

Veren sytokiinipitoisuudet potilailla, joilla epäillään
sydänperäistä akuuttia aivoverenkiertohäiriötä

Korhonen, Miika Markus Tapio
Syventävien opintojen tutkielma
Lääketieteen laitos
Itä-Suomen yliopisto
elokuu 2013
Ohjaajat: Pekka Jäkälä, Petri Sipola,
Ritva Vanninen

Sisällysluettelo

1. Johdanto	2
1.1 Aivoverenkiertohäiriöiden epidemiologia ja syntyprosessi	2
1.2 Sytokiinit ja niiden vaikutusmekanismit	3
1.2.1 Sytokiinien jaotteluperusteet	4
1.2.2 Sytokiinien vaikutus sydän- ja verisuonisairauksien synnyssä	5
1.3 Sytokiinien rooli iskeemisen AVH:n alkaessa ja iskeemisen AVH:n jälkeen	7
2. Metodiikka	8
2.1 Aineistot	8
2.1.1 Tutkimuspopulaatio	8
2.1.2 Sytokiinimittaukset	10
2.2 Tilastolliset menetelmät	10
2.2.1 Sytokiinien normaalijakautuminen	10
2.2.2 Demografisten tekijöiden assosiaatio sytokiinipitoisuuksiin	10
2.2.3 Akuuttivaiheen sytokiinipitoisuuksien korrelaatio taustatekijöihin	11
2.2.4 Akuuttivaiheen sytokiinipitoisuuksien yhteys infarktin mitattavuuteen ja kokoon	11
2.2.5 Ryhmien välisten sytokiinipitoisuuksien vertailu	12
2.2.6 Sytokiinipitoisuuksien ja neurologisen kunnon välinen suhde	12
3. Tulokset	13
3.1 Demografiset erot ryhmien välillä	13
3.2 Ryhmien sisäiset korrelaatiot demografisiin tekijöihin	13
3.3 Akuuttivaiheen AVH-potilaiden sytokiinipitoisuuksien korrelaatioita	14
3.4 Akuuttivaiheen AVH-potilaiden ja verrokkien sytokiinipitoisuuksien vertailu	16
3.5 Akuuttivaiheen AVH-potilaiden infarkti- ja TIA-potilaiden sytokiinipitoisuuksien vertailu	18
3.6 Akuuttivaiheen AVH-potilaiden sytokiinipitoisuuksien suhde neurologiseen ennusteeseen	19
3.7 Akuuttivaiheen ja stabiilivaiheen AVH-potilaiden sytokiinipitoisuuksien vertailu	19
3.8 Stabiilivaiheen AVH-potilaiden ja verrokkien sytokiinipitoisuuksien vertailu	21
4. Pohdinta ja yhteenveto	24
Kirjallisuuslähteet	27

1. Johdanto

Tässä opinnäytetyössä käsitellään sytokiinejä, niiden vaikutusmekanismeja ihmiselimestössä ja mahdollista yhteyttä iskeemisiin aivohalvauksiin. Lisäksi esitellään tutkimustuloksia sytokiinipitoisuuksien muutoksista sydänperäisten aivoverenkiertohäiriöiden (AVH) yhteydessä. Vertailukohtana käytetään potilaiden omia arvoja kolme kuukautta AVH:n jälkeen sekä terveiltä verrokeilta kerättyjä arvoja.

1.1 Aivoverenkiertohäiriöiden epidemiologia ja syntyprosessi

Aivohalvaukseen sairastuu Suomessa vuosittain noin 14000 ihmistä, joista noin 4500 henkeä kuolee. Lisäksi noin 4000 henkilöä jää vaikeasti vammautuneeksi aivohalvauksen seurauksena. Aivoverenkiertohäiriöt aiheuttavat suurta inhimillistä kärsimystä potilaille ja heidän omaisilleen sekä aiheuttavat suuria kustannuksia terveydenhuollolle. Koska suurin osa aivohalvauspotilaista on yli 65-vuotiaita, väestön ikääntymisen myötä aivoverenkiertohäiriöiden ilmaantuvuuden arvioidaan kasvavan seuraavan kymmenen vuoden aikana jopa 50%. Maailmanlaajuisesti aivoverenkierron häiriöt ovat toiseksi yleisin ja Suomessa neljänneksi yleisin kuolinsyy.^{1,2,3}

Aivoverenkiertohäiriö aiheutuu aivovaltimossa olevasta tukoksesta tai aivovaltimon vuotamisesta joko lukinkalvon alle tai suoraan aivokudokseen. Häiriön vuoksi aivokudosta alkaa tuhoutua nopeasti. Oireina ovat muun muassa toispuoleinen raajahalvaus ja tunnettomuus, puhevaikeudet, näkökenttäpuutokset, kasvohermon alahaaran heikkous ja muut neurologiset oireet riippuen häiriön sijainnista. Oireet ilmenevät useimmiten äkillisesti muutamien minuuttien aikana eli kyseessä on akuutti AVH.³

Tukosperäisessä aivohalvauksessa on tyypillisesti kyse verihyytymästä eli trombista, joka on alunperin sijainnut muualla verenkierrossa, kuroutunut ainakin osittain irti muodostaen embolisatorisen partikkelin ja kiilautunut lopulta aivovaltimoon. Tulpan seurauksena aivoihin kehittyi nopeasti hapenpuute eli iskeeminen tila, jonka seurauksena kudokseen syntyi kuolio eli infarkti. Aivoverenkiertohäiriöistä arviolta 80% on luonteeltaan iskeemisiä aivo-

farkteja. Iskeeminen AVH voi olla myös ohimenevä eli niin sanottu TIA-kohtaus (Transient Ischemic Attack).^{2,3}

Niin sanotussa TOAST-luokituksessa aivoinfarktit on jaoteltu viiteen etiologiseen kategoriiaan: suurten suonten ateroskleroosipohjaiseen emboliaan tai tromboosiin (40-60%), sydänperäiseen emboliaan (15-25%), pienten suonten tukokseen (20-35%), muuhun osoitettuun etiologiaan ja epäselvään etiologiaan. Aivoinfarktin merkittävin aiheuttaja on siten embolisatorinen aivoinfarkti. Embolia voi aiheutua ateroskleroosin muodostaman suoniah-
tauman komplikaationa tai kardiogeenisestä syystä, jolloin embolian taustalla on yleensä eteisvärinä, tuore sydäninfarkti tai sydänleikkaus.¹

Vuotoperäiset aivohalvaukset ovat aivoinfarktiperäisiä selvästi harvinaisempia (noin 20% kaikista aivohalvauksista) ja niissä halvausoireet kehittyvät yleensä hitaammin.³

1.2 Sytokiinit ja niiden vaikutusmekanismit

Sytokiinit (kreik. *cyto-*, solu; *-kinos*, liike) ovat pieniä 8-40 kDa kokoisia proteiiniirakenteita, jotka ylläpitävät elimistön homeostasiasa ja vastaavat puolustusreaktiosta infektioita vastaan. Vaikka sytokiinit toimivat signaalinvälitystehtävissä, niitä ei kuitenkaan luokitella hormoneiksi. Hormonit erittyvät ainoastaan hormonispesifisestä kudoksesta, kun taas sytokiinit erittyvät lähes kaikista tumallisista soluista. Puolustustehtävänsä vuoksi merkittävimpinä sytokiinilähteinä ovat valkosolut ja erityisesti makrofagit.⁴ Monosyyttien ja makrofagien erittämiä sytokiineja kutsutaan yleisesti monokiineiksi, T-solujen erittämiä sytokiineja lymfokiineiksi ja rasvasolujen erittämiä adipokiineiksi. Kemokiineiksi kutsutaan kemotaktisia sytokiineja, joiden toimintaan on liitetty muun muassa valkosolujen houkuttelu kudoksiin.⁵

Sytokiinit eivät erityy elimistössä säännöllisesti vaan vasteena soluun kohdistuvalle stressille, jolloin esimerkiksi JAKT- tai MAPK-signaalivälitystie käynnistää sytokiinigeenien transkription.^{4,6} Stressi voi tarkoittaa esimerkiksi vieraan partikkelin kiinnittymistä solun pintaan tai soluun kohdistuvaa UV-säteilyä. Toisin kuin useimmat hormonit sytokiinit eivät erityy rauhasrakenteiden välityksellä.⁴ Sytokiinien erittyminen voi kuitenkin olla moninaista: solua

itseään stimuloivaa eli autokriinistä (esimerkiksi syöpäsolujen erittämät kasvutekijät)⁷, parakriinista (kuten eri elinkerrosten välinen kommunikointi)⁸ tai endokriinistä (sytokiiniin erittyminen vereen muun muassa kuumeen nousun yhteydessä).⁹

1.2.1 Sytokiiniinien jaotteluperusteet

Sytokiinit jaetaan tyypillisesti samankaltaista toiminnallisuutta kuvaaviin ryhmiin: interferoneihin (IFN), interleukiineihin (IL), tuumorinekroositekijöihin (TNF) ja kasvutekijöihin. Interferonit liittyvät pääasiassa virusten kasvun ehkäisyyn ja syöpäsolujen aktivaatioon. Interleukiinit ovat laaja (IL-1 - IL-35) ja monipuolisesti toimiva sytokiiniiryhmä, ja vaikka nimi viittaakin leukosyyttien väliseen toimintaan, niitä erittyy nykytiedon mukaan myös muista soluista. TNF-ryhmän sytokiiniin toiminnalla on todettu inflammaatiota edistävän vaikutuksen lisäksi myös vaikutus sekä apoptoosiin että solunjakautumiseen.¹⁰ Kasvutekijät, esimerkiksi EPO ja FGF, ovat nimensä mukaisesti edistämässä spesifisesti solujen kasvua ja erilaistumista.⁶

