

Magdalena Józwicka, Andrzej Głąbiński

Received: 01.07.2011

Accepted: 11.07.2011

Published: 31.07.2011

Poszukiwanie biomarkerów zapalnych udaru niedokrwiennego mózgu

The search for inflammatory biomarkers of ischaemic stroke

Oddział Kliniczny Propedeutyki Neurologicznej z Pododdziałem Udarowym, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, WSS im. M. Kopernika, ul. Pabianicka 62, 93-513 Łódź, tel.: 42 689 53 61

Praca finansowana ze środków własnych

Streszczenie

Od wielu lat prowadzone są poszukiwania biochemicznych markerów udaru mózgu. Wciąż brakuje jednak ogólnie dostępnego i wystarczająco czulego biomarkera udaru niedokrwiennego mózgu, którego obecność byłaby przydatna zarówno we wczesnej diagnostyce udaru, jak i w monitorowaniu skuteczności jego leczenia. Idealny biomarker udaru mózgu powinien charakteryzować się wysoką specyficznnością (tzn. pozwolić na odróżnienie udaru od innych podobnych klinicznie chorób, takich jak: migrena skojarzona, przemijający atak niedokrwienny – *transient ischaemic attack*, TIA, porażenie ponapadowe czy stwardnienie rozsiane), być łatwo oznaczalny we krwi, a jego stężenie we krwi powinno korelować ze stężeniem w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR). Ponadto powinien pojawiać się w krótkim czasie od zachorowania i umożliwić różnicowanie TIA z udarem dokonanym, a udar krwotoczny – z niedokrwiennym oraz być wskaźnikiem prognostycznym dla oceny skuteczności leczenia. W niniejszej pracy przedstawiamy przegląd potencjalnych biomarkerów zapalnych badanych w klinicznym i doświadczalnym udarze niedokrwiennym mózgu. Najczęściej analizowanymi biomarkerami zapalnymi są: białko C-reaktywne (*C-reactive protein*, CRP), interleukiny 1, 6, 8, metaloproteinaza 9 (*metalloproteinase 9*, MMP-9), śródbłonkowy czynnik adhezji komórek-1 (*vascular cell adhesion molecule 1*, VCAM-1), wewnątrzkomórkowy czynnik adhezji komórek (*intracellular cell adhesion molecule*, ICAM), czynnik martwicy nowotworów alfa (*tumor necrosis factor alpha*, TNF- α). Dostępne obecnie wyniki badań wskazują, że istnieje kilka potencjalnie interesujących biomarkerów zapalnych udaru mózgu, jednak niezbędne są dalsze badania, aby potwierdzić ich przydatność w tym zakresie.

Słowa kluczowe: udar niedokrwienny mózgu, biomarkery, miażdżycy, zapalenie, cytokiny

Summary

The search for stroke biomarkers has been initiated several years ago. Commonly available and sensitive biomarkers of stroke are still not available for the early diagnosis of this disease as well as for monitoring of its treatment. The ideal stroke biomarker should be very specific to differentiate stroke from other clinically similar diseases like complicated migraine, transient ischaemic attack (TIA), multiple sclerosis or posticus paralysis. Moreover, its concentration in the blood should correlate with the concentration in the cerebrospinal fluid (CSF). Additionally it should be detectable shortly after stroke clinical signs appearance and should allow to differentiate between TIA and stroke or ischaemic stroke with haemorrhagic stroke. Good stroke biomarker should be also an useful indicator of effectiveness of stroke treatment. In this review we present potential inflammatory biomarkers tested in stroke and their experimental models. The most commonly analysed inflammatory biomarkers are C-reactive protein (CRP), interleukin 1, 6, 8, metalloproteinase 9 (MMP-9), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), intracellular cell adhesion

molecule (ICAM) and tumour necrosis factor-alpha (TNF- α). Currently available results suggest that there are a few potentially interesting inflammatory biomarkers of stroke but still further studies are necessary to confirm their usefulness in this field.

