

УДК 616.831-001.31:612.017.1

**НАРУШЕНИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ
С ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ
И ПУТИ КОРРЕКЦИИ ДАННОГО СОСТОЯНИЯ**

Э.М. Мамытова, М.М. Мамытов, Э.С. Майназарова

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

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

**LESION OF IMMUNE RESPONSE IN PATIENTS
WITH TRAUMATIC BRAIN INJURIES
AND WAYS OF CORRECTION OF THE DISORDER**

E.M. Mamytova, M.M. Mamytov, E.S. Maynazarova

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

Key words: traumatic brain injury; cytokines; lymphocyte subsets; Cerebrolysin.

Актуальность. Нейровоспаление является одним из основных компонентов патофизиологии ЧМТ и вносит вклад как в формирование вторичных повреждений, так и в механизмы восстановления. 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 также развитие аутоиммунных реакций, изучение которых по-прежнему остается актуальной проблемой. 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. ЧМТ приводит к существенным побочным эффектам, связанным со снижением функциональной активности иммунокомпетентных клеток. С учетом того, что одной из причин расстройств иммунитета у больных с ЧМТ является нарушение

регулирующей функции ЦНС, в настоящее время разрабатываются принципы нейроиммунокоррекции и нейроиммунотерапии. Нейроиммунокоррекция представляет собой воздействие на патологически измененную нейроиммунную систему с целью ее восстановления и складывается из комплекса мер, повышающих и нормализующих активность нейроиммунной системы в условиях поражения центральной нервной системы [1]. Для такой нормализации применяется комплекс мер, состоящих из коррекции гормонального статуса, недостаточности гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы, метаболической нейропротекции (антигипоксанты, антиоксиданты и нейротрофические лекарственные препараты), цитокинотерапии, а также иммунокоррекции индивидуально подобранными иммунопрепаратами, прежде всего иммуномодуляторами [2]. Одним из препаратов, обладающих нейроиммунокорректирующим действием, является Церебролизин ("Ebewe", Австрия), поскольку он содержит удачную комбинацию нейроактивных аминокислот, микроэлементов и нейропептидов с нейротрофическими и иммуномодулирующими свойствами [2, 3].

Цель исследования – изучение реакции иммунной системы на ЧМТ, а также терапевтического действия Церебролизина у больных в остром периоде среднетяжелой 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 70 лет с ЧМТ средней степени тяжести в остром периоде. Основную группу составили пациенты, которые получали базовую терапию с добавлением к ней нейропротектора Церебролизин по 10 мл, вводимого внутривенно капельно в 200 мл физиологического раствора в течение 10 дней. Исследование состояния иммунного статуса проводили на 1–10-е сутки с момента начала терапии по показателям клеточного звена иммунитета периферической крови. Из 20 пациентов в 6 случаях ЧМТ была осложнена гематомами разной локализации и величины. У 4 пациентов имело место по этому поводу оперативное вмешательство. Степень тяжести травмы была оценена по шкале ком Глазго (ШКГ) в (9,3 ± 0,7) баллов. Среди травмированных было 26 мужчин и 2 женщины. Диагностика ЧМТ и ее лечение соответствовали требованиям Протокола оказания медицинской помощи при ЧМТ, утвержденного Министерством здравоохранения КР. Контрольная группа – 20 доноров, сопоставимых по полу и возрасту с больными основной группы.