Sytokiinit voidaan jaotella edelleen myös toiminnallisuuden tai rakenteen mukaan. Rakenteellinen jaottelu perustuu proteiiniin sekundaärrakenteeseen (alfa-heliksi, beta-laskos tai alfa+beta-rakenne), joista alfa-ryhmä voidaan edelleen jakaa IFN- ja IL-2-aryhmiin ja beta-ryhmä IL-1- ja TNF-aryhmiin.¹¹ Toiminnallinen jaottelu taas perustuu kyseisen sytokiiniin vaikutukseen tulehdusreaktion etenemisessä: proinflammatoriset sytokiinit edistävät ja anti-inflammatoriset sytokiinit estävät tulehdusta. Proinflammatoristen sytokiiniin, kuten IL-1, TNF-alfa ja kemokiinit, vaikutuksesta tiettyjen entsyymien geeniluentaan lisääntyy, mikä seuraksena varsinaiset tulehdusreaktioon vaikuttavat tekijät syntyvät. Näitä ovat esimerkiksi valkosoluja aktivoiva tekijä (PAF), prostanoidit, leukotrieenit ja typpioksidi. Anti-inflammatoriset sytokiinit pyrkivät estämään, tai ainakin vaimentamaan, edellä kuvattua inflammatorista kaskaadia vähentämällä proinflammatoristen sytokiiniin tai vaskulaaristen adheesiomolekyylien tuotantoa.⁴ Näin toimii esimerkiksi adipokiiniin adiponektiini (APN), joka vaikuttaa typpioksidin erittymisen lisääntymiseen ja siten vähentää verisuonten supistustilaa.¹² Joidenkin sytokiiniin kohdalla toiminnallinen luokittelu on kuitenkin vaikeaa, koska niillä on samanaikaisesti sekä inflammaatiota edistävä vaikutus (aktivoivat lym-

fosyyttejä) että inflammaatiota inhihoiva vaikutus (estävät tiettyjä proinflammatoorisia sytokiineja). Tällaisia ovat muun muassa IL-4, IL-6, IL-10, IL-13 ja interferonit.

1.2.2 Sytokiinien vaikutus sydän- ja verisuonisairauksien synnyssä

Sytokiinieritys aktivoituu elimistön kaikkien tulehdusreaktioiden yhteydessä. Myös ateroskleroosissa on todettavissa inflammaatiota ja näin ollen myös sytokiiniaktiivisuuden muutoksia. Sytokiinit ovat samalla myös välittäjäaineina sydän- ja verisuonisairauksien syntyprosessissa edistäen ateroomien ja trombien muodostumista.^{2,6}

Verisuonten reaktio tulehdukseen

Terve endoteeli sisältää hyytymistekijöitä estävän heparaanisulfaattikerroksen, jolloin veren hyytyminen ei käynnisty spontaanisti. Tulehdustilanteessa tämä suojakerros on vaurioitunut, minkä seurauksena trombosyytit tarttuvat sekä endoteelin pintaan että toisiinsa von Willebrandin tekijän vaikutuksesta. Adhesoituminen aktivoi trombosyytit erittämään hyytymistekijöitä, ja monivaiheisen hyytymiskaskaadin seurauksena syntyy lopulta fibriniverkko, johon tulehdussolut ja muu tulehdusmateria tarttuu. Endoteelin pintaan on näin kehittynyt suojaksi verihyytymä.²

Sytokiinit ja ateroskleroosi

Ateroskleroosissa ravinnosta saatu liiallinen kolesteroli tunkeutuu verisuonen intimakkerokseen eikä pääse enää takaisin verenkiertoon kuljetusproteiinien puuttuessa tai hapeituksen seurauksena.² Tällöin kemokiineihin kuuluva MCP-1 houkuttelee makrofageja ja muita puolustusjärjestelmän soluja paikalle käynnistäen tulehdusreaktion.¹³ Makrofagit alkavat fagosytoida kolesterolia ja muuttuvat sen seurauksena rasvan täyttämiksi vaahtosoluiksi. Vaahtosoluiksi muuntuneet makrofagit alkavat hiljalleen kerryttää lipidipohjaista ateroomaa endoteelin alapuolelle. Aterooma koostuukin pääasiassa makrofageista, fibrinistä, kolesterolista ja rasvahapoista.² Ateroomista on löydetty myös runsaasti MCP-1- ja IL-8-kemokiineja sekä IL-18:aa, joka on liitetty erityisesti epästabiileihin ateroskleroottisiin plakkeihin.^{6,14,15} Lisäksi hiirille tehdyissä kokeissa sytokiinien yhteys ateroskleroottiseen syntyprosessiin on vahvistettu.¹⁵

Ateromaattisessa tai muutoin tulehtuneessa intima-kerroksessa makrofagit erittävät tiettyjä sytokiineja, TNF-alfa ja IL-1:stä, aktivoiden näin IL-6-tuotannon. IL-6 puolestaan ekspressoi tulehduksen etenemistä stimuloivaa kudostekijää sekä lisää CRP:n tuotantoa ja mahdollisten ateroomaplakkien epästabiilisuutta. Näin tulehduskierre verisuonen seinämassassa jatkuu ja todennäköisyys plakkien repeämiseksi lisääntyy.² Koska sytokiinit ovat mukana ateroskleroosin synnyssä, niillä on näin myös rooli AVH:n syntymekanismissa.

Sytokiinit ja trombogeneesi

Ateroskleroosin aikaansaama aterooma voi revetessään muodostaa verisuonta ahtauttavan trombin eli patologisen verihyytymän. Kohonneen CRP-pitoisuuden seurauksena myös endoteelin tyvikalvoa tuhoavan matriksin metalloproteinaasituotanto lisääntyy. Näin syntyy vaurio aterooman sidekudokselliseen kattoon, mikä voi johtaa plakin pintavaurioon, veren trombosyyttien sekä punasolujen adheroitumiseen ja siten trombin muodostumiseen.² Myös TNF-alfa on yhdistetty ateroskleroottisten rasvajuosteiden repeämiseen, koska se edistää makrofagien indusoimaa vaskulaarisen sileälihassolun apoptoosia.¹⁵

Ateromatoottisen vaurion lisäksi trombi voi syntyä myös suoraan esimerkiksi trauman seurauksena. Sydämessä trombin muodostuminen erityisesti vasempaan kammioon on yksi yleisimmistä sydäninfarktin aiheuttamista komplikaatioista.¹⁶ Arvellaan, että tulehdussolujen ja fibroblastien määrä kudoksessa edesauttaa trombin syntymistä. Tromboosin merkittävä syy on sydämen veren virtauksen hidastuminen, mutta myös vaurio endokardiumissa, sytokiinierytyksessä tapahtuvat muutokset ja hyytymisjärjestelmän aktivoituminen ovat myös kontribuoivia tekijöitä. Trombi onkin tyypillinen eteisvärinän seuraus.¹⁷

Edellä kuvatun kaltainen prosessi johtaa lopulta esimerkiksi sepelvaltimotaudissa akuutin sepelvaltimotukoksen syntyyn ja sydäninfarktiin. Sytokiinien varhainen yhteys iskeemisten aivohalvausten syntyyn selittyy näin ollen niiden aikaansaaman kroonistuneen tulehdusreaktion kautta. Tämä altistaa verisuonet patologiselle trombogeneesille tai jatkuvalla supistustilalle. Tällöin osittain tai kokonaan liikkeelle lähtevä trombi voi juuttua lopulta aivovaltimoon.

Sytokiinit, hypertensio ja MBO

Myös hypertension taustalta on löydetty yhteys sytokiineihin: IL-6-, TNF-alfa- ja IL-1beeta-pitoisuudet ovat hypertensiossa nousseet kardiovaskulaarisia toimintoja säätelevillä aivoalueilla lisäten sympaattista vastetta ja vaikuttaneet siten systeemisen verenpaineen nousumiseen. Tämän lisäksi metabolisessa oireyhtymässä (MBO) on todettu verisuonia laajentavan typpioksidin erityksen vähenemistä, mikä on seurausta anti-inflammatooristen adipokiinien (adiponektiini, IL-10) geeniluennan laantumisen seurauksena. Tämä johtuu hypertrofisen perivaskulaarisen rasvan lisääntymisestä, mikä aiheuttaa puolustavien adipokiinien vasta-vaikuttajien, proinflammatooristen adipokiinien (TNF-alfa, IL-6) hypersekreetiota. Näin kokonaisverenpaine kasvaa MBO:sta kärsivillä henkilöillä verisuonten ollessa jatkuvassa tulehdustilassa.¹²

1.3 Sytokiinien rooli iskeemisen AVH:n alkaessa ja iskeemisen AVH:n jälkeen

Iskeemisen AVH:n aikana aivoihin kehittyvä iskeeminen tila synnyttää inflammatoorisen vasteen. Tutkittaessa eri inflammaatiomarkkereita suurimmalla osalla iskeemisistä aivohalvauspotilaista IL-1beeta-, IL-6-, IL-8- ja TNF-alfa-pitoisuudet on todettu olevan koholla sekä plasmasta että selkäydinnesteestä mitattuna.^{18,19} Edellä mainituista sytokiineista IL-6 on selvästi tutkituin, koska se on iskeemisen aivohalvauksen tulehdusmekanismin yksi päätekijöistä. IL-6:n lähde iskeemisten aivohalvausten yhteydessä on itse aivokudos: varsinaiset neuronit ja veri-aivoesteessä sijaitsevat astrosyytit. Tämä on vahvistettu toteamalla IL-6-pitoisuuden olevan yhteydessä infarktin kokoon sekä mittaamalla suuremmat IL-6-pitoisuudet selkäydinnesteestä kuin plasmasta.¹⁹

Iskeemistä AVH:ta edeltävässä tilanteessa on teoriassa mahdollista tehdä havaintoja muutoksista sytokiinipitoisuuksissa. Määrittelyn apuna on käytetty muun muassa CDM (Clinical Diffusion Mismatch)-tilaa, joka kuvastaa iskeemistä aivokudosta juuri ennen infarktin puhkeamista. Tutkimustulosten mukaan sytokiineista IL-10- ja TNF-alfa-seerumpitoisuudet olivat normaalia korkeammat ja IL-6-pitoisuus vastaavasti normaalia matalampi CDM:ssä.²⁰ Kliinisessä mielessä tämä mahdollistaisi teoriassa infarktivaaran tunnistamisen ajoissa ja

iskeemisen aivokudoksen pelastamisen, mikäli potilas olisi valmiiksi sairaalassa ennen ensimmäisten oireiden ilmenemistä.