Key words: ischaemic stroke, biomarkers, atherosclerosis, inflammation, cytokines

WSTĘP

Udar mózgu jest drugą po zawale mięśnia sercowego przyczyną zgonu oraz pierwszą przyczyną inwalidztwa w populacji osób dorosłych na świecie. Statystyki wskazują, że udar niedokrwienny występuje znacznie częściej od krwotocznego i stanowi około 80-85% wszystkich przypadków udarów mózgu.

Ogniskowe niedokrwienie mózgu jest wywołane miejscowym zanikiem bądź spadkiem przepływu krwi, spowodowanym zwykle przez zator lub zakrzep, co prowadzi do deficytu tleno-energetycznego tkanki w obszarze niedokrwienia⁽¹⁾. Choroba ta poza uszkodzeniem naczyniopochodnym mózgu charakteryzuje się również odpowiedzią immunologiczną związaną z rozwojem reakcji zapalnej. Aktywowane komórki glejowe (mikroglej i astroglej), a także komórki układu krwionośnego (endotelocyty i leukocyty) syntetyzują szereg molekuł, wśród których zasadniczą rolę odgrywają: cytokiny, chemokiny, cząsteczki adhezyjne oraz enzymy prozapalne⁽¹⁾.

W większości przypadków do rozpoznania udaru niedokrwienego mózgu dochodzi na podstawie obrazu klinicznego choroby oraz badania mózgu metodą tomografii komputerowej (TK). Proces diagnostyczny nie eliminuje jednak zawsze wszystkich schorzeń, które mogą imitować udar mózgu klinicznie lub radiologicznie, takich jak: migrena skojarzona, porażenie ponapadowe, przemijający atak niedokrwienny (TIA), niektóre guzy mózgu, zaburzenia metaboliczne czy stwardnienie rozsiane. Okazuje się, że mimo dość jasnej definicji udaru i typowych objawów aż 20-25% wszystkich rozpoznań udaru to schorzenia imitujące udar^(2,3). Czulość badania TK mózgu w świeżym udarze niedokrwiennym szacuje się na około 30-35%⁽⁴⁾. Najnowsze techniki neuroobrazowe, takie jak rezonans magnetyczny (MRI) czy perfuzja TK, są czulsze w stosunku do zmian niedokrwienych w mózgu, ale trudniej dostępne w podstawowej praktyce klinicznej.

Podobnie jak w diagnostyce zawału serca i ostrych zespołów wieńcowych, również w diagnostyce udarów mózgu intensywnie poszukuje się pośrednich i bezpośrednich markerów uszkodzenia mózgu związanych z jego niedokrwieniem. Mózg jest dużo bardziej heterogenny pod względem budowy od serca, zawiera bowiem komórki nerwowe i glejowe charakteryzujące się różnym stopniem wrażliwości na niedotlenienie. Wobec powyższego potencjalna liczba biomarkerów może być większa. Stężenie danego markera biochemicznego we krwi chorego może zależeć od czasu trwania niedokrwienia/niedotlenienia, wielkości uszkodzenia mózgu, jego lokalizacji oraz czasu od początku naczyniopochodnego uszkodzenia do pobrania krwi. Pojawienie się we krwi obwodowej markerów uszkodzenia mózgu zależy też od sposobu uszkodzenia bariery krew-mózg^(5,6).

CEL POSZUKIWAŃ BIOMARKERÓW UDARU MÓZGU

Celem badań biochemicznych we wczesnym udarze mózgu może być jego potwierdzenie, ułatwienie diagnostyki różnicowej, ocena ryzyka lub korzyści leczenia (np. przy pomocy rt-PA, *recombinant tissue plasminogen activator*), ustalenie dalszego rokowania czy ocena ryzyka wystąpienia obrzęku złośliwego w udarach z rejonu tętnicy środkowej mózgu (*middle cerebral artery*, MCA). Optymalnym testem biochemicznym w diagnostyce udarów mózgu byłby taki test, który lekarz pogotowia ratunkowego mógłby wykonać podczas wizyty u pacjenta z podejrzeniem tej choroby.

