

УДК 616.714:616.831-001.3/.4]:612.017.1

## Особенности иммунного статуса в остром периоде черепно-мозговой травмы

Э.М. Мамытова

Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева, Бишкек, Кыргызстан

### Immunological status peculiarities in acute period of traumatic brain injury

E.M. Mamytova

Kyrgyzstan State Medical Academy, Bishkek, Kyrgyzstan

#### Аннотация

Целью работы явилось изучение влияния средне-тяжелой черепно-мозговой травмы (ЧМТ) на состояние цитокинового профиля и клеточного иммунитета в раннем посттравматическом периоде. У 28 пациентов с ЧМТ, ушибом головного мозга средней тяжести в острый период в сыворотке крови отмечалось существенное повышение концентрации IL-6,  $\gamma$ -IFN, незначительное - IL-1, IL-4 и ФНО- $\alpha$ . При первичной ЧМТ средне-тяжелой степени происходит угнетение Т-клеточного звена иммунитета, что проявлялось снижением в крови уровня Т-хелперов (CD-4+) и общих Т-лимфоцитов (CD-3+), а также активацией В-клеточного звена и натурально-киллерных субпопуляций лимфоцитов.

#### Ключевые слова

Черепно-мозговая травма, цитокины, субпопуляции лимфоцитов.

#### Summary

The author describes the results of a clinical study, the aim of which was to investigate the influence of moderate traumatic brain injury on the state of the cytokine profile and cellular immunity in the early posttraumatic period. In patients with moderate traumatic brain injury in the acute phase serum showed a significant increase in the concentration of IL-6,  $\gamma$ -IFN, a minor - IL-1, IL-4 and TNF- $\alpha$ . Moderate traumatic brain injury leads to suppression of T-cell immunity, which was manifested in a decrease in blood levels of T-helper (CD-4+) and total T-lymphocytes (CD-3+), as well as the activation of the B-cell level and natural-killer lymphocyte subpopulations.

#### Keywords

Traumatic brain injury, cytokines, lymphocytes clones.

В настоящее время следует считать доказанным вовлечение в травматический процесс иммунокомпетентной системы организма.

Нейровоспаление является одним из основных компонентов патофизиологии ЧМТ и вносит вклад как в формирование вторичных повреждений, так и в механизмы восстановления.

Воспалительный ответ, возникающий на первичное структурное изменение мозга, сопровождается высвобождением большого числа регуляторных пептидов: цитокинов (провоспалительного и противовоспалительного характера), нитроксида, протеаз, эйкозаноидов, лизоци-

ма и др. В разные фазы воспалительного процесса меняются типы клеточных взаимодействий и роль “дирижера” клеточных ансамблей переходит от одних популяций клеток к другим. При этом каждый из этапов подготавливает и запускает следующий, определяя интенсивность его реализации. Избыточное выделение потенциально нейротоксичных медиаторов - цитокинов приводит к развитию гиперергических клеточных реакций [1, 2, 3]. Цитокины синтезируются активированной макро- и микроглией, поврежденным эндотелием сосудов, а также клетками иммунной системы, мобилизованными из общей циркуляции к очагу повреждения и в соседние

с ним области вследствие изменения проницаемости гематоэнцефалического барьера. Причем, выделяемые на ранней стадии иммунного ответа цитокины, могут служить критерием, по которому можно определить тип последующего иммунного ответа [4, 5, 6]. Имеются работы по изучению цитокинового профиля при тяжелой и легкой ЧМТ и совсем не изучен данный вопрос при ЧМТ средней тяжести.

Достижения иммунологии последних 10-15 лет позволяют изучить иммунную систему более детально и важное значение на этом этапе придается состоянию клеточного звена иммунитета, а именно содержанию в крови основных субпопуляций лимфоцитов, выявляемых с помощью моноклональных антител.

При ЧМТ выделяют ряд иммунологических-синдромакомплексов: синдром вторичного иммунодефицита, аутоиммунного, аутоагрессивного ответа, асимметрии в иммунном ответе [7].

Характерной особенностью течения острого периода травматических повреждений головного мозга является развитие иммунологических дисфункций и сопутствующих им гнойно-септических осложнений. Наиболее часто выявляют развитие Т-клеточных дисфункций, зависящих от баланса про- и противовоспалительных цитокинов, описано развитие аутоиммунных реакций, изучение которых по-прежнему остается актуальной проблемой. Роль цитокинов при ЧМТ не очень хорошо выяснена, экспериментальные и клинические данные противоречивы, а механизм их действия в организме человека в отличие от животных моделей до сих пор требует глубокого изучения.