Sytokiineilla on myös yhteys iskeemisen aivohalvauksen jälkeiseen tilaan. Korkea IL-6-pitoisuus viestii tutkimusten mukaan aikaisemmasta neurologisesta heikkenemisestä ja siten huonommasta toiminnallisesta lopputuloksesta potilaan kohdalla. Erityisesti ensimmäisen aivoinfarktin jälkeisen korkean IL-6-sytokiinipitoisuuden on todettu ennustavan huonoa neurologista ennustetta.²¹ Yleisestikin ottaen poikkeavat sytokiinipitoisuudet on yhdistetty kognitiivisiin häiriöihin kuten dementiaan, jonka yksi yleinen syy onkin aivoverenkiertohäiriö. Tutkimuksissa dementiapotilailta on mitattu korkeammat sytokiinipitoisuudet ainakin IL-1beeta:n, IL-6:n ja IL-10:n osalta.¹⁸

2. Metodiikka

2.1 Aineistot

2.1.1 Tutkimuspopulaatio

Akuuttivaiheen aivoinfarkti-/TIA-potilaiden (AVH-potilaiden) valinta

Opinnäytetyössä käytetty tutkimusaineisto on kerätty Pohjois-Savon sairaanhoitopiirin alueelta Embodetect-tutkimuksen yhteydessä vuosien 2005 ja 2009 välisenä aikana. Embodetect-tutkimukseen otettiin akuuttia iskeemistä aivoverenkiertohäiriötä sairastavia potilaita, jotka olivat yli 50-vuoden ikä ja joilla oli epäily sydänperäisen aivoverenkiertohäiriön sairastamisesta. Lisäksi tutkimukseen otettiin kaikki alle 50-vuotiaat infarktipotilaat. Kardiogeenista emboliaa epäiltiin, jos potilaalla oli todennäköinen sydänsairaus ja jos oireet sekä löydökset viittasivat emboliaan. Sydänsairauksiksi laskettiin rytmihäiriöt, vasemman kammion dilataatio tai aneurysma, eteisseptumin aneurysma, eteismyksooma, kalkkinen aorttastenoosi, mitraaliläppäprolapsi ja endokardiitti. Tutkimuksesta poissuljettiin hyvin huonokuntoiset potilaat ja potilaat, joilla oli aiemmin tullut jodi-varjoaineen antamisen yhteydessä vakava varjoainereaktio. Myös naiset, joilla tutkimuspäivänä veren kreatiniiniarvo oli yli 120 $\mu\text{mol/l}$, ja miehet, joilla vastaava arvo oli yli 140 $\mu\text{mol/l}$, suljettiin pois tutkimuk-

sesta. Näillä kriteereillä muodostui lopulta 151 henkilön akuuttivaiheen AVH-potilaiden populaatio.

Stabiilivaiheen AVH-potilaat

Stabiilivaiheen AVH-potilaspopulaatio (n = 72) muodostui akuuttivaiheen AVH-potilaista, joiden sytokiinipitoisuus mitattiin kontrollikäynnin yhteydessä noin kolmen kuukauden kulluttua akuutin vaiheen alkamisesta.

Verrokkit

Verrokkipotilaat (n = 65) muodostuivat KYS:n kliinisen radiologian osaston diagnostiseen koronaariangiografiaan tulevista potilaista. Potilailla oli epäily sepelvaltimotaudista, mutta tutkimusten perusteella heillä ei todettu yli 50 % ahtaumia sepelvaltimoissa eikä epäselektiivisessä aorttaruiskutuksessa yli 50 % ahtaumia kaulavaltimoissa.

Lopullisen tutkimuspopulaation muodostivat näin 151 akuuttivaiheen AVH-potilasta, 72 stabiilivaiheen AVH-potilasta ja 65 verrokkipotilasta. Demografisista muuttujista jokaisesta ryhmästä oli tiedossa ikä ja sukupuoli. Näiden merkittävyyttä ryhmien välillä verrattiin, jotta tuloksiin mahdollista epätarkkuutta aiheuttavat tekijät voitaisiin huomioida. Akuuttivaiheen AVH-potilaiden keski-ikä oli 61 vuotta, stabiilivaiheen AVH-potilaiden 60 vuotta ja verrokkiryhmän 56 vuotta. Jokaisen kolmen tutkimusryhmän ikäjakaumat olivat normaali-jakautuneita. Ryhmien sukupuolijakaumat on esitetty **Taulukko 1**.

Taulukko 1

Tutkimusryhmien sukupuolijakauma ja potilaiden lukumäärä

		Sukupuoli		Yhteensä
		naisia	miehiä	
Akuuttivaiheen AVH-potilaat	N (%)	49 (32.5%)	102 (67.5%)	151
Stabiilivaiheen AVH-potilaat	N (%)	26 (36,1%)	46 (63,9%)	72
Verrokkit	N (%)	45 (69.2%)	20 (30.8%)	65

2.1.2 Sytokiinimittaukset

Kaikilta tutkittavilta muodostettiin sytokiinipeili mittaamalla sytokiinit IL-10, IL-6, IL-18, TNF-alfa, IL-1ra ja IL-1 beeta. Lisäksi mitattiin tulehdukseen herkästi reagoiva hs-CRP. Verrokkiryhmän potilailta mitattiin vastaavat arvot ja samalla sairaalakäynnillä selvitetiin angiografialla, ettei potilailla ole sepelvaltimoissa tai kaulasuonissa merkittäviä aterosklerootisia muutoksia. Verrokkipotilailta sytokiinipeili muodostettiin ainoastaan kerran, mutta aivoinfarktipotilailta arvot mitattiin sekä akuutissa että stabiilissa vaiheessa. Stabiili vaihe määriteltiin noin kolmen kuukauden päähän akuutista vaiheesta, jolloin potilaat kutsuttiin poliklinikkakäynnille. Akuutin ja stabiilivaiheen sytokiinipitoisuuksia verrattiin sekä verrokkipotilaiden sytokiinipitoisuuksiin että toisiinsa, jolloin potilaat toimivat itsensä verrokkeina.

2.2 Tilastolliset menetelmät

Tilastollista analyysiä varten saadut potilastiedot syötettiin SPSS-tilastointiohjelmaan. Analyysistä riippumatta tilastollisen merkittävyyden raja-arvoja pidettiin $p = 0,05$, ja vastaavasti tulos oli erittäin merkittävä mikäli $p < 0,001$.

2.2.1 Sytokiinien normaalijakautuminen

Kunkin tutkimusryhmän sytokiinipitoisuuksien vinous (skewness)- ja huipukkuus (Kurtosis) -parametrit tutkittiin normaaliuden selvittämiseksi. Ollakseen normaalijakautunut parametrien arvojen tuli sijoittua välille ± 2 . Mahdollisissa rajatapauksissa katsottiin myös Shapiro-Wilk -testin merkittävyyssparametria, jonka raja-arvoksi määritettiin 0,05. Tätä suuremmat arvot viittaisivat normaalijakautuneeseen otokseen. Näiden tulosten pohjalta todettiin akuutin ja stabiilin vaiheen AVH-potilasryhmän sytokiiniarvojen sekä verrokkien sytokiiniarvojen ei-normaalijakautuneiksi.

2.2.2 Demografisten tekijöiden assosiaatio sytokiinipitoisuuksiin

Demografisten tekijöiden, iän ja sukupuolen, analyysissä sukupuolijakauman eroja ryhmien välillä (akuuttivaihe-stabiilivaihe, akuuttivaihe-verrokki, stabiilivaihe-verrokki) arvioitiin

luokkamuuttujapohjaisella Chi-Square-testillä ja vastaavasti ikäjakauman merkittävyyttä Mann-Whitney U -analyysillä. Riippumattomien otosten T-testiä käytettiin tutkittaessa sukupuolen merkittävyyttä suhteessa sytokiiniarvoihin kunkin ryhmän sisällä, mutta iän kohdalla käytettiin Spearmanin korrelaatiota, koska sytokiinipitoisuudet eivät olleet normaali-jakautuneita.

Koska ryhmän sisäisissä korrelaatiotesteissä tiettyjen sytokiinien ja demografisten tekijöiden välillä ilmeni assosiaatioita, tuli kyseisen demografisen tekijän osuus poistaa. Mikäli vertailtavana olivat toisistaan riippumattomat ryhmät, käytettiin vertailussa hyväksi ANCOVA-analyysiä. Vastaavasti toisistaan riippuvien ryhmien kohdalla käytettiin lineaarista sekamallia. Molempien analyysin käyttämisen ehtona oli kuitenkin algoritmin jäännösluvun normaajakautuminen, jonka tarkastaminen tehtiin histogrammien avulla. Tarvittaessa sytokiinipitoisuudelle tuli tehdä logaritimuunnos jäännösluvun normaalijakautumisen saavuttamiseksi ja osalle sytokiineistä logaritimuunnos jouduttiin tekemään kahdesti. Logaritmit pitoisuudet todettiin noudattavan normaalijakaumaa riittävän hyvin analyysien tekemiseksi.