Według Biomarkers Definitions Working Group⁽⁷⁾ biomarker to charakterystyczna cecha biologiczna, którą można obiektywnie zmierzyć – jest ona wskaźnikiem prawidłowych procesów biologicznych, patologicznych lub odpowiedzi farmakologicznej na interwencję terapeutyczną. Idealny marker biochemiczny w udarze powinien charakteryzować się wysoką specyficznością (tzn. pozwalać na odróżnianie udaru od innych chorób), być oznaczalny we krwi lub w osoczu, a jego stężenie we krwi powinno korelować ze stężeniem w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR). Ponadto taki biomarker powinien pojawić się we krwi w krótkim czasie od zachorowania, a także być wskaźnikiem prognostycznym dla powodzenia leczenia trombolitycznego. Dotychczasowe analizy wykazały, iż żadne znane dotąd badanie biochemiczne nie charakteryzuje się tak wysoką czułością i specyficznością, aby było przydatne w diagnostyce udaru mózgu^(8,9).

POTENCJALNE MARKERY UDARU MÓZGU

Markery glejowe i neuronalne: białko S100B, kwaśne włóknikowe białko gleju (*glial fibrillary acidic protein*, GFAP), białko tau, specyficzna enolaza neuronalna (*neuron-specific enolase*, NSE), czynnik wzrostu nerwów (*nerve growth factor*, NGF).

Elementy układu krzepnięcia: czynnik VIIc, VIIIc, czynnik von Willebranda (*von Willebrands factor*, vWF), inhibitor aktywatora plazminogenu 1 (*plasminogen activator inhibitor-1*, PAI-1), inhibitor aktywowanej fibrynolizy (*thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor*, TAFI), D-dimery.

Mediatory zapalenia: białko C-reaktywne (*C-reactive protein*, CRP), interleukiny 1, 6, 8, metaloproteinaza 9 (*metalloproteinase 9*, MMP-9), śródbłonkowy czynnik adhezji komórek-1 (*vascular cell adhesion molecule 1*, VCAM-1), wewnątrzkomórkowy czynnik adhezji komórek (*intracellular cell adhesion molecule*, ICAM), czynnik martwicy nowotworów alfa (*tumour necrosis factor alpha*, TNF- α).

Inne: mózgowy peptyd natriuretyczny (*brain natriuretic peptide*, BNP), neurotropowy czynnik wzrostu B (*brain nerve growth factor B-type*, BDNF), kaspazy (*caspases*), białka szoku termicznego (*heat shock proteins*, HSP), PARK7, NDKA, chimeryny (*chimerins*).

WYBRANE BIOMARKERY ZAPALNE UDARU NIEDOKRWIENNEGO MÓZGU

IL-1 β jest cytokiną o działaniu prozapalnym i prozakrzepowym. Jest ona produkowana przez komórki śródbłonna, makrofagi, mikroglej, keratynocyty, chondrocyty, komórki Langerhansa, komórki gleju, komórki mezangium i neurony^(1,10,11). Jej głównym źródłem mózgowym są astrocyty⁽¹²⁾. We krwi chorych w ostrej fazie udaru niedokrwienego mózgu obserwowano podwyższone stężenie IL-1ra⁽¹³⁾. Opisywano również zwiększony poziom IL-1 β w PMR chorych w ostrej fazie udaru niedokrwienego⁽¹⁴⁾. Wykazano ponadto, iż zwiększony poziom tej cytokiny w PMR i w surowicy nie koreluje z objętością zawału mózgu⁽¹⁴⁾. Zauważono jednak, iż wzrost ekspresji mRNA dla IL-1 β w monocytach krwi obwodowej chorych z udarem mózgu koreluje ze stopniem nasilenia objawów neurologicznych⁽¹⁵⁾. Wiele danych przemawia za neuroprotektynym działaniem IL-1 β , głównie w badaniach przeprowadzanych na zwierzętach⁽¹⁰⁾.