Выявление нарушений иммунного и цитокинового статуса больных и их своевременная коррекция в раннем посттравматическом периоде ЧМТ может способствовать более эффективному восстановительному периоду и повысить качество жизни пациентов.

Целью работы явилось изучение особенностей цитокинового статуса и изменений в клеточном звене иммунитета у больных в остром периоде средне-тяжелой ЧМТ.

### Материалы и методы исследования

Для достижения поставленной цели нами на базе НГ МЗ КР, отделений нейротравмы 1,2 г. Бишкек было проведено комплексное обследование 28 больных в возрасте от 21 до 50 лет с ЧМТ средней степени тяжести в остром периоде (основная группа). В 9 случаях ЧМТ была осложнена гематомами разной локализации и величины. У 6 пациентов имело место по этому поводу

оперативное вмешательство. Степень тяжести травмы была оценена по шкале ком Глазго (ШКГ) в  $(9,3 \pm 7)$  баллов. Среди травмированных было 26 мужчин и 2 женщины. Диагностика ЧМТ и ее лечение соответствовали требованиям Протокола оказания медицинской помощи при ЧМТ, утвержденным Министерством здравоохранения КР. Контрольная группа - 20 доноров, сопоставимых по полу и возрасту с больными основной группы.

Исследование состояния иммунного статуса проводили на 2-е-3-и сутки после получения ЧМТ по показателям клеточного звена иммунитета периферической крови.

Исследовали уровень цитокинов сыворотки крови (интерлейкины IL-1 $\beta$ ; IL-4; IL-6;  $\alpha$ -ФНО,  $\gamma$ -ИФН) с помощью иммуноферментных тест-систем производства фирмы «Вектор Бест» (г. Новосибирск).

Фенотипическую характеристику субпопуляций лимфоцитов выполняли с помощью моноклональных антител фирмы «Сорбент» (Россия), в непрямом иммунофлуоресцентном тесте. В работе использовали следующие моноклональные антитела: CD-3 - для определения Т-лимфоцитов; CD-4 - для определения Т-хелперов; CD-8 - для определения Т-супрессоров-цитотоксических лимфоцитов; CD-16 - для определения натуральных киллеров; CD-20 - для определения В-лимфоцитов. Полученные из крови больных мононуклеары метили моноклональными антителами, согласно рекомендации и инструкции фирмы-изготовителя в объеме 0,1 мл. Учитывали реакции на проточном цитофлуориметре Becton Dickinson.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программ статобработки для персонального компьютера с определением  $M \pm m$  и показателя статистической достоверности (P).

### Результаты и их обсуждение

Как видно из полученных данных (Табл. 1), у больных в остром периоде ЧМТ средней тяжести уровень секреции ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-4 и ИФН отличается от такового у здоровых доноров. Статистически достоверно определено повышение уровней провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ФНО- и ИЛ-6, ИФН и повышение уровня противовоспалительного цитокина ИЛ-4.

Содержание ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови было повышенным в 2,3 раза ( $P < 0,001$ ) при сравнении с показателями здоровых добровольцев, равнялось  $(7,6 \pm 1)$  пг/мл, что, очевидно, было связано с особенностями этого цитокина как

«стартового» при любом воспалении [8].

Концентрация ИЛ-4 тоже повышалась до  $(3,4 \pm 1)$  пг/л, или в 2,6 раза и отличалась от значений практически здоровых лиц ( $P < 0,05$ ), что могло быть объяснено активацией противовоспалительных стимулов в ответ на растущие провоспалительные воздействия [8].

Концентрация ИЛ-6 отмечалась повышенной в 5,9 раза относительно уровня здоровых лиц, достигала  $(13,7 \pm 2,3)$  пг/мл ( $P < 0,001$ ).

Значения содержания  $\gamma$ -IFN в сыворотке крови исследованных больных были значительно выше референтной нормы - в 6,9 раза ( $P < 0,001$ ).

Содержание ФНО-увеличилось в 2,5 раза по сравнению с референтной нормой ( $P < 0,01$ ).

Таким образом, у пациентов с ЧМТ - ушибом головного мозга средней тяжести, в острый период в сыворотке крови отмечалось существенное повышение концентрации ИЛ-6,  $\gamma$ -IFN, незначительное - ИЛ-1, ИЛ-4 и ФНО-.

Полученные данные свидетельствуют о том, что иммунный ответ при средне-тяжелой черепно-мозговой травме (СЧМТ) сопровождается активацией синтеза как про-, так и противовоспалительных цитокинов с большим сдвигом в сторону провоспалительных.