2.2.3 Akuuttivaiheen sytokiinipitoisuuksien korrelaatio taustatekijöihin

Akuuttivaiheen AVH-potilaiden sytokiinipitoisuuksien ja eri taustatekijöiden välisen merkittävyyden selvittämiseksi käytettiin joko Spearmanin korrelaatiota tai riippumattomien tekijöiden T-testiä riippuen siitä, oliko taustatekijä luokkapohjainen muuttuja vai ei. Tutkittavia taustatekijöitä olivat verenpainetauti, diabetes, tupakointi ja BMI. Diabetesta ei eritelty tyyppiin 1 ja tyyppiin 2 diabetekseen assosiaatioita laskettaessa, joten sitä käsiteltiin luokkapohjaisena muuttujana.

2.2.4 Akuuttivaiheen sytokiinipitoisuuksien yhteys infarktin mitattavuuteen ja koon

Tutkittaessa akuuttivaiheen AVH-potilaiden sytokiiniarvojen korrelaatiota suhteessa infarktin tilavuuteen havaittiin tutkimustuloksen olevan voimakkaasti kahtiajakautunut mitattaviin ja ei-mitattavissa oleviin infarkteihin. Infarktin mitattavuus kuvastaa sitä, onko infarktin

laajuus mitattavissa pään tietokonegrafian avulla noin yhden päivän jälkeen aivoverenkier-
tohäiriön alkamisesta. Näin ollen analyysi suhteessa sytokiiniipitoisuuksiin jaettiin kahteen
vaiheeseen. Ensimmäisessä vaiheessa tutkittiin sytokiiniipitoisuuksien mahdollinen yhteys
infarktin mitattavuuteen riippumattomien tekijöiden T-testin avulla. Toisessa vaiheessa
suljettiin analyysistä pois ei-mitattavissa olevat tapaukset ja tutkittiin sytokiiniipitoi-
suuksien sekä infarktin koon välistä korrelaatiota infarktin koon ollessa jatkuva muuttuja.
Analyysimenetelmänä käytettiin Spearmanin korrelaatiota.

2.2.5 Ryhmien välisten sytokiiniipitoisuuksien vertailu

Akuuttivaiheen AVH-potilaiden ja verrokkien välisiä sytokiiniipitoisuuksia vertailtiin tämän
jälkeen Mann-Whitney U -analyysillä, koska otokset olivat toisistaan riippumattomia. Vaih-
toehtoisesti käytettiin ANCOVA-analyysiä, mikäli kyseisen sytokiinin kohdalla oli merkittävä
demografinen assosiaatio. Tulosten merkittävyyttä arvioitiin kaksisuuntaisen merkittä-
vyysarvon (exact sig. 2-tailed) avulla, koska sytokiiniipitoisuudet saattoivat joko nousta tai
laskea ryhmien välillä. Samoja menetelmiä samoin perustein käytettiin stabiilivaiheen AVH-
potilaiden ja verrokkien välisissä sytokiiniivertailuissa.

Akuuttivaiheen AVH-potilaiden ja stabiilivaiheen AVH-potilaiden välisiä sytokiiniipitoisuuksia
verrattaessa käytettiin vastaavasti joko lineaarista sekamallia tai Wilcoxonin analyysi-
menetelmää, koska kyse oli kahden toisistaan riippuvan testiaineiston vertailusta. Tässä-
kään tapauksessa pitoisuusmuutosten suunta ei ollut ennakoitavissa, joten tulosten mer-
kittävyyttä arvioitiin kaksisuuntaisen merkittävyydsarvon avulla.

2.2.6 Sytokiiniipitoisuuksien ja neurologisen kunnon välinen suhde

Neurologisen kunnon arviomiseksi potilaat oli pisteytetty Rankin- ja Barthell-
pisteytysmetodeilla sekä akuutissa että stabiilissa vaiheessa. Lisäksi potilaiden stabiilin ja
akuutin vaiheen väliset pistemuutokset laskettiin. Pistemuutosten jakaumat osoittautuivat
epäjatkuviksi, joten ne muutettiin kaksiluokkaisiksi muuttujiksi neurologisen kunnon ko-
hentumisen perusteella. Rankin-metodia käytettäessä neurologinen kunto katsottiin koh-
tentuneen, jos pistemuutos oli negatiivinen, ja Barthellin metodissa pistemuutos tuli vas-

taavasti olla suurempi kuin nolla. Merkittävyyttä akuutin vaiheen sytokiinipitoisuuksien ja pisteytysmuutosten välillä analysoitiin tämän jälkeen riippumattoman T-testin avulla. Tilastollisesti merkittävien yhteyksien osalta korrelaation suunta selvitettiin käyttämällä Spearmanin korrelaatiomenetelmää suhteessa alkuperäiseen, luokittelemattomaan pistemuutokseen.

3. Tulokset

3.1 Demografiset erot ryhmien välillä

Akuuttivaiheen AVH-potilaista miehiä oli 102 (67,5%) ja verrokeista vastaavasti 20 (30,8%). Ryhmien välisen sukupuolijakauman ero oli testien perusteella tilastollisesti merkittävä ($p < 0,001$). Samaan johtopäätökseen päädyttiin myös ikäjakauman osalta ($p = 0,001$), jossa akuuttivaiheen AVH-potilaiden keskiarvo oli 61 ± 11 vuotta ja verrokkien 56 ± 8 vuotta.

Stabiilivaiheen AVH-potilaista miehiä oli 46 (63,9%), ja sukupuolijakauman ero suhteessa verrokkeihin havaittiin erittäin merkittäväksi ($p < 0,001$). Iän keskiarvo stabiilivaiheen AVH-potilailla oli 60 ± 12 vuotta, ja ikäjakauman ero suhteessa verrokkeihin oli merkittävä ($p = 0,015$).

3.2 Ryhmien sisäiset korrelaatiot demografisiin tekijöihin

Testitulokset on esitetty kokonaisuudessaan taulukossa 2. Akuuttivaiheen AVH-potilailla iällä havaittiin olevan heikko, positiivinen korrelaatio IL-6-, IL-10- ja TNF-alfa -pitoisuuksiin (IL-6: $r = 0,216$, $p = 0,008$; IL-10: $r = 0,161$, $p = 0,048$; TNF-alfa: $r = 0,199$, $p = 0,014$). Sukupuolen osalta assosiaatiota ei löytynyt. Stabiilivaiheen AVH-potilailla ainoastaan iän ja IL-18:n välillä havaittiin heikko, negatiivinen korrelaatio ($r = -0,256$, $p = 0,030$). Verrokkien kohdalla iän suhteen oli jälleen kohdalla heikko, positiivinen korrelaatio IL-6-pitoisuudessa ($r = 0,288$, $p = 0,020$). Sukupuolen osalta verrokkiryhmän sisällä havaittiin assosiaatio IL-1ra:n ja IL-18:n pitoisuuksien kohdalla. IL-1ra-keskiarvo oli naisilla 674 ± 1024 ja miehillä 311 ± 114 ($p = 0,031$). IL-18-keskiarvo oli naisilla 152 ± 80 ja miehillä 196 ± 100 ($p = 0,039$).

Taulukko 2

Mitattujen sytokiinipitoisuuksien merkittävyys (p-arvo) laskettu suhteessa ikään ja sukupuoleen kunkin tutkimusryhmän sisällä. Iän merkittävyys tutkittiin Spearmanin korrelaatiolla ja sukupuolen riippumattomien otosten T-testillä.

	Akuuttivaiheen AVH-potilaat		Stabiilivaiheen AVH-potilaat		Verrokkit	
	Ikä	sukupuoli	ikä	sukupuoli	Ikä	sukupuoli
IL-1beeta	0,536	0,447	0,890	0,363	0,751	0,758
IL-1ra	0,085	0,256	0,920	0,729	0,173	0,031 †
IL-6	0,008 ‡	0,441	0,073	0,455	0,020 †	0,225
IL-10	0,048 †	0,985	0,675	0,098	0,263	0,417
IL-18	0,532	0,286	0,030 †	0,542	0,902	0,039 †
TNF-alfa	0,014 †	0,190	0,597	0,449	0,562	0,334
hs-CRP	0,608	0,968	0,418	0,375	0,083	0,288

† P < 0,05
‡ P < 0,01
§ P < 0,001

3.3 Akuuttivaiheen AVH-potilaiden sytokiinipitoisuuksien korrelaatioita

Taulukossa 3 on esitetty akuutissa vaiheessa olevien potilaiden erilaisten taustatekijöiden ja sytokiinipitoisuuksien välinen assosiaatio. Merkittävimmät positiiviset korrelaatiot painoindeksin (BMI) kohdalla havaittiin IL-1ra:n ja hs-CRP:n osalta (IL-1ra: $r = 0,383$, $p < 0,001$; hs-CRP: $r = 0,217$, $p = 0,008$). Potilaan BMI:llä oli myös heikko positiivinen korrelaatio IL-6-pitoisuuteen ja heikko negatiivinen korrelaatio IL-10-pitoisuuksiin (IL-6: $r = 0,163$, $p = 0,046$; IL-10: $r = -0,180$, $p = 0,027$). Diabeteksen osalta pitoisuudet olivat merkittäviä IL-6:n ja TNF-alfan kohdalla. IL-6-keskiarvo diabeetikoilla oli $5,4 \pm 4,2$ ja ei-diabeetikoilla $3,4 \pm 5,8$ ($p = 0,003$). TNF-alfa-keskiarvo diabeetikoilla oli $1,9 \pm 0,8$ ja ei-diabeetikoilla $1,8 \pm 2,8$ ($p = 0,004$).