Исследование состояния иммунного статуса и цитокинового профиля проводили до и после лечения Церебролизин на 1-е и 10-е сутки. Уровень цитокинов сыворотки крови (интерлейкины IL-1 β ; IL-4; IL-6; α -ФНО, γ -ИФН) исследовали 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, ИРИ – для определения иммунорегуляторного индекса. Полученные из крови больных мононуклеары метили моноклональными антителами, согласно рекомендации и инструкции фирмы-изготовителя в объеме 0,1 мл. Учитывали реакции на точном 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 обсуждение. Содержание IL-1 β в сыворотке крови до лечения Церебролизином было повышенным в 2,7 раза ($P < 0,01$) от показателя нормы и равнялось $9,1 \pm 2,0$ пг/мл, что, очевидно, было связано с особенностями этого цитокина как “стартового” при любом воспалении [4]. Через 10 дней лечения концентрация этого цитокина снизилась незначительно по сравнению с исходными значениями до $7,3 \pm 1,6$ пг/мл. Концентрация IL-4 в сыворотке крови, определенная до лечения, повышалась незначительно до $2,0 \pm 0,5$ пг/л и не отличалась статистически достоверно от значений практически здоровых лиц ($P < 0,1$). Через 10 дней после проведенного лечения Церебролизином в отличие от реакции других (провоспалительных) цитокинов уровень ИЛ-4 повысился до $2,8 \pm 0,4$ пг/л и стал в 2,1 раза выше референтной нормы, хотя и не отличался статистически достоверно от исходных значений. Это может быть объяснено иммуномодулирующим влиянием Церебролизина на активацию противовоспалительных стимулов в ответ на растущие провоспалительные воздействия [5]. Концентрация IL-6 до лечения отмечалась значительно повышенной в 7 раз от уровня здоровых лиц, достигала $21,2 \pm 5,0$ пг/мл ($P < 0,001$), а через 10 дней лечения повысилась по сравнению с исходной до $28,7 \pm 13,6$ пг/л. Такое повышение указывает на более выраженную активацию синтеза IL-6 и, следовательно, более широкое вовлечение его в воспалительный процесс при ЧМТ. ИЛ-6 является цитокином вторичного каскада, синтез которого запускается ФНО- α и IL-1 β . Основными функциями ИЛ-6 является запуск антителообразования В-лимфоцитами и индукция острофазного воспалительного ответа: выработка гепатоцитами печени белков острой фазы воспаления [4].

Динамика цитокинов в сыворотке крови больных с ЧМТ средней тяжести на фоне лечения Церебролизином (пг/мл) указана в таблице 1.

Значения содержания γ -IFN в первые дни после травмы в сыворотке крови исследованных больных были значительно выше референтной нормы в 8,6 раза $79,6 \pm 16,2$ пг/мл ($P < 0,001$). На 10-е сутки после лечения происходило понижение содержания γ -IFN до $69,3 \pm 6,9$ пг/мл и его значения не отличались статистически достоверно от исходных цифр. γ -IFN имеет свойства как противовоспалительных, так и провоспалительных цитокинов, наиболее значимый механизм его действия связан с участием этого цитокина в регуляции Т-клеточного звена иммунитета. В последнее вре-

Таблица 1 – Динамика цитокинов в сыворотке крови больных с ЧМТ средней тяжести на фоне лечения Церебролизином (пг/мл)

Показатель	До лечения	После лечения	Доноры
ИЛ-1	9,1±2,0(P<0,01)	7,3±1,6(P<0,02)	3,3±0,4
ИЛ-4	2,0±0,5(P<0,1)	2,8±0,4(P<0,001)	1,3±0,2
ИЛ-6	21,2±5,0(P<0,001)	28,7±13,6(P<0,05)	3±0,4
ИФН	79,6±16,2(P<0,001)	69,3±6,9(P<0,001)	9,2±0,5
ФНО-α	5,8±0,7(P<0,001)	6,2±0,7(P<0,001)	2,6±0,35

Таблица 2 – Динамика основных субпопуляций лимфоцитов в сыворотке крови больных с ЧМТ средней тяжести на фоне лечения Церебролизином (%)

Показатель	До лечения	После лечения	Доноры
CD3+	34,3±1,4 (P<0,001)	41,2±2,7 (P<0,5)	40,5±1,3
CD4+	20,4±1,2 (P<0,001)	21,5±2,2 (P<0,001)	32±0,9
CD8+	14,1±0,8 (P<0,002)	15,2±1,6 (P<0,05)	11,8±0,4
CD16+	16,4±1,5 (P<0,001)	18,4±3,2 (P<0,001)	5±0,2
CD20+	18,9±0,9(P<0,05)	24,9±1,8 (P<0,001)	16±0,9
ИРИ	1,5±0,25	1,4±0,1	1,5±0,5

мя развитие иммунодефицитного состояния при многих патологических состояниях объясняют повышением апоптоза иммунокомпетентных клеток [5]. Вероятно, обнаруженное нами у больных повышение уровня γ -IFN в периферической крови индуцирует γ -IFN – опосредованный механизм апоптоза клеток иммунной системы. При изучении нами субпопуляций лимфоцитов было обнаружено развитие Т-клеточного иммунодефицита, что, возможно свидетельствовало об усилении клеточного апоптоза при ЧМТ.

