

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

ОСОБЕННОСТИ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

Э.М. Мамытова, Э.С. Майназарова, А.Т. Жусупова

Представлены результаты клинического исследования, целью которого явилось изучение влияния среднетяжелой ЧМТ на состояние цитокинового профиля и клеточного иммунитета в раннем посттравматическом периоде.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма; цитокины; субпопуляции лимфоцитов.

IMMUNOLOGICAL DYSFUNCTION PECULIARITIES IN ACUTE PERIOD OF TRAUMATIC BRAIN INJURY

E.M. Mamytova, E.S. Maynazarova, A.T. Jusupova

There were presented results of clinical research, the aim of which was to study an influence of moderate traumatic brain injury on cytokines and the cellular immunity in early posttraumatic period.

Key words: traumatic brain injury; cytokines; lymphocytes clones.

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

Нейровоспаление является одним из основных компонентов патофизиологии черепно-мозговой травмы (ЧМТ) и вносит свой 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, лизоцима 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 [1–4] – цитокинов – приводит к развитию гиперергических клеточных реакций [5–7]. 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.

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 синдромокомплексов: синдром вторичного иммунодефицита, аутоиммунного, аутоагрессивного ответа, асимметрии в иммунном ответе [8].

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, зависимых 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 среднетяжелой ЧМТ.

Материалы и методы исследования. Для достижения поставленной цели нами на базе НГ МЗ КР, отделений нейротравмы 1 и 2 г. Бишкек было проведено комплексное обследование 28 больных в возрасте от 21 до 70 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 по этому поводу имело место оперативное вмешательство. Степень тяжести травмы была оценена по шкале ком Глазго (ШКГ) в $(9,3 \pm 0,7)$ баллов. Среди травмированных было 26 мужчин и 2 женщины. Диагностика ЧМТ и их 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 2–3-и сутки после получения ЧМТ по показателям клеточного звена иммунитета периферической крови.

Исследовали уровень цитокинов сыворотки крови (интерлейкины IL-1 β ; IL-4; IL-6; α -ФНО, γ -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: СД-3 – для определения Т-лимфоцитов; СД-4 – для определения Т-хелперов; СД-8 – для определения Т-супрессоров-цитотоксических лимфоцитов; СД-16 – для определения натуральных киллеров; СД-20 – для определения В-лимфоцитов. Полученные из крови больных мононуклеары ме-

тили 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 статистической обработки для персонального компьютера с определением $M \pm m$ и показателя статистической достоверности (P).

Результаты и их обсуждение. Как видно из полученных данных (таблица 1), у больных в остром периоде ЧМТ средней тяжести уровень секреции ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-4 и ИФН отличается от такового у здоровых доноров. Статистически достоверно определено повышение уровней провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ФНО- α и ИЛ-6, ИФН и противовоспалительного цитокина ИЛ-4.

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

Показатель	Группы исследуемых	
	острый период ЧМТ, N = 28	здоровые доноры, N = 20
ИЛ-1 β	7,6 \pm 1	3,3 \pm 0,4 (P<0,001)
ИЛ-4	3,4 \pm 1	1,3 \pm 0,2 (P<0,001)
ИЛ-6	13,7 \pm 2,3	3 \pm 0,4 (P<0,001)
ИФН	63,7 \pm 5,3	9,2 \pm 0,5 (P<0,001)
ФНО- α	6,8 \pm 1,5	2,6 \pm 0,35 (P<0,001)

Содержание IL-1 β в сыворотке крови было повышенным в 2,3 раза (P < ,001) от показателя нормы, равнялось $(7,6 \pm 1)$ пг/мл, что, очевидно, было связано с особенностями этого цитокина как “стартового” при любом воспалении [9].

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

Концентрация IL-4 тоже повышалась до $(3,4 \pm 1)$ пг/л, или в 2,6 раза от значений практически здоровых лиц (P < 0,05), что могло быть объяснено активацией противовоспалительных стимулов в ответ на растущие провоспалительные воздействия [9].

Концентрация IL-6 отмечалась повышенной в 5,9 раза от уровня здоровых лиц, достигала $(13,7 \pm 2,3)$ пг/мл (P < 0,001). Содержание ФНО- α увеличилось в 2,5 раза по сравнению с нормой (P < 0,01).

Таким образом, у пациентов с ЧМТ – ушибом головного мозга средней тяжести, в острый период в сыворотке крови отмечалось существенное

Таблица 2 – Содержание основных субпопуляций лимфоцитов в крови больных с ЧМТ

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

повышение концентрации IL-6, γ -IFN, незначительное – IL-1, ИЛ-4 и ФНО- α .

