



# Особенности иммунных нарушений в остром периоде черепно-мозговой травмы

Э.М. Мамытова

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

В статье представлены результаты изучения цитокинового статуса и изменений в клеточном звене иммунитета у 28 больных с черепно-мозговой травмой (ЧМТ) различной степени тяжести в остром периоде.

Установлено, что уровень цитокинов сыворотки крови (интерлейкины IL-1 $\beta$ ; IL-4; IL-6;  $\alpha$ -ФНО,  $\gamma$ -ИФН) отличается от такового у здоровых доноров. Статистически достоверно определено повышение уровней провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  (в 2,3 раза,  $7,6 \pm 1,0$  пг/мл),  $\alpha$ -ФНО (в 2,5 раза), IL-6 (в 5,9 раза,  $13,7 \pm 2,3$  пг/мл),  $\gamma$ -ИФН (в 6,5 раза) и противовоспалительного цитокина IL-4 (в 2,6 раза, до  $3,4 \pm 1,0$  пг/л).

Изучение показателей клеточного звена иммунитета в остром периоде ЧМТ показало снижение уровня Т-лимфоцитов (CD3+) положительных клеток Т-хелперов, в то время как уровень киллерных клеток, CD8 лимфоцитов и В-лимфоцитов был повышен.

При первичной ЧМТ среднетяжёлой степени происходит угнетение Т-клеточного звена иммунитета, что проявляется снижением в крови уровня Т-хелперов и CD3 положительных клеток и активацией В-клеточного звена и натурально-киллерных субпопуляций лимфоцитов.

**Ключевые слова:** черепно-мозговая травма, цитокины, субпопуляции лимфоцитов

**Введение.** В настоящее время следует считать доказанным вовлечение в травматический процесс иммунокомпетентной системы организма [1,2].

Нейровоспаление является одним из основных компонентов патофизиологии черепно-мозговой травмы (ЧМТ) и вносит вклад как в формирование вторичных повреждений, так и в механизмы восстановления [3,4].

Воспалительный ответ, возникающий на первичное структурное изменение мозга, сопровождается освобождением большого числа регуляторных медиаторов: цитокинов (провоспалительного и противовоспалительного характера), нитроксида, простагландинов, эйкозаноидов, лизоцима и др. В разные фазы воспалительного процесса меняются типы клеточных взаимодействий и роль «дирижёра» 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 [3–8]. Цитокины синтезируются активированной макро- и микроглией, повреждённым эндотелием сосудов, а также клетками иммунной системы, мобилизован-

ными из общей циркуляции к очагу повреждения и в соседние с ним области, вследствие изменения проницаемости гематоэнцефалического барьера. Причём, 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 тяжёлой и лёгкой 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 придаётся 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 [9].

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 дис-



функций, зависящих от баланса про- и противовоспалительных цитокинов, описано развитие аутоиммунных реакций, изучение которых по-прежнему остаётся 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.

**Цель исследования:** изучение особенностей цитокинового статуса и изменений в клеточном звене иммунитета у больных в остром периоде среднетяжёлой степени черепно-мозговой травмы.

**Материал и методы.** Для достижения поставленной цели, нами на базе 1,2 отделений нейротравмы НГ МЗ КР (г.Бишкек) было проведено комплексное обследование 28 больных с ЧМТ средней степени тяжести в остром периоде (основная группа), из них 26 мужчин и 2 женщины, в возрасте от 21 до 65 лет. В 9 случаях ЧМТ была осложнена гематомами различной локализации и величины. У 6 пациентов имело место по этому поводу оперативное вмешательство.

В качестве контрольной группы были обследованы 20 доноров, сопоставимых по полу и возрасту с больными основной группы.

Диагностика ЧМТ и её лечение соответствовали требованиям Протокола оказания медицинской помощи при ЧМТ, утверждённым Министерством здравоохранения КР.

Исследование состояния иммунного статуса проводили на вторые и третьи сутки после получения ЧМТ, методом 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 иммунофлюоресцентном тесте. В работе использовали следующие моноклональные антитела: СД3 – для определения Т-лимфоцитов; СД4 – для Т-хелперов; СД8 – для Т-супрессоров-цитотоксических лимфоцитов; СД16 – для натуральных киллеров; СД20 – для В-лимфоцитов. Моноклеары метил и моноклональных антител, полученные из крови больных, согласно

рекомендации и инструкции фирмы изготовителя в объёме 0,1 мл, учитывали их реакции на проточном цитофлюориметре Becton Dickinson.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного пакета для персонального компьютера с определением  $M \pm m$  – средняя арифметическая,  $m$  – стандартное отклонение. Для оценки различий между показателями использовали t-критерий Стьюдента.