IL-6 cechuje się wielokierunkowością oddziaływań i może być uznana za jeden z centralnych czynników regulujących mechanizmy obronne⁽¹⁶⁾. Wytwarzana jest przede wszystkim przez monocyty i makrofagi, ale także przez fibroblasty, komórki śródbłonna, limfocyty T i B, keratynocyty i chondrocyty⁽¹⁶⁾. Głównymi czynnikami indukującymi jej wytwarzanie są IL-1, TNF, LPS i wirusy. IL-6 hamuje zwrotne wydzielanie TNF⁽¹⁾. Głównym źródłem IL-6 w niedokrwieniu mózgu są komórki mikrogleju⁽¹⁷⁾. IL-6 stymuluje hepatocyty do syntezy białek ostrej fazy, w tym białka C-reaktywnego i fibrynogenu⁽¹¹⁾.

Tarkowski i wsp. wykazali, iż poziom IL-6 w PMR wzrasta w ostrej fazie udaru niedokrwienego mózgu i mimo późniejszej stopniowej tendencji spadkowej pozostaje podwyższony w porównaniu z poziomem cytokin w grupie kontrolnej do 90. dnia od początku udaru⁽¹⁸⁾. Potwierdzono również korelację między początkowymi poziomami IL-6 w PMR a objętością zawału ocenianą po 2-3 miesiącach od wystąpienia udaru^(14,18). Pozytywną korelację pomiędzy stężeniem IL-6 we krwi a takimi elementami reakcji ostrej fazy, jak temperatura ciała oraz poziom glukozy i fibrynogenu we krwi, wykazali Vila i wsp.⁽¹⁹⁾ Beamer i wsp.⁽¹³⁾ podają, że stężenie IL-6 w surowicy jest podwyższone w 4. dniu udaru niedokrwienego mózgu. Ferrarese i wsp.⁽²⁰⁾ obserwowali z kolei, że poziom IL-6 w surowicy oraz w PMR chorych z udarem mózgu jest podwyższony w ostrej fazie udaru, ale pozostaje znacznie niższy od poziomu IL-6 w PMR i nie koreluje z wielkością ogniska udarowego.

IL-6 poza właściwościami prozapalnymi i prodestrukcyjnymi jest cytokiną, która może również wywierać efekt przeciwzapalny i neuroprotektynny, hamując syntezę cytokin TNF- α i IL-1⁽¹⁴⁾. Podana dokomorowo zmniejsza wielkość uszkodzenia mózgu wywołanego zamknięciem tętnicy środkowej mózgu, co

świadczy o tym, iż cytokina ta w warunkach niedokrwienia mózgu może również odgrywać rolę inhibitora neurodegeneracji⁽²¹⁾. **IL-10** strukturalnie przypomina interferony i wraz z kilkoma innymi interleukinami tworzy dużą grupę cytokin. Jest ona cytokiną antyzapalną. IL-10 wytwarzana jest głównie przez aktywowane limfocyty T, szczególnie typu Th2, ale także przez limfocyty B, monocyty, makrofagi i keratynocyty^(1,16). W eksperymentalnym niedokrwieniu mózgu IL-10 wykazuje działanie neuroprotektynne, co manifestuje się zmniejszeniem rozmiarów obszaru niedokrwienia⁽²²⁾. Obserwowano wzrost stężenia IL-10 w PMR chorych z udarem niedokrwienego mózgu do 90. dnia od początku choroby. Sugeruje to, że IL-10 bierze również udział w następujących po niedokrwieniu procesach regeneracyjnych⁽¹⁸⁾. W ostrej fazie udaru niedokrwienego mózgu IL-10 jest syntetyzowana przez monocyty krwi obwodowej⁽²³⁾. Badania Periniego i wsp. wykazały spadek stężenia IL-10 we krwi chorych w ostrej fazie udaru niedokrwienego mózgu, co przemawia za przewagą procesów prozapalnych nad przeciwzapalnymi we wczesnej fazie niedokrwienia mózgu⁽²⁴⁾.