Полученные данные свидетельствуют о том, что иммунный ответ при 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 имеются определенные нарушения в системе клеточного и гуморального звена иммунитета (таблица 2).

Содержание Т-хелперов (CD-4+) и Т-лимфоцитов (CD-3+) положительных клеток и у больных с ЧМТ было снижено и составляло 18,7 ± 1 и 31,6 ± 1,4 %, тогда как содержание данных субпопуляций лимфоцитов в контрольных значениях составляло 32 ± 0,9 и 40,5 ± 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 [10, 11].

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.

При ЧМТ отмечали повышение уровня CD-8 лимфоцитов, который составлял 14,3 ± 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 инаktivации инфицированных клеток организма.

Содержание в крови В-лимфоцитов (CD-20+) было увеличено по сравнению с контролем и составило 18,8 ± 0,8 %, в контроле – 16 ± 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 ± 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 вирусами 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, аутоантителопродуцирующие 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 повышению, что может косвенно подтверждать более интенсивное развитие аутоиммунных реакций гуморального типа, а именно аутоантител, что уже отмечали некоторые авторы [12].

Это объясняет рост инфекционно-воспалительных осложнений в указанный период [8] и прогрессирующее течение в большинстве случаев первичной травмы [13].

Выводы.

1. У пациентов с ЧМТ – ушибом головного мозга средней тяжести, в острый период в сыворотке крови отмечалось существенное повышение концентрации IL-6, γ -IFN, незначительное – IL-1, ИЛ-4 и ФНО- α .

2. При первичной ЧМТ среднетяжелой степени происходит угнетение Т-клеточного звена иммунитета, что проявляется снижением в крови уровня Т-хелперов и (СД-3+) положительных клеток и активацией В-клеточного звена и натурально-киллерных субпопуляций лимфоцитов.

Литература

1. Акмаев И.Г. Нейроиммуноэндокринология: Факты и гипотезы / И.Г. Акмаев // Проблемы эндокринологии. 1997. № 1. С. 3–8.
2. Борщенко И.А. Некоторые аспекты патофизиологии травматического повреждения и регенерации спинного мозга / И.А. Борщенко, А.В. Басков, А.Г. Коршунов и др. // Вопр. нейрохирургии. 2000. № 2. С. 28–31.
3. Скворцова В.И. Клиникоиммунобиохимический мониторинг факторов локального воспаления в остром периоде полушарного ишемического инсульта / В.И. Скворцова, Е.Л. Насонов, Е.Ю. Журавлева и др. // Журн. неврол. и псих. 1999. № 5. С. 27–31.
4. Гусев Е.И. Механизмы повреждения ткани мозга на фоне острой фокальной ишемии / Е.И. Гусев, В.И. Скворцова, Е.Ю. Журавлева и др. // Журн. неврол. и псих. 1999. № 5. С. 55–61.
5. Имунная система головного мозга / под ред. Н.И. Лисяного. Киев: ВИПОЛ, 1999.
6. Малашиха Ю.А. Проблемы иммунологической памяти и перспективы реабилитации / Ю.А. Малашиха, Р.И. Сепеашвили, З.Г. Надареишвили и др. // Int J Immunorehabil 1996; N 2:53–8.
7. 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? Acta Neurochirurgica. 1994; Vol. 60:465–7.
8. Gourin C.G., Shackford S.R. Production of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1-beta by human cerebral microvascular endothelium after percussive trauma // J Trauma. 1997; Vol. 42; N 6:1101–7.
9. Пичугина Л.В. Внутриклеточные цитокины: проблемы детекции и клиническое значение / Л.В. Пичугина, Б.В. Пинегин // Иммунология. 2008. № 1. С. 55–63.
10. Goss J.R., Taffe K.M., Kochanek P.M., DeKosky S.T. The antioxidant enzymes glutathione peroxidase and catalase increase following traumatic brain injury in the rat. // Exp Neurol. 1997; Vol. 146; N 1:291–4.
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 M.G. Role of the brain in interleukin-6 modulation // Neuroimmunomodulation. 1998; Vol. 5; N3–4:214–9.
13. Горбунов В.И. Иммунопатология травматической болезни головного мозга / В.И. Горбунов, Л.Б. Лихтерман, И.В. Ганнушкина. Ульяновск: СВНУ, 1996. 258 с.