Taulukko 3

Akuutin vaiheen aivohalvauspotilaiden sytokiinipitoisuuksien assosiaatiot esitettynä eri taustatekijöiden suhteen. Verenpainetaudin ja BMI:n merkittävyys laskettiin Spearmanin korrelaatiolla, diabeteksen ja tupakoinnin riippumattomien muuttujien T-testillä.

	Verenpainetauti	Diabetes	Tupakointi *	BMI
IL-1beeta	0,622	0,956	0,218	0,683
IL-1ra	0,656	0,163	0,986	< 0,001 §
IL-6	0,144	0,003 ‡	0,241	0,046 †
IL-10	0,223	0,949	0,557	0,027 †
IL-18	0,913	0,250	0,762	0,073
TNF-alfa	0,111	0,004 ‡	0,384	0,278
hs-CRP	0,717	0,100	0,036 **	0,008 ‡

* n = 93

** n = 92

† P < 0,05

‡ P < 0,01

§ P < 0,001

Taulukossa 4 on esitetty merkittävyysarvot tuoreen aivoinfarktin mitattavuuden ja akuutin vaiheen sytokiinipitoisuuden välillä. Merkittävää yhteyttä ei havaittu. Lisäksi taulukossa 4 on infarktin koon ja sytokiinipitoisuuden välisen korrelaation merkittävyys. Tällöin TNF-alfa-pitoisuuden kohdalla havaittiin tilastollisesti merkittävä, negatiivinen korrelaatio ($r = -0,297$; $p = 0,008$).

Taulukko 4

Sytokiinipitoisuuksien ja infarktin koon tietokonetomografisen mitattavuuden välinen merkittävyys sekä sytokiinipitoisuuksien ja infarktin koon välisen korrelaation merkittävyys analysoituna akuuttivaiheen AVH-potilailta. Infarktin koon merkittävyys laskettiin Sparmanin korrelaatiolla ja infarktin mitattavuuden riippumattomien muuttujien T-testillä.

	Infarkti mitattavissa	Infarktin koko
IL-1beeta	0,490	0,745
IL-1ra	0,679	0,841
IL-6	0,229	0,235
IL-10	0,775	0,302
IL-18	0,866	0,079
TNF-alfa	0,286	0,008 †
hs-CRP	0,752	0,177

† P < 0,05
‡ P < 0,01
§ P < 0,001

3.4 Akuuttivaiheen AVH-potilaiden ja verrokkien sytokiinipitoisuuksien vertailu

Akuuttivaiheen AVH-potilaiden ja verrokkien sytokiinipitoisuudet on esitetty taulukossa 5. Merkittävimmät muutokset ryhmien välillä ilmenivät IL-6:n ja hs-CRP:n pitoisuuksissa. IL-6-pitoisuuskeskiarvo akuuttivaiheen AVH-potilailla oli $3,7 \pm 5,6$ ja verrokeilla $1,8 \pm 1,3$ ($p < 0,001$). Vastaavasti hs-CRP-pitoisuuskeskiarvo akuuttivaiheen AVH-potilailla oli $6,7 \pm 16,8$ ja verrokeilla $0,9 \pm 1,1$ ($p < 0,001$). Kuva 1 havainnollistaa IL-6-pitoisuuden muutosta ryhmien välillä.

Myös sytokiinien IL-1beeta, IL-18 ja TNF-alfa kohdalla havaittiin merkittävät pitoisuuserot ryhmien välillä. IL-1beeta:n keskiarvopitoisuus akuuttivaiheen AVH-potilailla oli $1,9 \pm 2,2$ ja verrokeilla $1,8 \pm 3,7$ ($p = 0,002$), IL-18:n keskiarvopitoisuus akuuttivaiheen AVH-potilailla oli 222 ± 118 ja verrokeilla 166 ± 88 ($p = 0,002$) sekä TNF-alfa:n keskiarvopitoisuus akuuttivaiheen AVH-potilailla oli $1,8 \pm 2,6$ ja verrokeilla $1,4 \pm 2,1$ ($p = 0,001$).

Taulukko 5

Sytokiinipitoisuuksien keskiarvot, vaihteluvälit sekä pitoisuuserojen merkittävyys akuuttivaiheen AVH-potilaiden (n=151) ja verrokkien (n=65) välillä. Merkittävyysarvo laskettiin IL-1ra:n, IL-6:n, IL-10:n, IL-18:n ja TNF-alfa:n tapauksessa ANCOVA-analyysillä ja muiden osalta Mann-Whitney U -testin avulla.

	Akuutit potilaat	Verrokkit	p-arvo
IL-1beeta	1,9 ± 2,2	1,8 ± 3,7	0,009 †
IL-1ra	588 ± 788	562 ± 868	0,533
IL-6	3,7 ± 5,6	1,8 ± 1,3	< 0,001 §
IL-10	3,4 ± 5,1	4,8 ± 10,1	0,178
IL-18	222 ± 118	166 ± 88	0,002 †
TNF-alfa	1,8 ± 2,6	1,4 ± 2,1	0,001 †
hs-CRP *	6,7 ± 16,8	0,9 ± 1,1	< 0,001 §

* Näyte mitattu 150 akuutilta potilaalta ja 64 verrokkipotilaalta

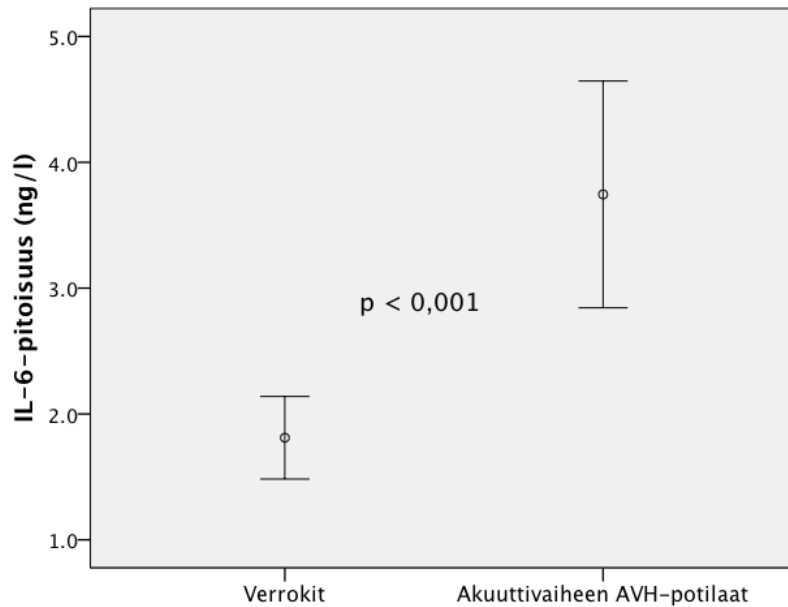
† P < 0,05

‡ P < 0,01

§ P < 0,001

Kuva 1

IL-6-pitoisuuskeskiarvot 95% luottamusvälillä akuuttivaiheen AVH-potilailla ja verrokkipotilailla



3.5 Akuuttivaiheen AVH-potilaiden infarkti- ja TIA-potilaiden sytokiinipitoisuuksien vertailu

Taulukossa 6 on eritelty akuuttivaiheen AVH-potilaiden TIA-kohtauksen (n = 110) ja aivoinfarktin (n = 39) saaneiden sytokiinipitoisuudet sekä näiden merkittävyys suhteessa verrokkipotilaisiin. Merkittävimmät erot aivoinfarkti- ja TIA-potilaiden välillä havaittiin IL-6:n, hs-CRP:n ja IL-18:n kohdalla: IL-6-pitoisuuskeskiarvo oli aivoinfarktipotilailla $4,1 \pm 6,2$ ja TIA-potilailla $2,6 \pm 3,5$ ($p = 0,022$), hs-CRP-pitoisuuskeskiarvo oli aivoinfarktipotilailla $8,1 \pm 19,4$ ja TIA-potilailla $2,8 \pm 4,6$ ($p = 0,005$) sekä IL-18-pitoisuuskeskiarvo oli aivoinfarktipotilailla 207 ± 103 ja TIA-potilailla 259 ± 134 ($p = 0,011$).

Taulukko 6

Sytokiinipitoisuudet eriteltynä aivoinfarktipotilaiden (n=110) ja TIA-potilaiden (n=39) suhteen, ryhmien välisten pitoisuuksien välinen merkittävyys sekä molempien ryhmien pitoisuuksien merkittävyys suhteessa verrokkeihin. Pitoisuuserojen merkittävyys suhteessa verrokkeihin laskettiin IL-1ra:n, IL-6:n, IL-10:n, IL-18:n ja TNF-alfa:n tapauksessa ANCOVA-analyysillä ja muiden osalta Mann-Whitney U -testin avulla. Myös ryhmien keskinäinen p-arvo laskettiin Mann-Whitney U-testillä.