IL-17 jest cytokiną prozapalną występującą u człowieka w postaci kilku izoform, które określa się literami od A do F. Limfocyty Th17 wytwarzają głównie IL-17A. IL-17A i IL-17F są wytwarzane przez aktywowane limfocyty T⁽¹⁾. Działając na makrofagi, IL-17 pobudza je do wytwarzania TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12 oraz IL-1Ra i wzmaga dojrzewanie komórek dendrytycznych. Odgrywają one istotną rolę w patogenezie łuszczycy, stwardnienia rozsianego i innych chorób zapalnych. Zwiększoną ekspresję mRNA dla IL-17 stwierdzono w mózgu i krwi zwierząt, u których wywołano doświadczalne niedokrwienie mózgu⁽²⁵⁾. Wykazano zwiększoną ekspresję TNF- α w mózgach (głównie w mikrogleju/makrofagach) chorych zmarłych w przebiegu chorób neurodegeneracyjnych oraz z przyczyn pozaneurologicznych⁽²⁶⁾.

Czynnik martwicy nowotworów (TNF- α) wytwarzają głównie monocyty i makrofagi. Najsilniejszy bodziec do produkcji TNF- α stanowi bakteryjny lipopolisacharyd (LPS). W ostrym niedokrwieniu mózgu głównym źródłem TNF- α są komórki mikrogleju i makrofagi⁽¹²⁾. W ostrej fazie udaru niedokrwienego mózgu produkują go leukocyty krążące we krwi obwodowej chorych⁽²⁰⁾. Ekspresja TNF- α jest najwyższa w ostrej fazie udaru między 8. a 24. godziną od początku niedokrwienia mózgu i w ciągu następnych 4 dni stopniowo się zmniejsza⁽²⁷⁾. Poziom TNF- α w PMR i w surowicy krwi chorych jest podwyższony w czasie pierwszych 24 godzin udaru niedokrwienego^(28,29). Koreluje on z objętością tworzącego się zawału mózgu i nasileniem objawów neurologicznych. Ponadto koreluje ze stopniem niezdolności chorych do samodzielnego funkcjonowania, ocenionym według Skandynawskiej Skali Udaru i Indeksu Barthela w pierwszej dobie udaru i po 2 tygodniach od wystąpienia objawów neurologicznych^(28,29). W surowicy chorych w ostrej fazie udaru niedokrwienego mózgu poziom TNF- α jest zwykle podwyższony⁽³⁰⁾. Są jednak również prace sugerujące, że poziom tej cytokiny w surowicy krwi podczas ostrego niedokrwienia mózgu pozostaje niezmienny⁽³¹⁾. TNF- α może wywierać efekt neuroprotektynny, ponieważ myszy genetycznie

pozbawione receptorów dla TNF- α cechują się większym uszkodzeniem mózgu po doświadczalnym zamknięciu tętnicy śródkowej mózgu⁽³²⁾.

Transformujący czynnik wzrostu beta (TGF- β) jest wytwarzany głównie przez makrofagi, neutrofile, płytki krwi i limfocyty. Działa on hamująco na proliferację limfocytów B i T oraz komórek NK, a także zmniejsza wydzielanie wielu cytokin. Stymuluje angiogenezę naczyń, bierze udział w gojeniu się ran i procesach naprawczych⁽¹⁾. TGF- β jest cytokiną, która w warunkach niedokrwienia mózgu prawdopodobnie odgrywa rolę neurodegeneracyjną i prozapalną, co może być częściowo związane z jej chemotaktycznym działaniem na neutrofile, monocyty i limfocyty, prezentowanym w układach immunologicznych⁽³³⁾. TGF- β wykazuje również działanie immunosupresyjne i proangiogenetyczne, hamując ekspresję IL-1 i TNF- α , oraz bierze udział w procesach naprawczych poprzez wpływ na składniki macierzy zewnątrzkomórkowej. Właściwości te sugerują więc również jego działanie neuroprotektoryjne i regenerujące w obszarze niedokrwionego mózgu⁽³⁴⁾.