Содержание ФНО-α до лечения увеличилось в 2,2 раза по сравнению с нормой и достигало значений 5,8 ± 0,7 пг/мл (P < 0,01), и через 10 дней лечения его уровень продолжал повышаться до 6,2 ± 0,7 пг/л. Статистически достоверного различия между значениями до и после лечения не было выявлено. Вторичный прирост содержания цитокина ФНО-α, как и ИЛ-6, скорее всего характеризовал формирование качественно нового этапа патогенеза воспалительной реакции – происходила ее генерализация.

Таким образом, у пациентов с ЧМТ – ушибом головного мозга средней тяжести, в острый период до начала лечения в сыворотке крови отмечалось существенное повышение концентрации провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ- 6, γ -IFN и ФНО-α, которое было статистически достоверным при сравнении с группой доноров. Содержание противовоспалительного цитокина ИЛ-4 не отличалось от уровня здоровых добровольцев. Через 10 дней после проведенного лечения Церебролизином

наблюдался рост противовоспалительного цитокина ИЛ-4 в сыворотке крови, а уровень провоспалительных цитокинов γ -IFN и ИЛ-1 имел тенденцию к снижению.

Согласно литературным данным [6, 7], наиболее информативным показателем состояния иммунной системы является Т-звено, так как именно его уровень очень мобильный и быстро реагирует на любую активную стимуляцию иммунного ответа. При исследовании влияния препарата нейрорепротекторного действия на основные мишени иммунной системы – Т- и В-лимфоциты было выявлено их разнонаправленное действие на исследованные типы клеток (таблица 2).

Содержание Т-лимфоцитов (CD-3+ положительных клеток и CD-4+ (Т-хелперов) у больных с ЧМТ до лечения было достоверно снижено и составляло 20,4 ± 1,2 и 41,2 ± 2,7 %, тогда как содержание данных субпопуляций лимфоцитов у здоровых добровольцев составляло 32 ± 0,9 и 40,5 ± 1,3 %. После лечения к 10-м суткам отмечается восстановление показателя общего числа Т-лимфоцитов, содержание которого достигло физиологических значений 41,2 ± 2,7 %. Процентное содержание Т-хелперов незначительно повысилось по сравнению с исходными значениями и составило 21,5 ± 2,2 .

Анализируя возможные причины диагностированной иммунодепрессии, можно полагать, что продукты распада поврежденных тканей, дериваты гемоглобина, активация окислительных процессов, манифестация продукции острофазовых белков и воспалительных цитокинов способствует угнете-

нию пролиферации лимфоцитов, что может стать основой для гнойно-септических осложнений.

Содержание CD-8+T-лимфоцитов отличалось от предыдущих показателей совершенно иной динамикой. До начала лечения отмечали повышение уровня CD-8 лимфоцитов, который составлял $14,3 \pm 0,8 \%$, что было достоверно выше, чем в группе практически здоровых лиц. На 10-е сутки отмечается дальнейшее нарастание концентрации T-супрессоров от исходных значений до $15,2 \pm 1,6$.

Наиболее точно соотношение между лимфоцитами с хелперными и супрессорными свойствами отражает иммунорегуляторный индекс, который был изучен в данной работе. В 1-е сутки клеточное равновесие не отличалось от контрольных значений ($1,5 \pm 0,25$). На 10-е сутки лечения Церебролизином клеточное равновесие незначительно смещалось в пользу T-лимфоцитов с супрессорными свойствами ($1,4 \pm 0,1$).