	Keskiarvo		p-arvo suhteessa verrokkeihin		Ryhmien keskinäinen p-arvo
	Aivoinfarkti	TIA	Aivoinfarkti	TIA	
IL-1beeta	1,9 ± 1,9	1,8 ± 2,7	0,010 [†]	0,159	0,388
IL-1ra	575 ± 803	578 ± 670	0,630	0,371	0,460
IL-6	4,1 ± 6,2	2,6 ± 3,5	< 0,001 [§]	0,157	0,022[†]
IL-10	3,7 ± 5,7	2,6 ± 3,2	0,336	0,090	0,219
IL-18	207 ± 103	259 ± 134	0,021 [†]	0,001 [‡]	0,011[†]
TNF-alfa	1,9 ± 3,0	1,6 ± 1,1	0,008 [‡]	0,002 [‡]	0,680
hs-CRP *	8,1 ± 19,4	2,8 ± 4,6	< 0,001 [§]	0,003 [‡]	0,005[‡]

* Näyte mitattu 109 aivoinfarktipotilaalta

† P < 0,05

‡ P < 0,01

§ P < 0,001

3.6 Akuuttivaiheen AVH-potilaiden sytokiinipitoisuuksien suhde neurologiseen ennusteeseen

Rankin- ja Barthell-pistemuutosten assosiaation merkittävyys akuutin vaiheen sytokiinipitoisuuksiin on esitetty taulukossa 7. Rankinin pisteytystä käytettäessä ei havaittu merkittäviä yhteyksiä minkään sytokiinipitoisuuden kanssa. Barthellin pisteytyksellä havaittiin yhteys akuutin vaiheen IL-10:n ($p = 0,003$) ja neurologisen ennusteen välillä. IL-10-pitoisuuden korrelaatio suhteessa alkuperäiseen pistemuutokseen oli negatiivinen ($r = -0,150$).

Taulukko 7

Tilastolliset merkittävyydet esitetty akuuttivaiheen AVH-potilaiden sytokiinipitoisuuksien sekä Rankinin ($n = 102$) ja Barthellin ($n = 100$) pistemuutosten (stabiili vaihe - akuutti vaihe) välillä. Analyysissä käytettiin riippumattomien muuttujien T-testiä.

	Rankin-pisteytys	Barthell-pisteytys
IL-1beeta	0,504	0,142
IL-1ra	0,644	0,407
IL-6	0,762	0,859
IL-10	0,945	0,003 ‡
IL-18	0,108	0,719
TNF-alfa	0,180	0,327
hs-CRP	0,274 *	0,207 **

* $n = 101$

** $n = 99$

† $P < 0,05$

‡ $P < 0,01$

§ $P < 0,001$

3.7 Akuuttivaiheen ja stabiilivaiheen AVH-potilaiden sytokiinipitoisuuksien vertailu

Aivohalvauspotilaiden kontrollikäynnin yhteydessä mitatut tulokset on esitetty taulukossa 8 yhdessä akuutin vaiheen tulosten kanssa. Merkittävimmät muutokset akuuttivaiheen ja stabiilivaiheen AVH-potilaiden välillä oli IL-1ra:n, IL-18:n ja hs-CRP:n kohdalla. IL-1ra-keskiarvopitoisuus oli akuuttivaiheessa 588 ± 788 ja stabiilivaiheessa 342 ± 426 ($p < 0,001$).

IL-18-keskiarvopitoisuus oli akuuttivaiheessa 222 ± 118 ja stabiilivaiheessa 240 ± 99 ($p = 0,005$). Hs-CRP-keskiarvopitoisuus oli akuuttivaiheessa $6,7 \pm 16,8$ ja stabiilivaiheessa $1,8 \pm 2,6$ ($p = 0,008$). Kuvassa 2 on esitetty IL-1ra-pitoisuuskeskiarvot akuuttivaiheen ja stabiilivaiheen AVH-potilailla.

Taulukko 8

Sytokiinipitoisuuksien keskiarvot, vaihteluvälit sekä pitoisuuseron merkittävyys esitetty akuutin potilasryhmän ($n=151$) ja stabiilin potilasryhmän ($n=72$) välillä. Analyysit on suoritettu sytokiinien IL-6, IL-10, IL-18 ja TNF-alfa kohdalla lineaarisella sekamallilla ja muiden sytokiinien osalta Wilcoxonin algoritmilla.

	Akuuttivaiheen AVH-potilaat	Stabiilivaiheen AVH-potilaat	p-arvo
IL-1beeta	$1,9 \pm 2,2$	$1,6 \pm 1,6$	0,034 †
IL-1ra	588 ± 788	342 ± 426	< 0,001 §
IL-6	$3,7 \pm 5,6$	$2,6 \pm 2,5$	0,197
IL-10	$3,4 \pm 5,1$	$2,7 \pm 3,0$	0,431
IL-18	222 ± 118	240 ± 99	0,192
TNF-alfa	$1,8 \pm 2,6$	$1,5 \pm 0,9$	0,568
hs-CRP * ‡	$6,7 \pm 16,8$	$1,8 \pm 2,6$	0,008 ‡

* Näyte mitattu 150 akuuttivaiheen AVH-potilaalta

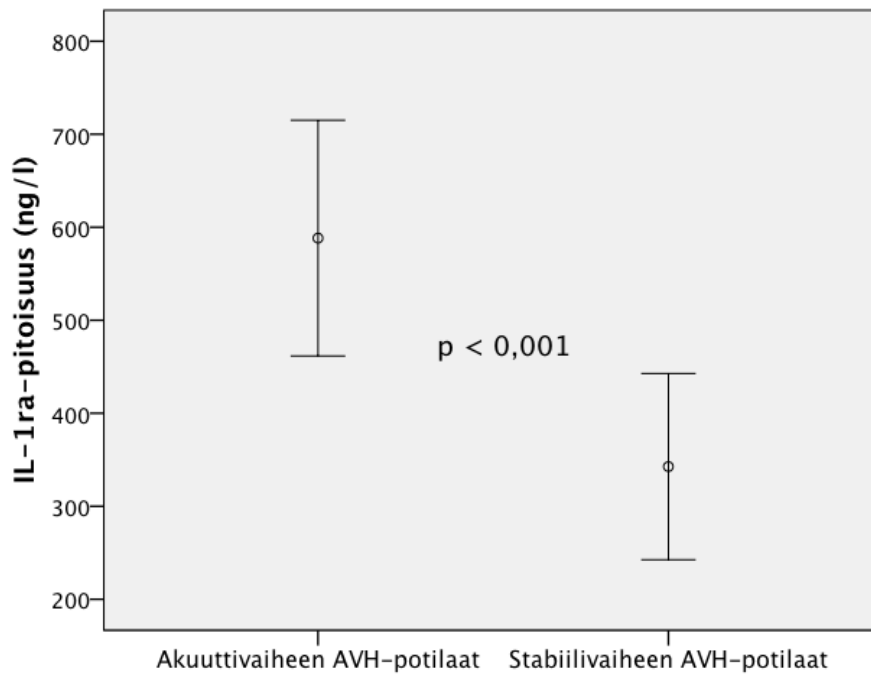
† $P < 0,05$

‡ $P < 0,01$

§ $P < 0,001$

Kuva 2

IL-1ra -pitoisuuskeskiarvo 95% luottamusväleillä akuuttivaiheen ja stabiilivaiheen AVH-potilailla



3.8 Stabiilivaiheen AVH-potilaiden ja verrokkien sytokiinipitoisuuksien vertailu

Taulukossa 9 on esitetty stabiilivaiheen AVH-potilaiden ja verrokkien sytokiinipitoisuuksien keskiarvot vaihteluväleineen sekä pitoisuuksien välinen tilastollinen merkittävyys. Merkittävimmät havainnot tehtiin IL-18- ja TNF-alfa-pitoisuuksissa. IL-18-keskiarvopitoisuus oli stabiilivaiheen AVH-potilailla 240 ± 99 ja verrokeilla 166 ± 88 ($p < 0,001$). Vastaavasti TNF-alfan-keskiarvopitoisuus oli stabiilivaiheen AVH-potilailla $1,5 \pm 0,9$ ja verrokeilla $1,4 \pm 2,1$ (p

< 0,001). Kuvassa 3 on esitetty IL-18- ja TNF-alfa-pitoisuuskeskiarvot stabiilivaiheen AVH-potilaiden ja verrokkien osalta.

Merkittävät pitoisuuserot havaittiin vertailussa myös IL-1beeta:lla, IL-1ra:lla ja hs-CRP:llä. IL-1beeta:n keskiarvopitoisuus oli stabiilivaiheen AVH-potilailla $1,6 \pm 1,6$ ja verrokeilla $1,8 \pm 3,7$ ($p = 0,004$), IL-1ra:n keskiarvopitoisuus oli stabiilivaiheen AVH-potilailla 342 ± 426 ja verrokeilla 562 ± 868 ($p = 0,019$) sekä hs-CRP:n keskiarvopitoisuus oli stabiilivaiheen AVH-potilailla $1,8 \pm 2,6$ ja verrokeilla $0,9 \pm 1,1$ ($p = 0,004$).

Taulukko 9

Sytokiinipitoisuuksien keskiarvot, vaihteluvälit sekä pitoisuuseron merkittävyys esitetty stabiilin potilasryhmän (n=72) ja verrokkiryhmän (n=65) välillä. Merkittävyysarvo laskettiin IL-1ra:n, IL-6:n ja IL-18:n tapauksessa ANCOVA-analyysillä ja muiden osalta Mann-Whitney U -testin avulla.