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

Содержание IL-1 $\beta$  в сыворотке крови было повышенным в 2,3 раза ( $P < 0,001$ ) от показателя нормы, равнялось  $7,6 \pm 1,0$  пг/мл, что, очевидно, было связано с колебаниями этого цитокина как «стартового» при любом воспалении [15].

**ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ЧМТ**

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

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

Концентрация IL-4 тоже повышалась до  $3,4 \pm 1,0$  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 [15].

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



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±1,4 (P<0,001)	18,7±1,0 (P<0,001)	14,3±0,8 (P<0,01)	16,3±1,0 (P<0,001)	18,8±0,8 (P<0,02)
Доноры	20	40,5±1,3	32,0±0,9	11,8±0,4	5,0±0,2	16,0±0,2

Таким образом, у 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  $\alpha$ -ФНО.

Полученные данные свидетельствуют о том, что иммунный ответ при сочетанной ЧМТ сопровождается активацией синтеза как про-, так и противовоспалительных цитокинов с большим сдвигом в сторону провоспалительных.

В результате проведённых исследований установили, что у больных с ЧМТ имеются определённые нарушения в системе клеточного и гуморального звена иммунитета (табл. 2).

Содержание Т-хелперов (CD4+) и Т-лимфоцитов (CD3+) положительных клеток и у больных с ЧМТ было снижено (18,7±1,0 и 31,6±1,4%, соответственно), тогда как содержание данных субпопуляций лимфоцитов в контрольных значениях составляло 32,0±0,9 и 40,5±1,3%. Такое снижение связано со стресс-реакцией, при которой повышенная концентрация глюкокортикоидов вызывает апоптоз лимфоидных компонентов, а катехоламины способствуют хоуминг лимфоцитов в ткани [10,11].

Кроме того, снижение в крови уровня CD4 и CD3 клеток свидетельствует о том, что стрессреализующие 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 природы.

Также отмечали повышение уровня CD8 лимфоцитов, который составлял 14,3±0,8%, что было также достоверно выше, чем в контроле.

Известно, что мишенью для атак CD8 являются клетки, заражённые вирусами или содержащие на поверхности бактерии. Повышение числа CD8, очевидно, свидетельствует об активации способности цитотоксических лимфоцитов к инаktivации инфицированных клеток организма.

Содержание в крови В-лимфоцитов (CD20+) было увеличено по сравнению с контролем и составило 18,8±0,8%, в контроле – 16,0±0,2%. Различия статистически значимы, что свидетельствует о вовлечении в патологический процесс гуморального звена иммунитета.

Содержание в крови естественных киллерных клеток CD16+ лимфоцитов у больных с ЧМТ достоверно повышалось до 16,3±1,0%, что почти в 3 раза больше по сравнению с контролем (здоровые лица). Известно, что CD16+ лимфоциты являются ответственными за естественную резистентность организма к оппортунистическим и изменённым вирусам, к возбудителям инфекционных заболеваний, в частности вирусам, простейшим.

Изучение показателей клеточного звена иммунитета в остром периоде ЧМТ показало снижение уровня Т-лимфоцитов (CD3+) положительных клеток и Т-хелперов, в то время как уровень киллерных клеток, CD8 лимфоцитов и В-лимфоцитов был повышен.

Таким образом, ЧМТ оказывает воздействие на клеточный иммунный ответ, вызывает снижение или повышение уровня определённых 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 степени 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 [13] и прогрессивное течение в большинстве случаев первичной травмы [14].

Таким образом, у 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, ИЛ-4 и  $\alpha$ -ФНО.

