



УКРАЇНА

(19) UA (11) 11401 (13) U

(51) 7 G01N33/48

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ І ВИХОДУ З ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ

1

2

(21) u200506689

(22) 08.07.2005

(24) 15.12.2005

(46) 15.12.2005, Бюл. № 12, 2005 р.

(72) Черенько Тетяна Макарівна

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

(57) Спосіб прогнозування перебігу та виходу з ішемічного інсульту, що включає визначення ІЛ-6, ФНП-альфа в крові в першу добу розвитку ішемічного інсульту, який відрізняється тим, що

ІЛ-6, ФНП-альфа та додатково ІЛ-4 визначають в сироватці крові і при підвищенні ФНП-альфа від 85 до 115 пг/мл ( $98,4 \pm 15,1$  пг/мл) прогнозують погіршення клінічного неврологічного стану або прогресуючий тип перебігу ішемічного інсульту, а при підвищенні ІЛ-6 від 180 до 265 пг/мл ( $221,4 \pm 25,1$  пг/мл) та одночасній наявності ІЛ-4 від 40 до 65 пг/мл ( $52,4 \pm 11,2$  пг/мл) прогнозують незадовільне відновлення неврологічних функцій до кінця гострого періоду.

Корисна модель відноситься до медицини, а саме до неврології і може бути використана для прогнозування перебігу та виходу з ішемічного інсульту на підставі визначення маркерів запалення в гострому періоді.

Серед найбільш важливих чинників, які впливають на розвиток гострої церебральної ішемії та визначають її наслідки - локальні запальні реакції. Вони характеризуються, насамперед, дисбалансом цитокінів та інших показників запалення [1]. Серед маркерів локального запалення важливе місце відводиться інтерлейкінам: ІЛ-1, 6, фактору некрозу пухлини (ФНП-альфа). Експериментально доведено, що виразність запальних реакцій визначається не тільки підвищеною продукцією прозапальних цитокінів, але й недостатністю систем протизапальних цитокінів- ІЛ-10, ІЛ-4, ТРФ-бета та іншим [2].

Відомий спосіб прогнозування перебігу ішемічного інсульту у якому відзначають можливість використання деяких учасників запальної відповіді-ІЛ- 1, ФНП-альфа, ТРФ-бета, с-реактивного білку, як імунобіохімічних маркерів тяжкості ішемічного процесу, критеріїв прогнозу ішемічного інсульту [3]. В період від 2 до 12 годин після розвитку ішемічного інсульту виявлено вірогідне підвищення в СМР рівні ІЛ-1 до 4,4пг/мл, (контроль 0,7пг/мл), ФНП-альфа до 22,8пг/мл ( контроль-11пг/мл), с-реактивного. білку до 31,4мкг/мл (контроль 9мкг/мл) при зниженні рівня ІЛ-10 до 24,5пг/мл (контроль-30,2пг/мл.

До недоліків аналогу слід віднести те, що серед великої кількості показників, які визначають у спинномозковій рідині хворих на ішемічний інсульт тільки с-реактивний білок має прогностичне значення, а саме: його найбільший приріст ( $243,7 \pm 52\%$ ) є вірогідним критерієм незадовільного прогнозу щодо відновлення неврологічних функцій. Слід відзначити як недолік, що мова йде, не про абсолютні значення, а приріст значення показника у відсотках.

Найбільш близьким за технічною реалізацією способом, який взято за найближчий аналог, є спосіб прогнозування перебігу гострого періоду ішемічного інсульту (перші 5 діб після розвитку інсульту) за допомогою визначення ІЛ-6 и ФНП-альфа (в крові та спинномозковій рідині) при ішемічному інсульті протягом 24 годин [4]. Погіршення стану хворих констатували протягом перших 48 годин ( по зменшенню на 1 бал за Канадською шкалою інсульту. ІЛ-6 в плазмі (більше 21,5пг/мл) чи в спинномозковій рідині (більше 6,3пг/мл) були незалежними факторами раннього клінічного погіршення, незалежно від типу інсульту. Концентрації ФНП-альфа були вищими у пацієнтів з погіршенням, проте різниця не була вірогідною. До недоліків найближчого аналогу відноситься відсутність вірогідних змін концентрацій ФНП-альфа, що не дозволяє використовувати цей, один з ключових прозапальних цитокінів, з метою прогнозування погіршень стану хворого в гострому періоді. Крім того, спосіб не дозволяє прогнозувати вихід з інсу-

(13) U

(11) 11401

(19) UA

льту протягом гострого періоду та давати функціональний прогноз в період відновлення, неврологічних функцій. До певної міри обмеження можливості більш довгострокових прогнозів при ішемії мозку відбувається через відсутність паралельного використання протизапального цитокінового маркера.