	Stabiilivaiheen AVH-potilaat	Verrokit	p-arvo
IL-1beeta	$1,6 \pm 1,6$	$1,8 \pm 3,7$	0,004 ‡
IL-1ra	342 ± 426	562 ± 868	0,019 †
IL-6	$2,6 \pm 2,5$	$1,8 \pm 1,3$	0,106
IL-10	$2,7 \pm 3,0$	$4,8 \pm 10,1$	0,261
IL-18	240 ± 99	166 ± 88	< 0,001 §
TNF-alfa	$1,5 \pm 0,9$	$1,4 \pm 2,1$	< 0,001 §
hs-CRP *	$1,8 \pm 2,6$	$0,9 \pm 1,1$	0,004 ‡

* Näyte mitattu 64 verrokkipotilaalta

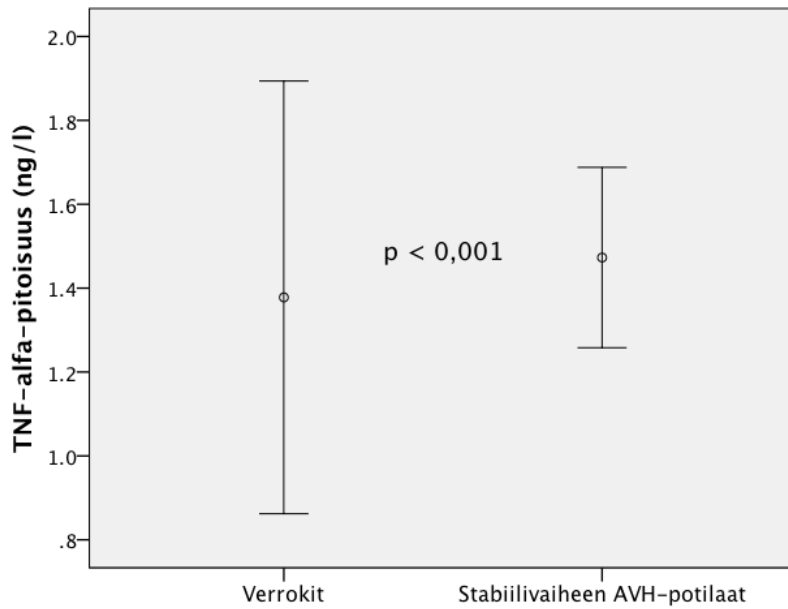
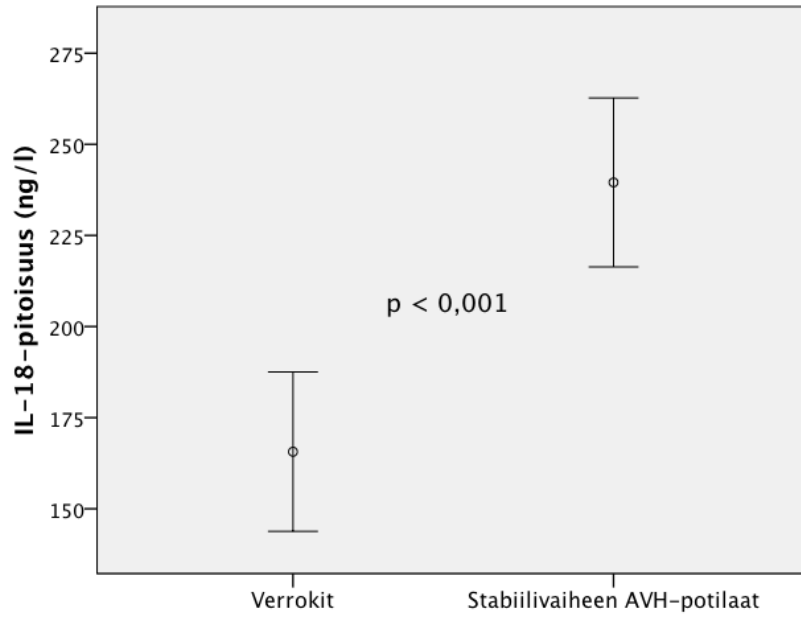
† $P < 0,05$

‡ $P < 0,01$

§ $P < 0,001$

Kuva 3

IL-18- ja TNF-alfa-pitoisuuskeskiarvot 95% luottamusvälillä stabiilissa potilasryhmässä ja verrokipotilailla



4. Pohdinta ja yhteenveto

Tutkimuksen perusteella sydänperäisen, iskeemisen aivoinfarktin ja tiettyjen sytokiinipitoisuuksien välillä on merkittävä yhteys. Akuuttivaiheen AVH-potilaiden sytokiineista IL-6-pitoisuus oli kasvanut merkittävimmin ($p < 0,001$) suhteessa verrokkeihin (**Taulukko 5 ja Kuva 1**). Lisäksi aivoinfarktilla ja TIA:lla havaittiin erilainen vaste sytokiinipitoisuuksiin vertailtaessa akuuttivaiheen AVH-potilaita ja verrokkeja (**Taulukko 6**). Akuuttivaiheen ja stabiilivaiheen AVH-potilaiden välinen merkittävin alenema ($p < 0,001$) tapahtui IL-1ra kohdalla (**Taulukko 8**). Stabiilivaiheen AVH-potilaiden IL-18- ja TNF-alfa-pitoisuudet olivat tilastollisesti merkittävästi ($p < 0,001$) korkeammalla suhteessa verokkipotilaisiin (**Taulukko 9**).

Tulosten pohjalta voidaan todeta, että osa tutkituista sytokiineistä on merkittävästi koholla niin akuutissa aivoinfarktissa kuin aivoinfarktin jälkeisessä stabiilissa vaiheessa. Esimerkiksi korkea IL-6-pitoisuus on näin ollen vahva todiste tuoreesta tai parhaillaan meneillään olevasta infarktista. Vastaavasti korkeat TNF- ja IL-18-pitoisuudet saattavat olla viesti historiassa sairastetusta iskeemisestä aivohalvauksesta, ja madaltunut IL-1ra-pitoisuus kertoo taas infarktista toipumisesta. Koska tutkimuspotilaat ovat tulleet sairaalaan jo infarktin alettua, tutkimuksen perusteella ei voida ottaa luotettavasti kantaa siihen, ovatko esimerkiksi IL-6-pitoisuudet olleet koholla jo ennen infarktia ja näin mahdollisesti laukaisseet infarktin, vai ovatko sytokiinit olleet ainoastaan infarktin tulehduksellinen vaste. Mahdollista on myös, että aivovaltimoihin juuttunut trombi aiheuttaa endoteelissä ja endoteelin alaisessa kudoksessa sytokiinien erittymistä ennen varsinaisen infarktin alkamista. Lisäksi korkea sytokiinipitoisuus voi olla seurausta pitkään jatkuneesta ateroskleroosista tai perivaskulaarisen rasvan tulehdustilasta. Näin ollen myös taustatekijöillä voisi olla merkitystä infarktin laukaisun kannalta, koska lihavuus ja diabetes korreloivat sytokiinipitoisuuksien nousuun (**Taulukko 3**).

Tutkimustulokset mukailevat melko hyvin muita tutkimuksia sytokiinipitoisuuksien ja iskeemisen aivohalvauksen välisestä suhteesta. Moni tutkimus osoittaa yhtäläisellä tavalla erityisesti IL-6-pitoisuuden merkittävän nousun iskeemisen aivohalvauksen yhteydessä.^{18,}

^{19, 21} Myös IL-1beeta:n ja TNF-alfa:n kohonneiden pitoisuuksien on todettu olevan yhtey-

dessä infarktiin.¹⁸ Stabiilissa vaiheessa IL-6- ja TNF-alfa-pitoisuuksien on todettu olevan verrokkeja korkeammat, kuitenkin niin että IL-6-arvot eivät ole olleet ja TNF-alfa-arvot ovat olleet tilastollisesti merkittäviä.²² Samaan johtopäätökseen päädyttiin omissa tutkimustuloksissamme. Infarktin koon on osassa tutkimuksista todettu korreloivan sekä aivoselkäydinnesteestä¹⁹ että plasmasta¹⁸ mitattuun IL-6-pitoisuuteen, kun taas osassa vastaavaa korrelaatiota ei ole löydetty.²² Tutkimuksemme ei myöskään osoittanut infarktin koon ja IL-6-pitoisuuden välistä yhteyttä plasmaverinäyttestä mitattuna (**Taulukko 4**). Tutkimus ylipainon aiheuttamasta IL-6:n ja TNF-alfa:n hypersekreetiosta sekä IL-10 hyposekreetiosta on samoilla linjoilla oman tutkimuksemme kanssa, jonka mukaan muun muassa infarktinaikaisella IL-6:lla oli positiivinen ja IL-10:llä negatiivinen korrelaatio BMI:n kanssa (**Taulukko 3**).¹² Toisaalta toinen tutkimus aivoinfarktipotilaan neurologisesta ennusteesta suhteessa IL-6-pitoisuuteen ei kuitenkaan vastannut tutkimustuloksiamme, koska ainoastaan IL-10-pitoisuuden todettiin olevan tilastollisesti merkittävässä yhteydessä neurologisen toipumiseen. IL-10-pitoisuuden korrelaatio suhteessa Barthellin pisteytysmuutokseen oli negatiivinen, joten kohonneen, infarktinaikaisen IL-10-pitoisuuden voidaan päätellä olevan yhteydessä huonontuneeseen neurologiseen ennusteeseen (**Taulukko 7**). Syynä eroon saattoi olla se, että vertailtavan tutkimuksen pisteytysmetodi oli erilainen.²¹

Tutkimustulosten hyödyntäminen kliinisessä työssä voi olla hankalaa, koska akuutit aivoverenkiertohäiriöpotilaat ovat aina kiireellisesti hoidettavia tapauksia. Nykyisin esimerkiksi P-IL6-pitoisuuden mittaustulosten saaminen saattaa kestää kaksikin viikkoa eikä näin ollen pärjää nopeudessa kuvantamispohjaiselle diagnosoinnille.²⁴ IL-6-pitoisuus toimii kuitenkin hyvänä infarktimerkkinä. Vastaavasti infarktinaikainen IL-10-pitoisuus saattaisi antaa ennusteen neurologisesta toipumisesta: Korkeasta painoindeksistä kärsivillä potilailla saattaa olla matalamman infarktinaikaisen IL-10-pitoisuuden vuoksi parantunut neurologinen ennuste. Diabeetikoilla suurentunut TNF-alfa-pitoisuus saattaa vastaavasti tuottaa suuremman infarktialan.