Podsumowując, można uznać, że pomimo intensywnych poszukiwań nie ma obecnie przydatnych w klinice markerów zapalnych udaru niedokrwionego mózgu. Dalsze badania w tym zakresie mogą jednak w przyszłości wyłonić potencjalne nowe, przydatne w klinice i terapii biomarkery udaru mózgu.

PIŚMIENNICTWO:

BIBLIOGRAPHY:

- Zaremba J., Losy J.: Immunologiczne aspekty udaru mózgu. W: Losy J., Selmaj K. (red.): Neuroimmunologia kliniczna. Czelej, Lublin 2007, rozdz. 14: 261-279.
- Libman R.B., Wirkowski E., Alvir J., Rao T.H.: Conditions that mimic stroke in the emergency department. Implications for acute stroke trials. Arch. Neurol. 1995; 52: 1119-1122.
- Weir N.U., Buchan A.M.: A study of the workload and effectiveness of a comprehensive acute stroke service. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 2005; 76: 863-865.
- Kidwell C.S., Chalela J.A., Saver J.L. i wsp.: Comparison of MRI and CT for detection of acute intracerebral hemorrhage. JAMA 2004; 292: 1823-1830.
- Marchi N., Cavaglia M., Fazio V., Bhudia S., Hallene K., Janigro D.: Peripheral markers of blood-brain barrier damage. Clin. Chim. Acta 2004; 342: 1-12.
- Węglewski A., Ryglewicz D., Mular A., Juryńczyk J.: Zmiany stężenia białka S100B w surowicy krwi w udarze niedokrwinnym i krwotocznym mózgu w zależności od wielkości ogniska udarowego. Neurol. Neurochir. Pol. 2005; 39: 310-317.
- Biomarkers Definitions Working Group: Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. Clin. Pharmacol. Ther. 2001; 69: 89-95.
- Hill M.D., Buchan A.M.; Canadian Alteplase for Stroke Effectiveness Study (CASES) Investigators: Thrombolysis for acute ischemic stroke: results of the Canadian Alteplase for Stroke Effectiveness Study. CMAJ 2005; 172: 1307-1312.
- Hill M.D.: Diagnostic biomarkers for stroke: a stroke neurologist's perspective. Clin. Chem. 2005; 51: 2001-2002.
- Sharma B.K., Kumar K.: Role of proinflammatory cytokines in cerebral ischemia: a review. Metab. Brain Dis. 1998; 13: 1-8.
- DeGraba T.J.: The role of inflammation after acute stroke: utility of pursuing anti-adhesion molecule therapy. Neurology 1998; 51 (supl. 3): S62-S68.
- Becker K.J.: Inflammation and acute stroke. Curr. Opin. Neurol. 1998; 11: 45-49.
- Beamer N.B., Coull B.M., Clark W.M. i wsp.: Interleukin-6 and interleukin-1 receptor antagonist in acute stroke. Ann. Neurol. 1995; 37: 800-805.
- Tarkowski E., Rosengren L., Blomstrand C., Wikkelso C. i wsp.: Early intrathecal production of interleukin-6 predicts the size of brain lesion in stroke. Stroke 1995; 26: 1393-1398.
- Kostulas N., Pelidou S.H., Kivisäkk P. i wsp.: Increased IL-1 β , IL-8, and IL-17 mRNA expression in blood mononuclear cells observed in a prospective ischemic stroke study. Stroke 1999; 30: 2174-2179.
- Gołąb J., Jakóbsiak M.: Cytokiny. W: Gołąb J., Jakóbsiak M., Lasek W., Stokłosa T. (red.): Immunologia. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2007: 109-152.
- Becker K.J.: Targeting the central nervous system inflammatory response in ischemic stroke. Curr. Opin. Neurol. 2001; 14: 349-353.
