

УДК - 612.017.1:617.51-001

DOI: 10.14427/jipai.2018.3.27

Особенности цитокинового профиля сыворотки крови и ликвора у больных с черепно-мозговой травмой

В.В. Дюкарев, С.М. Юдина, А.Г. Королев

ФГБОУ ВО КГМУ Министерства здравоохранения Российской Федерации, г.Курск, Россия

Features of the cytokine profile of blood serum and cerebrospinal fluid in patients with traumatic brain injury

V.V. Dyukarev, S.M. Yudina, A.G. Korolev

Kursk State Medical University, Kursk, Russia

Аннотация

Целью работы является исследование цитокинового профиля сыворотки крови и цереброспинальной жидкости у больных с ЧМТ тяжелой степени. Материалы и методы. Для исследования были отобраны 20 пациентов с черепно-мозговой травмой по шкале глубины комы Глазго ≤ 8 . Забор цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) и сыворотки крови проводили в 1-е и 7 сутки после травмы. Содержание цитокинов (интерлейкины 1 β , 6, 8, 10, ФНО- α , интерферон- γ) в сыворотке крови и ЦСЖ определяли методом твёрдофазного ИФА с набором реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Результаты. Тяжелая черепно-мозговая травма сопровождается гиперсекрецией про- и противовоспалительных цитокинов, продукция которых в динамике развития воспалительного процесса, возникающего при травматическом поражении тканей мозга характеризуется значительным увеличением их концентрации в первые сутки и снижением в динамике на 7-е сутки после ЧМТ кроме ИЛ-6 и ИЛ-8, содержание которых увеличивалось в обеих биологических жидкостях в 1,5- 2 раза соответственно. При этом уровень цитокинов в ЦСЖ достоверно превышал их сывороточные значения в среднем в 1,5 раза. Выявлена прямая корреляционная зависимость между уровнем ИЛ-6, ИЛ-8, цитозом и содержанием белка в ЦСЖ, свидетельствующая об их важной роли в патогенезе ЧМТ, что обосновывает целесообразность их исследования для прогнозирования течения и оценки эффективности лечения.

Ключевые слова

Черепно-мозговая травма, цитокины, цереброспинальная жидкость.

Summary

The aim of the work is to study the cytokine profile of blood serum and cerebrospinal fluid in patients with severe traumatic brain injury (TBI). Materials and methods. The study included 20 patients with TBI on the Glasgow Coma Scale ≤ 8 . The collection of cerebrospinal fluid (CSF) and blood serum was performed on days 1 and 7 after trauma. The content of cytokines (IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, IFN- γ and IL-10) in serum and CSF was determined by solid-phase IFA with a set of reagents of firm "Vector-Best" (Novosibirsk). Results. Severe TBI is accompanied by hypersecretion of pro- and anti-inflammatory cytokines whose production in the dynamics of the development of the inflammatory process that occurs when traumatic brain tissue lesions is characterized by a significant increase in their concentration in the first day and a decrease in dynamics on the 7th day after TBI except IL-6 and IL-8, the content of which increased in both biological fluids by 1.5-2 times, respectively. In this case, the level of cytokines in the CSF significantly exceeded their serum values by an average of 1.5 times. A direct correlation between the level of IL-6, IL-8, cytosis and protein content in the CSF was revealed, indicating their important role in the pathogenesis of TBI, which justifies the feasibility of their investigation for predicting the course and evaluating the effectiveness of treatment.

Keywords

Traumatic brain injury, cytokines, cerebrospinal fluid.

Введение

Травматизм сегодня представляет собой одну из наиболее актуальных медико-социальных проблем. Причинами этому служат его распространенность, вовлечение лиц в основном молодого и трудоспособного возраста. По-прежнему он связан с высокой летальностью, инвалидизацией и значительными затратами общества на лечение и реабилитацию [1, 2, 3]. Среди травматических повреждений лидирующее место занимает черепно-мозговая травма (ЧМТ), смертность при которой приближается к 35-38%, а инвалидизация пострадавших – к 50% [2, 3]. Это обосновывает необходимость и важность дальнейших научных исследований, направленных на углубленное изучение патогенетических особенностей ЧМТ с целью совершенствования диагностики, прогнозирования течения и исходов, оптимизации лечебных мероприятий.