Tutkimuksessa tilastollista epätarkkuutta aiheuttaa ryhmien välillä olevat demografiset erot. Akuutin potilasryhmän ja verrokkipotilaiden välillä sekä stabiilin potilasryhmän välillä vallitsi merkittävä ero sukupuoli- ja ikäjakaumassa. Myöskään stabiilin vaiheen mitta-

ajankohta ei ollut tasan kolme kuukautta infarktin alkamisesta, vaan sytokiinimittausten väli pitkittyi joillain potilailla reilusti, jopa yli vuoteen.

Yhteenvetona voidaan todeta sydänperäisen, iskeemisen aivoinfarktin olevan merkittävässä yhteydessä tiettyihin sytokiinipitoisuuksiin niin akuutissa kuin stabiilissa vaiheessa sydänperäistä aivoverenkiertohäiriötä. Pitoisuuksien avulla voidaan päätellä tuore tai lähihistoriassa sairastettu iskeeminen aivoinfarkti. Tällä hetkellä sytokiineilla ei kuitenkaan ole diagnosoinnin kannalta merkitystä, mutta ne antavat viitteitä infarktin vakavuudesta. Tulevaisuuden tutkimuksissa olisi hyvä selvittää tarkemmin eri sytokiinien ja alkavan aivoinfarktin välistä ajallista suhdetta, jotta sytokiineista saataisiin mahdollinen diagnostinen työkalu aivoverenkiertohäiriön varhaisessa vaiheessa. Samalla kunkin koholla olevan sytokiinin todellinen lähde tulisi selvittää.

Kirjallisuuslähteet

1. Käypähoitosuositukset / Aivoinfarkti. 2011. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen Neurologinen Yhdistys ry:n asettama työryhmä.
<http://www.kaypahoito.fi/web/kh/suositukset/naytaartikkeli/.../hoi50051> .
26.12.2012.
2. Aarnio Pertti et al. 2006. Angiologia. Jyväskylä: Recalled.
3. Atula, Sari. Lääkärikirja Duodecim / Aivohalvaus. 2012.
http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00001 .
26.12.2012.
4. Charles A. Dinarello, MD. Proinflammatory Cytokines. CHEST. 2000;118(2):503-508.
doi:10.1378/chest.118.2.503
5. K.F. Chung. Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease. The European respiratory journal. 2001 Dec;18(34): suppl 50s-59s. doi:10.1183/09031936.01.00229701
6. Silvennoinen, O. Hurme, M. Uutta sytokiineista. Duodecim. 2003;119:773-9
7. Lázár-Molnár E, Hegyesi H, Tóth S, Falus A. Autocrine and paracrine regulation by cytokines and growth factors in melanoma. Cytokine. 2000 Jun;12(6):547-54
8. Hiroaki N., Ryosuke Y., Yoshiyuki E., Tomoyashu N., Genji I. Paracrine cytokine interaction between UVB-exposed epidermal keratinocytes and dermal fibroblasts in stimulating expression of skin fibroblast-derived elastase. Cytokine. 2012 July; 59(1):166-175
9. Netea MG., Kullberg BJ., Van der Meer JWM. Circulating Cytokines as Mediators of Fever. Clinical Infection Diseases. 2000; 31 (Suppl. 5): S178-S184. doi: 10.1086/317513
10. Goetz FW., Planasb JV., MacKenzie S. Tumor necrosis factors. Developmental & Comparative Immunology. 2004 May; 28(5):487-497
11. Zav'ialov VP. The structural and functional classification and evolution of cytokines. Vestn Ross Akad Med Nauk. 1993;(2):8-10.
12. DeMarco VG, Johnson MS, Whaley-Connell AT, Sowers JR. Cytokine abnormalities in the etiology of the cardiometabolic syndrome. Current Hypertension Reports. 2010 Apr;12(2):93-8. doi: 10.1007/s11906-010-0095-5.
13. Boyle JJ. Macrophage activation in atherosclerosis: pathogenesis and pharmacology of plaque rupture. Current Vascular Pharmacology. 2005 Jan;3(1):63-8.
14. Gerszten RE, Garcia-Zepeda EA, Lim YC, Yoshida M, Ding HA, Gimbrone MA Jr, Luster AD, Luscinskas FW, Rosenzweig A. MCP-1 and IL-8 trigger firm adhesion of monocytes to vascular endothelium under flow conditions. Nature. 1999 Apr; 398(6729):718-23.
15. Boyle JJ, Weissberg PL, Bennett MR. Tumor necrosis factor-alpha promotes macrophage-induced vascular smooth muscle cell apoptosis by direct and autocrine mecha-

Kommentti [MK1]: <http://journal.publications.chestnet.org/article.aspx?articleid=1079094>

Kommentti [MK2]: http://erj.ersjournal.com/content/18/34_suppl/50s.full

Kommentti [MK3]: http://www.duodecimlehti.fi/web/guest/uusinnumero?p_p_id=dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku&p_action=1&p_state=maximized&p_mode=view&dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku_spage=%2Fportlet_action%2Fdlehtihakuartikel%2Fviewarticle%2Faction&dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku_tunnus=duo93535&dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku_p_frompage=uusinnumero

Kommentti [MK4]: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10843728>

Kommentti [MK5]: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043466612000919>

Kommentti [MK6]: http://cid.oxfordjournals.org/content/31/Supplement_5/S178.full

Kommentti [MK7]: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0145305X03001824>

Kommentti [MK8]: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7688623>

Kommentti [MK9]: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11906-010-0095-5>

Kommentti [MK10]: <http://www.eurkaselect.com/80030/article>

Kommentti [MK11]: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10227295>

- nisms. Arteriosclerosis, thrombosis and vascular biology. 2003 Sep;23(9):1553-8. Epub 2003 Jul 17.
16. van Dantzig JM., Delemarre BJ., Bot H., Visser CA. Left ventricular thrombus in acute myocardial infarction. *European Heart Journal*. 1996; 17:1640-1645
 17. Halinen M, Jäkälä P, Sipola P, Tapiola T, Mustonen P, Kokkonen J. Sydänperäinen aivoembolisaatio. *Duodecim* 2005;121:1961-1968.
 18. Rothenburg LS, Herrmann N, Swardfager W, Black SE, Tennen G, Kiss A, Gladstone DJ, Ween J, Sniderman A, Lanctôt KL. The relationship between inflammatory markers and post stroke cognitive impairment. *Journal of geriatric psychiatry and neurology*. 2010 Sep;23(3):199-205. doi: 10.1177/0891988710373598.
 19. Acalovschi D., Wiest T., Hartmann M., Farahmi M., Mansmann U., Auffarth GU., Grau AJ, Green FR., Grond-Ginsbach C., Schwaninger M. Multiple Levels of Regulation of the Interleukin-6 System in Stroke. *Stroke*. 2003; 34:1864-1869 doi: 10.1161/01.STR.0000079815.38626.44
 20. Rodríguez-Yáñez M, Sobrino T, Arias S, Vázquez-Herrero F, Brea D, Blanco M, Leira R, Castellanos M, Serena J, Vivancos J, Dávalos A, Castillo J. Early biomarkers of clinical-diffusion mismatch in acute ischemic stroke. *Stroke*. 2011 Oct;42(10):2813-8. doi: 10.1161/STROKEAHA.111.614503.
 21. Vila N, Castillo J, Dávalos A, Chamorro A. Proinflammatory cytokines and early neurological worsening in ischemic stroke. *Stroke*. 2000 Oct;31(10):2325-9.
 22. Ferrarese C, Mascarucci P, Zoia C, Cavarretta R, Frigo M, Begni B, Sarinella F, Frattola L, De Simoni MG. Increased cytokine release from peripheral blood cells after acute stroke. *Journal of cerebral blood flow and metabolism*. 1999 Sep;19(9):1004-9.
 23. Tarkowski E, Rosengren L, Blomstrand C, Wikkelsö C, Jensen C, Ekholm S, Tarkowski A. Early intrathecal production of interleukin-6 predicts the size of brain lesion in stroke. *Stroke*. 1995 Aug;26(8):1393-8.
 24. HusLab / Interleukiini 6, plasmasta. 2010. <http://huslab.fi/ohjekirja/4842.html> . 26.12.2012.

Kommentti [MK12]: <http://atvb.ahajournals.org/content/23/9/1553.long>

Kommentti [MK13]: http://www.google.fi/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0CElQFjAB&url=http%3A%2F%2Feurheartj.oxfordjournals.org%2Fcontent%2F17%2F11%2F1640.full.pdf&ei=dmr1UNEjKiD4ASBmoHYDA&usg=AFQjCNHVxL0lqVRb_36EcvglDmfU6S6FMg&sig2=_G2BvYPcvjCjFjgbF8c_zw&bv m=bv.1355534169,d.bGE&cad=rja

Kommentti [MK14]: http://www.duo-decimlehti.fi/web/guest/arkisto?p_p_id=dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku&p_p_action=1&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku__spage=%2Fportlet_action%2Fdlehtihakuartikkelii%2Fviewarticle%2Faction&dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku_tunnus=duo95216&dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku_p_frompage=uusinnumero

Kommentti [MK15]: <http://jgp.sagepub.com/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=20601647>

Kommentti [MK16]: <http://stroke.ahajournals.org/content/34/8/1864.long>

Kommentti [MK17]: <http://stroke.ahajournals.org/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=21836082>

Kommentti [MK18]: <http://stroke.ahajournals.org/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=11022058>

Kommentti [MK19]: <http://www.nature.com/jcbfm/journal/v19/n9/full/9590596a.html>

Kommentti [MK20]: <http://stroke.ahajournals.org/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=7631343>