- Tarkowski E., Rosengren L., Blomstrand C. i wsp.: Intrathecal release of pro- and anti-inflammatory cytokines during stroke. Clin. Exp. Immunol. 1997; 110: 492-499.
- Vila N., Castillo J., Dávalos A., Chamorro A.: Proinflammatory cytokines and early neurological worsening in ischemic stroke. Stroke 2000; 31: 2325-2329.
- Ferrarese C., Mascarucci P., Zoia C. i wsp.: Increased cytokine release from peripheral blood cells after acute stroke. J. Cereb. Blood Flow Metab. 1999; 19: 1004-1009.
- Emsley H.C.A., Tyrrell P.J.: Inflammation and infection in clinical stroke. J. Cereb. Blood Flow Metab. 2002; 22: 1399-1419.
- Spera P.A., Ellison J.A., Feuerstein G.Z., Barone F.C.: IL-10 reduces rat brain injury following focal stroke. Neurosci. Lett. 1998; 251: 189-192.
- Pelidou S.H., Kostulas N., Matusiewicz D. i wsp.: High levels of IL-10 secreting cells are present in blood in cerebrovascular diseases. Eur. J. Neurol. 1999; 6: 437-442.
- Perini F., Morra M., Alecci M. i wsp.: Temporal profile of serum anti-inflammatory and pro-inflammatory interleukins in acute ischemic stroke patients. Neurol. Sci. 2001; 22: 289-296.
- Li H.L., Kostulas N., Huang Y.M. i wsp.: IL-17 and INF- γ mRNA expression in increased in the brain and systemically after permanent middle cerebral artery occlusion in the rat. J. Neuroimmunol. 2001; 116: 5-14.
- Tomimoto H., Akiguchi I., Wakita H., Kinoshita A.: Glial expression of cytokines in the brain of cerebrovascular disease patients. Acta Neuropathol. 1996; 92: 281-287.
- Buttini M., Appel K., Sauter A. i wsp.: Expression of tumor necrosis factor alpha after focal cerebral ischaemia in the rat. Neuroscience 1996; 71: 1-16.
- Zaremba J., Skrobanski P., Losy J.: Tumour necrosis factor-alpha is increased in the cerebrospinal fluid and serum of ischaemic stroke patients and correlates with the volume of evolving brain infarct. Biomed. Pharmacother. 2001; 55: 258-263.
- Zaremba J., Losy J.: Early TNF- α levels correlate with ischaemic stroke severity. Acta Neurol. Scand. 2001; 104: 288-295.
- Carlstedt F., Lind L., Lindahl B.: Proinflammatory cytokines, measured in a mixed population on arrival in the emergency department, are related to mortality and severity of disease. J. Intern. Med. 1997; 242: 361-365.
- Fassbender K., Rossol S., Kammer T. i wsp.: Proinflammatory cytokines in serum of patients with acute cerebral isch-

- emia: kinetics of secretion and relation to the extent of brain damage and outcome of disease. *J. Neurol. Sci.* 1994; 122: 135-139.
32. Bruce A.J., Boling W., Kindy M.S. i wsp.: Altered neuronal and microglial responses to excitotoxic and ischemic brain injury in mice lacking TNF receptors. *Nat. Med.* 1996; 2: 788-794.
33. Allan S.M., Rothwell N.J.: Cytokines and acute neurodegeneration. *Nat. Rev. Neurosci.* 2001; 2: 734-744.
34. Krupinski J., Kumar P., Kumar S., Kaluza J.: Increased expression of TGF- β 1 in brain tissue after ischemic stroke in humans. *Stroke* 1996; 27: 852-857.