Epinephrine stimulates CXCL1 IL-1 alpha, IL-6 secretion in isolated mouse limb muscle // *Physiological Reports*. 2017. Vol. 5, No. 23. e13519. DOI: 10.14814/phy2.13519.
6. Esenwa C. C., Elkind M. S. Inflammatory risk factors, biomarkers and associated therapy in ischaemic stroke // *Nature Reviews Neurology*. 2016. Vol. 12, No. 10. P. 594—604. DOI: 10.1038/nrneuro.2016.125.
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. Systemic inflammation reverses stroke-induced changes in astrocytic aquaporin-4 expression / Sun Y., Matthew D., Szychala M. [et al.] // *Stroke*. 2016. Vol. 47. ATP 452.
9. Interleukin-4 is essential for microglia/macrophage M2 polarization and long-term recovery after cerebral ischemia / Liu X. R., Liu J., Zhao S. F. [et al.] // *Ibid*. 2016. Vol. 47, No. 2. P. 498—504. DOI: 10.1161/STROKEAHA.115.012079.
10. Protective effects of an anti-inflammatory cytokine, interleukin-4, on motoneuron toxicity induced by activated microglia / Zhao W. H., Xie W. J., Xiao Q. [et al.] // *Journal of Neurochemistry*. 2006. Vol. 99, No. 4. P. 1176—1187. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2006.04172.x.
11. Reducing Th2 inflammation through neutralizing IL-4 antibody rescues myelination in IUGR rat brain / Zanno A. E., Romer M. A., Fox L. [et al.] // *Journal of Neurodevelopmental Disorders*. 2019. Vol. 11, No. 1. P. 1—13. DOI: 10.1186/s11689-019-9297-6.
12. 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, No. 244. P. 1—17. DOI: 10.3389/fneur.2017.00244.
13. Segev-Amzaleg N., Trudler D., Frenkel D. Preconditioning to mild oxidative stress mediates astroglial neuroprotection in an IL-10-dependent manner // *Brain Behavior and Immunity*. 2013. Vol. 30. P. 176—185. DOI: 10.1016/j.bbi.2012.12.016.
14. 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.
15. Monocyte-derived macrophages contribute to spontaneous long-term functional recovery after stroke in mice / Wattananit S., Tornero D., Graubardt N. [et al.] // *Journal of Neuroscience*. 2016. Vol. 36, No. 15. P. 4182—4195. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4317-15.2016.
16. 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.
17. Гольцев А. Н., Лебединец Д. В., Порожан Е. А. Влияние криоконсервированных клеток эмбрионального мозга на медиаторы воспаления при экспериментальном ишемическом инсульте // *Проблемы криобиологии*. 2008. Т. 18, № 3. С. 309—312.
18. Human umbilical cord mesenchymal stem cells preserve adult newborn neurons and reduce neurological injury after cerebral ischemia by reducing the number of hypertrophic microglia/macrophages / Lin W., Hsuan Y. C., Lin M. T. [et al.] // *Cell Transplant*. 2017. Vol. 26, No. 11. P. 1798—1810. DOI: 10.1177/0963689717728936.

Надійшла до редакції 26.12.2019

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

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