В настоящее время доказано участие иммунной системы организма в развитии нейровоспалительного процесса в ответ на травму и повреждение мозга от разных причин [4,5]. В настоящее время очевидно наличие собственной, работающей иммунной системы мозга. Ее клеточный пул составляют как микроглиальные клетки и астроциты, так и дендритные клетки, связанные с гематоэнцефалическим барьером [6,7]. В ответ на широкий спектр повреждений от травмы и инфекций до инсульта активируется микроглия, в ней активно идет клеточная пролиферация. Растет экспрессия поверхностных рецепторов, активируется фагоцитоз [8]. Следует также отметить, что характерной особенностью течения воспаления в головном мозге, индуцированного травмой, являются иммунные расстройства с сопутствующими им гнойными осложнениями. Воспаление, развивающееся в тканях ЦНС, имеет отличительные особенности, так как мозг является, по сути, «иммунологически привилегированным органом». Его гематоэнцефалический барьер ограничивает контакт с иммунными и гуморальными факторами иммунитета. Одним из факторов развития воспалительного процесса, индуцированного травмой и сопровождающегося структурным нарушением мозга и проницаемости ГЭБ, является иммунная дисфункция, главными регуляторами которой являются цитокины, а их синтез осуществляется резидентными нейронными и глиальными клетками мозга, секретирующими про- и противовоспалительные цитокины [6,9,10]. Кроме этого, источником цитокинов в ЦНС являются рекрутированные к очагу воспаления клетки иммунной системы

вследствие нарушения ГЭБ. Воспалительный процесс, возникающий при травматическом поражении тканей мозга, сопровождающийся гиперсекрецией провоспалительных и ингибирующих цитокинов, имеет существенное значение в течение и исходе ЧМТ. По данным ряда исследователей перенос цитокинового профиля в сторону преобладания противовоспалительных медиаторов может увеличить нейропротекцию и регенерацию ЦНС после травмы [6,11]. Вместе с тем, роль цитокинов в патогенезе ЧМТ остается недостаточно изученной, а приводимые в литературе данные нередко противоречивы, дискуссионны и требуют дальнейшего изучения.

Целью работы явилось исследование цитокинового профиля сыворотки крови и цереброспинальной жидкости у больных с ЧМТ тяжелой степени.

Материалы и методы исследования

На базе Курской ОКБ в условиях нейрохирургического отделения отобрали 20 больных возрастом 18-78 лет (в среднем возраст составил $38,3 \pm 11,5$), большинство из которых (15 пациентов) – лица мужского пола. Исследование было утверждено больничным этическим Комитетом. Критериями включения пациентов в исследование являлись: тяжелая ЧМТ, средний уровень сознания по шкале комы Глазго $-6,8 \pm 1,2$ баллов. Среди всех больных у 6 пациентов была диагностирована изолированная закрытая ЧМТ, у 6 – изолированная открытая, у 6 – сочетанная травма с открытой ЧМТ и у 2 – сочетанная закрытая ЧМТ. Средний балл по шкале исходов Глазго – $3,9 \pm 0,5$ баллов.

Диагностика ЧМТ и ее лечение проводились в соответствии с требованиями Стандарта специализированной помощи при внутричерепной травме [1,2]. Всем больным проводилось комплексное общесоматическое, неврологическое и рентгенологическое обследование. Локализацию поражения головного мозга определяли по данным компьютерной томографии или МРТ, в соответствии с которыми у 5 пациентов выявлено диффузное аксональное повреждение (ДАП) без латерального дислокационного синдрома с транстенториальным смещением, у 10 – острые травматические гематомы с дислокацией более 7 мм и у 5 – множественные очаги ушиба с дислокационным синдромом до 4 мм. У всех пациентов наблюдалось массивное субарахноидальное кровоизлияние.