Задачею способу, що пропонується є: прогнозування погіршення в гострому періоді та виходу з гострого періоду ішемічного інсульту шляхом визначення в сироватці крові ІЛ-6 та ФНП-альфа, а також протизапального ІЛ-4, що дозволяє не тільки передбачити погіршення в гострому періоді, але й прогнозувати ступінь відновлення неврологічних функцій в гострому періоді та функціональний прогноз.

Технічний результат, що отримується від вирішення задачі, полягає у прогнозуванні погіршень в гострому періоді, негативних наслідків в гострому періоді і, таким чином, призначенні адекватної терапії та покращенні результатів лікування - ступеня відновлення неврологічних функцій, зменшенні інвалідності, летальності.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі, який включає визначення ІЛ-6, ФНП-альфа в крові хворих в першу добу після розвитку ішемічного інсульту, згідно корисної моделі, ІЛ-6, ФНП-альфа та додатково ІЛ-4 визначають в сироватці крові і при підвищенні ФНП-альфа від 85 до 115 пг/мл ( $98,4 \pm 15,1$  пг/мл) прогноують погіршення клінічного неврологічного стану або прогресуючий тип перебігу ішемічного інсульту, а при підвищенні ІЛ-6 від 180 до 265 пг/мл ( $221,4 \pm 25,1$  пг/мл) та одночасній наявності ІЛ-4 від 40 до 65 пг/мл ( $52,4 \pm 11,2$  пг/мл) прогноують незадовільне відновлення неврологічних функцій до кінця гострого періоду.

Відмінними особливостями способу, що заявляється, є дослідження в сироватці крові вмісту прозапальних ІЛ-6, ФНП-альфа, та протизапального ІЛ-4, які дозволяють прогнозувати погіршення в гострому періоді ішемічного інсульту (по підвищенню рівня ФНП-альфа в першу добу після розвитку інсульту) та незадовільне відновлення неврологічного дефіциту в кінці гострого періоду (по

підвищенню рівня ІЛ-6 та зниженню рівня ІЛ-4 у першу добу після розвитку ішемічного інсульту).

Це дозволяє передбачити прогресування ішемічного інсульту, зменшити ймовірність і вираженість погіршень неврологічного статусу в гострому періоді (які спостерігаються в 25-35% випадків та впливають на відновлення неврологічних функцій), покращити ступінь відновлення неврологічного дефіциту та вихід з ішемічного інсульту завдяки призначенню диференційної терапії, що корегує місцеві запальні реакції, дисбаланс про- та протизапальних цитокінів

Спосіб здійснюється наступним чином: у першу добу після розвитку ішемічного інсульту після проведення клініко-неврологічного та додаткового лабораторного та інструментального (в тому числі магнітно-резонансно-томографічного або комп'ютерно-томографічного досліджень), для верифікації інсульту, визначають рівень цитокінів ІЛ-6, ФНП-альфа, ІЛ-4 в сироватці крові.

Для визначення медіаторів запалення - цитокінів кров центрифугують при 3000g протягом 5хв., сироватку заморожують і зберігають до аналізу при -70°C. Контролем служить сироватка крові здорових донорів (10 чоловіків та 13 жінок), середина вік яких складав  $57 \pm 8$  років. Сироваткову концентрацію інтерлейкінів ІЛ-6, ФНП-альфа, ІЛ-4 визначають в першу добу після розвитку ішемічного інсульту методом кількісного імуноферментного аналізу з використанням тест-системи "Протеїновий контур" Санкт-Петербург.

Результати клініко-лабораторних та інструментальних досліджень обраховують методом варіаційної статистики по Стюденту з обчисленням середньої арифметичної - М, похибки репрезентативності - м, коефіцієнта вірогідності - р, коефіцієнта кореляції Спірмена - г на комп'ютері IBM Pentium-IV в пакеті прикладних програм статистичного аналізу Statistica 6.0.