В результате проведенных исследований установили, что у больных с ЧМТ средней тяжести имеются определенные нарушения в системе клеточного и гуморального звена иммунитета

(Табл. 2).

Содержание Т-хелперов (CD-4+) и общих Т-лимфоцитов (CD-3+) положительных клеток и у больных с ЧМТ было снижено и составляло  $(18,7 \pm 1)$  и  $(31,6 \pm 1,4)\%$ , тогда как содержание данных субпопуляций лимфоцитов в контрольной группе составляло  $(32 \pm 0,9)$  и  $(40,5 \pm 1,3)\%$ . Такое снижение могло быть связано со стресс-реакцией, при которой повышенная концентрация глюкокортикоидов вызывает апоптоз лимфоидных компонентов, а катехоламины способствуют хоумингу лимфоцитов в ткани [9, 10].

Кроме того, снижение в крови уровня CD-4 и CD-3 клеток свидетельствует о том, что стресс-реализующие факторы, которые возникают при любой травме, приводят к подавлению этих клеток, что способствует формированию селективной иммунной недостаточности, при которой возможна активация оппортунистических инфекций микробно-вирусной этиологии [1].

При ЧМТ отмечали повышение уровня CD-8 лимфоцитов до  $(14,3 \pm 0,8)\%$ , что было также достоверно выше, чем в контроле.

Известно, что мишенью для атак CD-8 являются клетки, зараженные вирусами или содержащие на поверхности бактерии. Повышение числа CD-8, очевидно, свидетельствует об активации способности цитотоксических лимфоцитов к инактивации инфицированных клеток организма.

**Таблица 1. Уровень цитокинов в сыворотке крови больных в остром периоде ЧМТ (пг/мл)**

Показатель (пг/мл)	Группы исследуемых	
	Острый период ЧМТ N=28	Здоровые доноры N=20
ИЛ-1 $\beta$	$7,6 \pm 1$ ( $P < 0,001$ )	$3,3 \pm 0,4$
ИЛ-4	$3,4 \pm 1$ ( $P < 0,001$ )	$1,3 \pm 0,2$
ИЛ-6	$13,7 \pm 2,3$ ( $P < 0,001$ )	$3 \pm 0,4$
ИФН- $\gamma$	$63,7 \pm 5,3$ ( $P < 0,001$ )	$9,2 \pm 0,5$
ФНО- $\alpha$	$6,8 \pm 1,5$ ( $P < 0,001$ )	$2,6 \pm 0,35$

**Таблица 2. Содержание основных субпопуляций лимфоцитов в крови больных с ЧМТ**

Группа наблюдений	Число наблюдений	CD3	CD4	CD8	CD16	CD20
Больные с ЧМТ	28	$31,6 \pm 1,4$ ( $P < 0,001$ )	$18,7 \pm 1$ ( $P < 0,001$ )	$14,3 \pm 0,8$ ( $P < 0,01$ )	$16,3 \pm 1$ ( $P < 0,001$ )	$18,8 \pm 0,8$ ( $P < 0,02$ )
Доноры	20	$40,5 \pm 1,3$	$32 \pm 0,9$	$11,8 \pm 0,4$	$5 \pm 0,2^*$	$16 \pm 0,9$

Содержание в крови В-лимфоцитов (CD-20+) было увеличено по сравнению с контролем и составило  $(18,8 \pm 0,8)\%$ , в контроле -  $(16 \pm 0,9)\%$ . Различия достоверны, что свидетельствует о вовлечении в патологический процесс гуморального звена иммунитета.

Содержание в крови естественных киллерных клеток CD-16+ лимфоцитов у больных с ЧМТ достоверно повышалось до  $(16,3 \pm 1)\%$ , что почти в 3 раза больше по сравнению с контролем (здоровые лица). Известно, что CD-16+ лимфоциты являются ответственными за естественную резистентность организма к опухолевым и измененным вирусам клеткам, к возбудителям инфекционных заболеваний, в частности вирусам, простейшим.

Изучение показателей клеточного звена иммунитета в остром периоде ЧМТ показало снижение уровня Т-лимфоцитов (CD-3+) положительных клеток и Т-хелперов, в то время как уровень киллерных клеток, CD-8 лимфоцитов и В-лимфоцитов был повышен.

Таким образом, ЧМТ оказывает воздействие на клеточный иммунный ответ, вызывает снижение или повышение уровня определенных субпопуляций лимфоцитов, что свидетельствует о разнонаправленном супрессивном стимулирующем действии факторов травмы на иммунитет.