В первые 24 часа и через 7 суток после ЧМТ пациентам выполнялась люмбальная пункция с

забором цереброспинальной жидкости и периферической крови из центральной вены.

Содержание цитокинов (включая интерлейкины 1 β , 6, 8 и 10, фактор некроза опухолей- α , а также интерферон- γ) в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости определяли методом твёрдофазного ИФА с помощью наборов отечественных реагентов (Вектор-Бест, Новосибирск).

Для выявления значений физиологически нормальных показателей было обследовано 20 здоровых добровольцев в возрасте 38,3 \pm 11 лет.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью табличного редактора, используя показатели среднего, стандартного отклонения и процентные соотношения в анализируемой группе. Достоверность различий между средними для групп оценивалась сопоставлением доверительных интервалов. Статистически значимыми признавались различия при $p < 0,05$. Корреляционные связи выявляли, определяя показатель R в ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и их обсуждение

Известно, что первоначальная воспалительная реакция после травмы и нарушения проницаемости ГЭБ сопровождается активацией микроглиальных клеток и продукцией провоспалительных цитокинов, среди которых ключевую роль играют ИЛ-1 β , ФНО- α и ИЛ-6, высокая концентрация которых способствует прогрессирова-

нию процесса апоптоза и вторичной клеточной гибели [5,12]. Результаты нашего исследования показали, что в первые сутки после ЧМТ уровни сывороточных цитокинов с провоспалительной активностью в десятки раз превышали значения доноров (рис. 1).

Как следует из приведенных данных, содержание ФНО- α было в 21 раз выше нормальных показателей, а по другим цитокинам, соответственно: ИЛ-1 β в 10, ИЛ-6 в 12 и ИЛ-8 в 12,8 раза (при $p < 0,05$). Для ИФН- γ различия составили лишь 1,5 раза ($p < 0,05$). При этом содержание ИЛ-10 – цитокина с противовоспалительной активностью также было повышено (в 3,5 раза; $p < 0,05$), но в меньшей степени в сравнении с провоспалительными медиаторами. На 7-е сутки, по сравнению с первыми, отмечалось достоверное снижение уровня ИЛ-1 β и ФНО- α в 2 раза, ИФН- γ – в 1,8 раза и ИЛ-10 – в 2,4 раза ($p < 0,05$). При этом обращало внимание увеличение концентрации ИЛ-6 и ИЛ-8 в среднем в 1,4 раза (табл. 1).

При сравнительном анализе содержания цитокинов в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) в первые сутки после ЧМТ более высокие концентрации исследуемых медиаторов выявлены в ЦСЖ (рис. 2).

Так, в частности, уровни ИЛ-1 β , ФНО- α и ИЛ-10 превышали их сывороточные значения в среднем в 1,5 раза ($p < 0,05$), ИЛ-6, ИЛ-8 и ИФН- γ – в 1,3 раза. Полученные данные логично согла-



Рис. 1. Профиль цитокинов сыворотки крови у больных с ЧМТ в первые сутки после травмы.

Примечание: *- $p < 0,05$ в сравнении с донорами.

Таблица 1. Цитокиновый профиль сыворотки крови и цереброспинальной жидкости у больных с черепно-мозговой травмой

Цитокины пг/мл	Сыворотка крови		Цереброспинальная жидкость	
	1-е сутки	7-е сутки	1-е сутки	7-е сутки
ИЛ-1 β	104,21 \pm 1,71	49,76 \pm 1,19*	197,74 \pm 9,32	62,17 \pm 5,61*
ФНО- α	111,56 \pm 1,34	53,58 \pm 1,95*	182,11 \pm 9,89	77,53 \pm 4,75*
ИЛ-6	113,87 \pm 4,92	135,29 \pm 2,91*	342,42 \pm 13,83	455,28 \pm 14,96*
ИЛ-8	122,95 \pm 7,39	165,56 \pm 7,91*	149,05 \pm 9,98	242,7 \pm 12,37*
ИФН- γ	29,3 \pm 0,76	16,48 \pm 0,81	37,96 \pm 0,8	23,72 \pm 0,69
ИЛ-10	67,97 \pm 2,91	28,64 \pm 1,9*	104,32 \pm 7,99	54,51 \pm 7,04**

Примечание: *- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$ критерий достоверности в сравнении с 1 и 7 сутками.