Нами проведена порівняльна характеристика концентрації досліджуваних цитокінів у першу добу після судинної катастрофи, залежно від особливостей клінічного перебігу, у хворих з гострим порушенням мозкового кровообігу за типом ішемії (таблиця. 1).

Таблиця 1

Концентрації цитокінів у групах хворих з покращенням та погіршенням неврологічного статусу в перші 24-48 години після розвитку ішемічного інсульту.

Показник	Хворі з неврологічним погіршенням (n=37)	Хворі з неврологічним покращенням (n=31)
ІЛ-6 (пг/мл)	$189,3 \pm 24,2$	$162,1 \pm 21,8$
ФНП-альфа(пг/мл)	$98,4 \pm 15,1^*$	$56,3 \pm 12,6$
ІЛ-4 (пг/мл)	$59,3 \pm 11,0$	$71,5 \pm 14,1$

Аналіз вмісту цитокінів ІЛ-6, ФНП-альфа і ІЛ-4 продемонстрував вірогідне збільшення концентрацій ФНП-альфа в групі хворих з негативною динамікою неврологічного статусу в перші дві доби після судинної катастрофи порівняно з групою хворих з позитивними зрушеннями в неврологічній симптоматиці в цей, гострий період ( $98,4 \pm 15,1$  пг/мл і  $56,3 \pm 12,6$  пг/мл,  $p < 0,05$ ).

Ми співставили ступінь відновлення неврологічних функцій у хворих з тяжким і середньотяжким ішемічним інсультом на 21 добу гострого періоду з рівнем цитокінів у сироватці крові в першу добу розвитку ішемічного інсульту (рис.1).

У хворих з незадовільним відновленням неврологічних функцій (більше 9 балів) спостерігались вірогідно більш високі показники ІЛ-6 ( $221,4$

+43,2,  $p < 0,05$ ) і вірогідно більш низькі показники ІЛ-4 (52,4±11,7 пг/мл,  $p < 0,05$ ) порівняно з групою хворих з повноцінним відновленням неврологічного дефіциту. Співвідношення прозапальних цитокінів і протизапальних цитокінів (ІЛ-6/ІЛ-4 та ФНП-альфа/ІЛ-4) в групі з вираженим неврологічним дефіцитом (більше 9 балів) склало відповідно 6,4 і 1,8 що було більш ніж вдвічі вище порівняно з групою хворих з легким неврологічним дефіцитом - 2,6 і 0,8 відповідно.

Приклади конкретного виконання способу.

Приклад 1: хворий Б, 1936 року народження, історія хвороби № 3213381, госпіталізований в неврологічне відділення 29.11.2001р. через 10 годин після розвитку гострого порушення мозкового кровообігу в басейні лівої середньої мозкової артерії у стані середньої тяжкості, в сопорі, з помірним правобічним геміпарезом, парезом м'язів обличчя та язика за центральним типом справа, частковою моторною та сенсорною афазією. У першу добу після розвитку ішемічного інсульту після проведення клініко-неврологічного, лабораторного та інструментального обстежень за стандартним алгоритмом, визначено рівень прозапальних цитокінів ІЛ-6, ФНП-альфа, та протизапального ІЛ-4. Рівень ІЛ-6 становив 163 пг/мл, ФНП-альфа - 88,4 пг/мл, ІЛ-4 - 72 пг/мл. Протягом наступної доби стан хворого погіршився за рахунок посилення загально-мозкових явищ та поглиблення неврологічного дефіциту: наросли рухові розлади - до плечі в правій руці, поглибилась моторна афазія. На тлі традиційної дезагрегантної, вазоактивної, протинабрякової, нейропротекторної терапії стан хворого стабілізувався: на 8 день зменшились, головним чином, загально-мозкові явища - головний біль, головокружіння, відновилась свідомість. Суттєвого регресу вогнищевих симптомів - розладів мови, геміпарезу не відмічалось. Хворого виписано із стаціонару на 29 день з грубим неврологічним дефіцитом - вираженою моторною афазією та глибоким парезом правих кінцівок.