Содержание в крови естественных киллерных клеток CD-16+ лимфоцитов у больных с ЧМТ до начала лечения достоверно повышалось до $16,3 \pm 1 \%$, что почти в 3 раза больше по сравнению с контролем (здоровые лица). На 10-й день процентное содержание CD-16+NK- лимфоцитов продолжает нарастать до $18,4 \pm 3,2$, что почти в 3,7 раза выше физиологической нормы.

Содержание в крови В-лимфоцитов (CD-20+) до начала лечения было увеличено незначительно по сравнению с группой контроля и составило $18,8 \pm 0,8 \%$; на 10-й день лечения тенденция к нарастанию данного показателя иммунограммы сохранялась. Процентное содержание В-лимфоцитов после лечения повысилось в 1,5 раза по сравнению с физиологической нормой и составило $24,9 \pm 1,8$.

Таким образом, при исследовании иммунологических показателей после курса лечения в исследуемой группе обращало на себя внимание увеличение процентного содержания CD-3+ и CD4+ субпопуляций T-лимфоцитов. Процентное содержание общих (CD-3+) T-лимфоцитов увеличилось в 1,2 раза и достигло физиологических значений, что достоверно отличалось от исходных значений. Процентное содержание T-хелперов увеличилось незначительно. Другие субпопуляции лимфоцитов имели тенденцию к вторичному приросту, в целом, достоверно не отличались от исходных значений. Терапия Церебролизином обусловила положительные изменения среди показателей клеточного иммунитета и частичную коррекцию возникшего после ЧМТ T-клеточного иммунодефицита.

Выводы

1. Через 10 дней после проведенного лечения Церебролизином наблюдался рост противовоспалительного цитокина ИЛ-4, уровень провоспалительных цитокинов γ -IFN и ИЛ-1 имели тенденцию к снижению.

2. Анализ динамики T-клеточного иммунитета на 10-й день лечения Церебролизином выявил увеличение процентного содержания CD-3+ и CD4+ субпопуляций T-лимфоцитов. Процентное содержание общих (CD-3+) T-лимфоцитов увеличилось в 1,2 раза и достигло физиологических значений. Процентное содержание T-хелперов увеличилось незначительно.

3. Использование в комплексе лечения больных с ЧМТ Церебролизина, обладающего нейропротективным, нейротрофическим и иммуномодулирующим эффектом, позволяет уменьшить проявления иммунодепрессии и, таким образом, снизить частоту гнойно-септических осложнений.

Литература

1. Grechko A.T. The neurotropic activity of peptide immunomodulators // *Exp. Clin. Farmakol.* 1998. № 61. P. 14–16.
2. Peptidergic drugs increase the synaptophysin immunoreactivity in brains of 24-month-old rats // *Histochem. J.* 1999. № 31. P. 395–401.
3. Кульчиков А.Е. Сравнительное изучение иммунокорректирующего действия нейропептидных препаратов при острой экспериментальной цереброваскулярной патологии / А.Е. Кульчиков, О.С. Моложавая, О.В. Скачкова и др. // *Цитокины и воспаление.* 2009. № 3. С. 18–23.
4. Бакунц Г.О. Функциональная активность естественных киллеров и антителозависимая цитотоксичность лимфоцитов у больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения / Г.О. Бакунц, Л.В. Ковальчук, С.Б. Чекнёв и др. // *Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова.* 1998. № 1. С. 31–34.
5. Пичугина Л.В. Внутриклеточные цитокины: проблемы детекции и клиническое значение / Л.В. Пичугина, Б.В. Пинегин // *Иммунология.* 2008. № 1. С. 55–63.
6. Eder P., Reinprecht I., Schreiner E. et al. Increased density of glutamate receptor subunit 1 due to cerebrolysin treatment: an immunohistochemical study on aged rats // *Histochem. J.* 2001. № 33. P. 605–612.
7. Gonzalez M. E., Francis L., Castellano O. Antioxidant systemic effect of short-term cerebrolysin administration // *J. Neural Transm. Suppl.* 1998. № 53. P. 333–341.