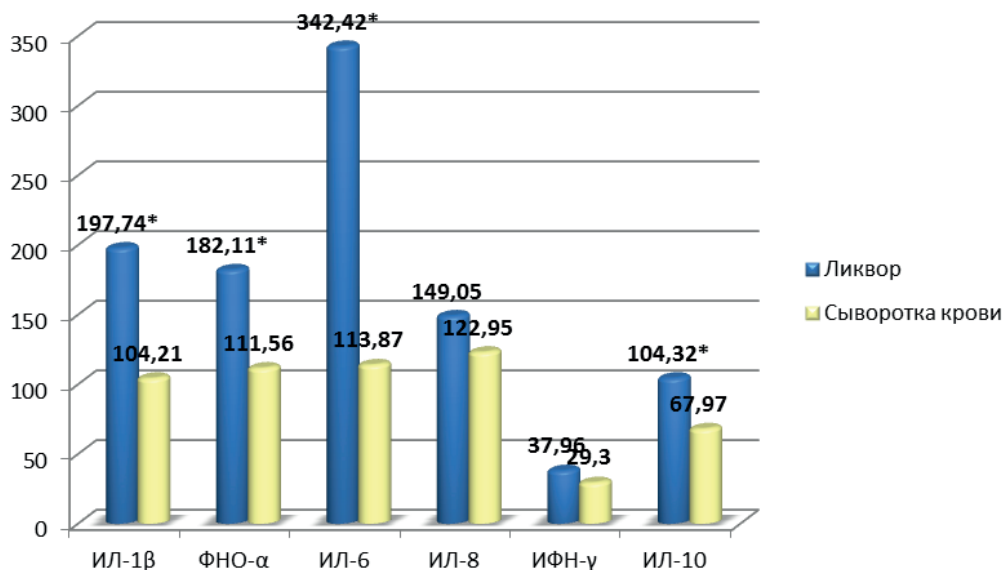


Рис. 2. Цитокиновый профиль ликвор и сыворотки крови пациентов с ЧМТ в первые сутки

Примечание: *- $p < 0,05$

суются с тем, что продукция цитокинов всегда выше в очаге воспаления на уровне органа-мишени [13,14].

На 7-е сутки отмечалась аналогичная динамика, содержание ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-8 и ИФН- γ в ЦСЖ достоверно превышало сывороточные показатели в среднем в 1,4 раза (при $p < 0,05$). Однако уровни ИЛ-6 и ИЛ-8 были значительно выше их сывороточных концентраций: в 3,4 ($p < 0,01$) и в 1,9 раза соответственно. Содержание интерлейкинов 6 и 8 в ЦСЖ по сравнению с 1-ми сутками увеличилось на 7-е сутки в 2,6 и 1,3 раза соответственно. При этом динамика ИЛ-8 и ИЛ-6 в ЦСЖ на 7-е сутки после ЧМТ была аналогичной их сывороточной концентрации и характеризовалась нарастанием в 1,6 и 1,3 раза соответственно (рис. 3).

Важно отметить, что, с учетом данных литературы, повышение уровней провоспалительных цитокинов и, в частности, интерлейкинов 6 и 8 значительно снижает функции гематоэнцефалического барьера. Это облегчает привлечение в мозг нейтрофилов из крови и развитие гнойных осложнений. Установлено также, что ИЛ-8 играет ключевую роль в механизмах повреждения тканей при гипоксии, в том числе головного мозга [12,15].