Приклад 2. Хвора М., 66 років, історія хвороби № 3213576, госпіталізована через 3 години до неврологічного відділення 03.01.2001 у тяжкому стані. Спостерігались виражені загально-мозкові розлади: порушення свідомості (кома легкого ступеня), позитивні менингеальні знаки, зокрема помірні ригідність потиличних м'язів та двобічні симптоми Керніга, порушення функції тазових органів, а також значні вогнищеві симптоми: плегія лівої руки та глибокий парез лівої ноги, центральний парез м'язів обличчя та язика, порушення чут-

ливості зліва за гемітипом. Результати спинномозкової пункції виключили геморагічний характер процесу та виявлене на КТ ішемічне вогнище в ділянці внутрішньої капсули справа наступної доби верифікували ішемічний інсульт. Дослідження рівень прозапальних цитокінів ІЛ-6, ФНП-альфа та протизапального ІЛ-4, що визначили в сироватці крові в першу добу після інсульту дали наступну інформацію: вміст ІЛ-6 - 215,6 пг/мл, ФНП-альфа - 80,9 пг/мл, ІЛ-4 - 48,4 пг/мл.

На 3 добу значно покращився стан хворої - регресували розлади свідомості, порушення сечовипускання, зникли менингеальні симптоми, з'явилися рухи в лівій кисті. Але незважаючи на активну відновлювальну терапію спостерігалось незадовільне відновлення неврологічних функцій до кінця гострого періоду: хвора була виписана на 25 добу з глибоким центральним лівобічним геміпарезом.

В клініці Неврологічного центру Центральної міської клінічної лікарні та ЦРЛ №7 за період 2001-2004 було обстежено 152 хворих запропонованим способом. Отримані наступні безпосередні результати: можливість прогнозувати погіршення неврологічного стану в гострому періоді в 92% та прогнозування виходу ішемічного інсульту (зокрема незадовільного відновлення неврологічних функцій) в 93% випадків.

Таким чином, запропонований спосіб дозволив прогнозувати погіршення неврологічного стану хворого в гострому періоді та вихід інсульту, зокрема незадовільне відновлення неврологічних функцій в гострому періоді. Це сприяє застосуванню диференційованої терапії, а відтак покращенню ефективності лікування, зниженню рівня інвалідності та ранньої смертності.

#### Література

1. Iadecola C, Alexander M. Cerebral ischemia and inflammation. // *Curr Opin Neurol.* - 2001. - V. 14. - N. 1. - p. 89-94.
2. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. - М.: Медицина 2001-328с.
3. Скворцова В.И., Насонов Е.Л., Журавлева Е.Ю. и соавт. Клинико-иммунобиохимический мониторинг факторов локального воспаления в остром периоде полушарного ишемического инсульта. // *Журн. неврол. и психиатр.* - 1999. - №5. - стр 27-31.
4. Vila N, Castillo J, Davalos A, Chamorro A. Proinflammatory cytokines and early neurological worsening in ischemic stroke. // *Stroke.* - 2000. - V. 31. - N.10. - p. 2325-9.

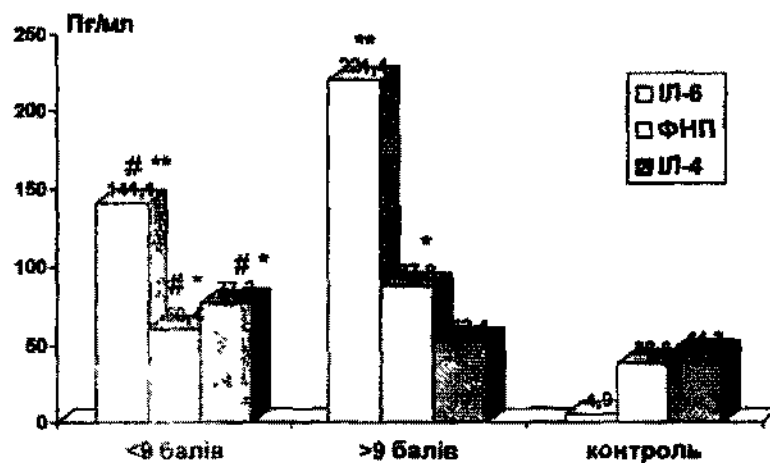


Рис.1. Концентрація інтерлейкінів у крові хворих в першу добу після ішемічного інсульту залежно від ступеню відновлення неврологічного дефіциту на 21 добу.

\*  $p < 0.05$  порівняно з хворими, що неврологічних функцій (> 9 балів)

\*  $p < 0.05$  порівняно з контролем

\*\*  $p < 0.01$  порівняно з контролем