При первичной ЧМТ среднетяжёлой степени происходит угнетение Т-клеточного звена иммунитета, что проявляется снижением в крови уровня Т-хелперов и СД3 положительных клеток и активацией В-клеточного звена и натурально-киллерных субпопуляций лимфоцитов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Kinetics of plasma cytokines and its clinical significance in patients with severe trauma / J.Jiang, K.Tian, H.Chen, P.Zhu, Z.Wang // J. Chin Med (Engl). – 2003; Vol. 110; N12:923-6.
2. Shohami E. Cytokine production in the brain following closed head injury: dexanabinol (HU-211) is a novel TNF-alpha inhibitor and an effective neuroprotectant / E.Shohami [et al.] // Neuroimmunol. – 1997; Vol.72; 2:169-77.
3. Акмаев И.Г. Нейроиммуноэндокринология: факты и гипотезы / И.Г.Акмаев // Журнал «Проблемы эндокринологии». – 2004. – №1. – С.3-8.
4. Некоторые аспекты патофизиологии травматического повреждения и регенерации спинного мозга / И.А.Борисов, А.В.Басков, А.Г.Коршунов, Ф.С.Сатанова // Восточный нейрохир. - 2000. - № 2. - С.28-31.
5. Скворцова В.И. Клинико-иммунобиохимический мониторинг факторов локального воспаления в остром периоде полушарного ишемического инсульта / В.И.Скворцова [и др.] // Журн. неврол. и псих. – 2001; N5:27-31.
6. Gourin C.G. Production of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta by human cerebral microvascular endothelium after percussive trauma / C.G.Gourin, S.R.Shackford // J. Trauma. – 1997; Vol. 42; N6:1101-7.
7. Пичугина Л.В. Внутриклеточные цитокины: проблемы детекции и клиническое значение / Л.В.Пичугина, Б.В.Пинегин // Иммунология. – 2008. – № 1. – С. 55-63.
8. The antioxidant enzymes glutathione peroxidase and catalase increase following traumatic brain injury in the rat / J.R.Goss, K.M.Taffe, P.M.Kochanek, S.T.DeKosky // Exp. Neurol. – 2003; Vol. 146; N1:291-4.
9. Shohami E. Inhibition of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) activity in rat brain associated with cerebroprotection after closed head injury / E.Shohami [et al.] // Cell. Mol. Biol. Biotechnol. – 1996; Vol.16; N3:378-84.
10. Terreni L. Role of the brain in interleukin-6 modulation of neuroimmunomodulation / L.Terreni, M.G.DeGeronzi // – 2003; Vol. 5; N3-4:214-9.
11. Механизмы повреждения ткани мозга на фоне острой локальной ишемии / Е.И.Гусев, В.И.Скворцова, Е.Ю.Журавлёва, Е.В.Яковлева // Журн. неврол. и психол. – 1999. – №5. – С.55-61.
12. Горбунов В.И. Иммунопатология травматической болезни головного мозга / В.И.Горбунов, Л.Б.Лихтерман, И.В.Ганнушкина. – Ульяновск: СВНУ. – 2001. – 258 с.



# Summary

## Features of immune disorders in acute phase of traumatic brain injury

E.M. Mamytova

Kyrgyz State Medical Academy named after I.K. Akhunbaev, Bishkek, Kyrgyzstan

The results of a study of cytokine status and changes in cellular immunity in 28 patients with traumatic brain injury (TBI) of moderate severity in acute period are presented in article.

The level of serum cytokines (interleukins IL-1 $\beta$ ; IL-4; IL-6;  $\alpha$ -TNF,  $\gamma$ -IFN) differs from that of healthy donors. Statistically significant is defined the increasing of pro-inflammatory cytokines levels IL-1 $\beta$  (2,3 fold,  $7,6 \pm 1,0$  pg/ml),  $\alpha$ -TNF (2,5-times), IL-6 (5,9 times,  $2,3$  pg/ml),  $\gamma$ -IFN (6,9 times), and anti-inflammatory cytokine IL-4 (2,6 times to  $3,4 \pm 1,0$  pg/l).

Study of cellular immunity in acute TBI shows the levels reduction of T-lymphocytes (CD3+) positive cells and T-helper cells, while the level of killer cells, CD8 lymphocytes and B-lymphocytes was increased.

In primary moderately severe TBI occurs suppression of T-cell immunity that manifested by reduced blood levels of T-helper cells and CD3-positive cells and the activation of B-cell level and natural-killer lymphocyte subpopulations.

**Key words:** brain injury, cytokines, lymphocyte subpopulations

### АДРЕС ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Мамытова Эльмира Миталиповна – доцент кафедры нервных болезней с курсом медицинской генетики КГМА им. И.К. Ахунбаева; Кыргызстан, г.Бишкек, ул. Ахунбаева, 92  
E-mail: [elmiramamytova@yahoo.com](mailto:elmiramamytova@yahoo.com)