Следует заметить, что выявленные нами изменения оказались взаимосвязаны. Удалось выявить прямую корреляционную зависимость между уровнем цитокинов, цитозом и содержанием белка в ликворе (табл. 2).

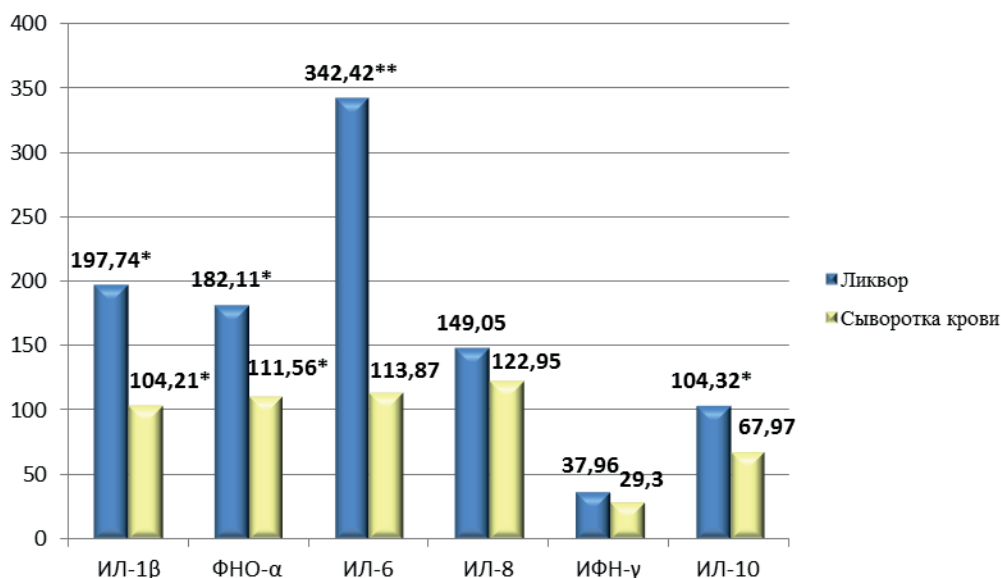


Рис. 3. Цитокиновый профиль ликвора и сыворотки крови у пациентов на 7-е сутки после травмы.

Примечание: *- $p < 0.05$, **- $p < 0.01$.

Таблица 2. Корреляционная зависимость между показателями ликвора в 1-е и 7-е сутки.

	ИЛ-1β	ФНО-α	ИЛ-6	ИЛ-8	ИФН-γ	ИЛ-10	Цитоз	Белок
ИЛ-1β	0,465							
ФНО-α		0,645*						
ИЛ-6			0,619*					
ИЛ-8				0,623*				
ИФН-γ					-0,0456			
ИЛ-10						0,71*		
Цитоз							0,63*	
Белок								0,507*

Примечание: коэффициента ранговой корреляции Спирмена (* - $p > 0.5$)

При этом наиболее высокая корреляционная связь выявлена между ИЛ-6, ИЛ-8, уровнем цитоза и содержанием белка в ликворе ($p < 0,01$).

Анализируя полученные данные, следует отметить, что тяжелая черепно-мозговая травма сопровождается гиперсекрецией про- и противовоспалительных цитокинов, продукция которых в динамике развития воспалительного процесса, возникающего при травматическом поражении тканей мозга, имеет существенные особенности.

Выводы

1. В первые сутки после травмы в сыворотке крови и ЦСЖ наблюдается существенное увеличение концентраций цитокинов как с провоспалительной активностью (интерлейкины 1β,

6, 8 и ИФН-γ), так и противовоспалительного ИЛ-10. При этом уровень цитокинов в ЦСЖ достоверно превышал их сывороточные значения в среднем в 1,5 раза.