Выявленные различия в составе основных субпопуляций лимфоцитов указывают на неодинаковое их участие в патогенезе травматической болезни мозга. При среднетяжелой ЧМТ в процесс вовлекаются как Т-клеточные, так и В-лимфоцитозависимые гуморальные, аутоан-

тителопродуцирующие иммунные реакции.

В отличие от контрольной группы при ЧМТ уменьшается содержание Т-лимфоцитов, что говорит о Т-лимфопении, а количество В-лимфоцитов имеет даже тенденцию к у повышению, что может косвенно подтверждать более интенсивное развитие аутоиммунных реакций гуморального типа, а именно аутоантител, что уже отмечали некоторые авторы [11].

Это объясняет рост инфекционно-воспалительных осложнений в указанный период [12] и прогрессивное течение в большинстве случаев первичной травмы [13].

### Выводы

1. Таким образом, у пациентов с ЧМТ - ушибом головного мозга средней тяжести, в острый период в сыворотке крови отмечалось существенное повышение концентрации ИЛ-6,  $\gamma$ -IFN, незначительное - ИЛ-1, ИЛ-4 и ФНО- $\alpha$ .
2. При первичной ЧМТ средне-тяжелой степени происходит угнетение Т-клеточного звена иммунитета, что проявляется снижением в крови уровня Т-хелперов и (CD-3+) положительных клеток, а также активацией В-клеточного звена и натурально-киллерных субпопуляций лимфоцитов.

### Литература

1. Акмаев И.Г. Нейроиммуноэндокринология: Факты и гипотезы. Журнал проблемы эндокринологии. 1997; N1: 3-8.
2. Борщенко И.А., Басков А.В., Коршунов А.Г., Сатанова Ф.С. Некоторые аспекты патофизиологии травматического повреждения и регенерации спинного мозга. Вопр. нейрохир. 2000; N2: 28-31.
3. Горбунов В.И., Лихтерман Л.Б., Ганнушкина И.В. Иммунопатология травматической болезни головного мозга. Ульяновск: СВНУ, 1996, 258 с.
4. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Журавлева Е.Ю., Яковлева Е.В. Механизмы повреждения ткани мозга на фоне острой фокальной ишемии. Журн. неврол. и псих. 1999; N5: 55-61.
5. Иммунная система головного мозга. Под ред. Н.И. Лисяного. Киев, "ВИПОЛ", 1999.
6. Малашиха Ю.А., Сепешвили Р.И., Надареишвили З.Г., Малашиха Н.Ю. Проблемы иммунологической памяти и перспективы реабилитации. Int J Immunorehabil 1996, N2: 53-8.

7. Пичугина Л.В., Пинегин Б.В. Внутриклеточные цитокины: проблемы детекции и клиническое значение. Иммунология 2008; №1: 55-63.
8. Скворцова В.И., Насонов Е.Л., Журавлева Е.Ю., Гривенников И.А., Арсеньева Е.Л. и др. Клиникоиммунобиохимический мониторинг факторов локального воспаления в остром периоде полушарного ишемического инсульта. Журн. неврол. и псих. 1999; N5: 27-31.
8. Bullock R., Landolt H., Axwell W.L., Fujisawa H. Massive astrocytic swelling in response to extracellular glutamate - a possible mechanism for post traumatic brain swelling? ActaNeurochirurgica. 1994; Vol. 60: 465-7.
9. Goss JR., Taffe KM., Kochanek PM., DeKosky ST. The antioxidant enzymes glutathione peroxidase and catalase increase following traumatic brain injury in the rat. Exp Neurol. 1997; Vol. 146; N1: 291-4.
10. Gourin CG., Shackford SR. Production of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta by human cerebral microvascular endothelium after percussive trauma. J Trauma.

1997; Vol. 42; N6: 1101-7.

11. Shohami E., Bass R., Wallach D., Yamin A., Gallily R. Inhibition of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) activity in rat brain is associated with cerebroprotection after closed head injury. J Cereb Blood Metab. 1996; Vol.16; N3: 378-84.

12. Terreni L., De Simoni MG. Role of the brain in interleukin-6

modulation. Neuroimmunomodulation. 1998; Vol. 5; N3-4: 214-9.

#### Сведения об авторах:

Мамытова Эльмира Миталиповна, к.м.н, доцент кафедры нервных болезней с курсом медицинской генетики КГМА им. И.К. Ахунбаева, тел: 0551325314, [elmiramamytova@yahoo.com](mailto:elmiramamytova@yahoo.com)