2. В динамике на седьмые сутки после травмы отмечалось снижение содержания исследуемых цитокинов в сыворотке крови и ЦСЖ кроме ИЛ-6 и ИЛ-8, концентрация которых увеличилась в обеих биологических жидкостях в 1,5- 2 раза.

3. Выявлена прямая корреляционная зависимость между уровнем цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-8), цитозом и содержанием белка в ЦСЖ, свидетельствующая об их важной роли в патогенезе ЧМТ, что обосновывает целесообразность их исследования для прогнозирования течения и оценки эффективности лечения.

Литература

1. Неврология. Национальное руководство. Е.И. Гусев, А. Н. Коновалов, В. И. Скворцова, А. Б. Гехт, Москва. 2009 г., 921 с.
2. Клиническое руководство по черепно-мозговой травме. Под редакцией А.Н. Коновалова, Л.Б. Лихтермана, А.А. Потапова, том I М.: Антидор, 1998: 42–59.
3. Hoge CW, McGurk D, Thomas JL, et al. Mild traumatic brain injury in U.S. Soldiers returning from Iraq. *The New England journal of medicine*. 2008 Jan 31;358(5):453–63.
4. Hellewell SC, Morganti-Kossmann MC. Guilty molecules, guilty minds? The conflicting roles of the innate immune response to traumatic brain injury. *Mediators of inflammation*. 2012;2012:356494.
5. Dressler J, Hanisch U, Kuhlisch E, Geiger KD. Neuronal and glial apoptosis in human traumatic brain injury. *International journal of legal medicine*. 2007 Sep;121(5):365–75. [PubMed]
6. Горбунов В.И., Ганнушкин И.В. Иммунологические изменения при черепно-мозговой травме. В кн.: Клиническое руководство по черепно-мозговой травме (ред. А.Н. Коновалов, Л.Б. Лихтерман, А.А. Потапов), Том I. М.: Антидор, 2001: 342–359.
7. Loane DJ, Byrnes KR. Role of microglia in neurotrauma. *Neurotherapeutics*. 2010 Oct;7(4):366–77.
8. Ramlackhansingh AF, Brooks DJ, Greenwood RJ, et al. Inflammation after trauma: Microglial activation and traumatic brain injury. *Ann Neurol*. 2011 Sep;70(3): 374–83.
9. С. А. Кетлинский, Симбирцев А.С. Цитокины. М.: Фолиант, 2008: 16–22.
10. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека М.: Фолиант, 2018: 214-216.
11. Woodcock T, Morganti-Kossmann MC. The role of markers of inflammation in traumatic brain injury. *Frontiers in neurology*. 2013;4:18.
12. Weckbach S, Neher M, Losacco JT, et al. Challenging the role of adaptive immunity in neurotrauma: Rag1(–/–) mice lacking mature B and T cells do not show neuroprotection after closed head injury. *J Neurotrauma*. 2012 Apr 10;29(6):1233–42. [
13. Myer DJ, Gurkoff GG, Lee SM, Hovda DA, Sofroniew MV. Essential protective roles of reactive astrocytes in traumatic brain injury. *Brain*. 2006 Oct;129(Pt 10):2761–72.
14. Floyd CL, Lyeth BG. Astroglia: important mediators of traumatic brain injury. *Prog Brain Res*. 2007;161:61–79.
15. Sekido N., Mukaida N., Harada A. et al. Prevention of lung reperfusion injury in rabbits by a monoclonal antibody against IL-8. *Nature* 1993; V. 365: 654-657.

Сведения об авторах:

Дюкарев Владимир Владимирович, заочный аспирант кафедры клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава РФ, врач-нейрохирург нейрохирургического отделения Курской областной клинической больницы. e-mail: vdukarev89@mail.ru. Тел. моб. +79102722208

Юдина Светлана Михайловна, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава РФ.

Королев Александр Геннадиевич, к.м.н., доцент кафедры неврологии и нейрохирургии Курского государственного медицинского университета, заведующий нейрохирургического отделения Курской областной клинической больницы.

Поступила 5.09.2018 г.