

УДК: 616.831-001:57.034

В. Е. Казаков

ИММУННЫЕ НАРУШЕНИЯ КАК ПРЕДВЕСТНИКИ НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ТЕЧЕНИЯ  
ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

В. Е. Казаков

## ІМУННІ ПОРУШЕННЯ ЯК ПОПЕРЕДНИКИ ЗЛОЯКІСНОГО ПЕРЕБІГУ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ

V. Ye. Kazakov

## IMMUNE DISORDERS AS PREDICTORS OF ADVERSE TRAUMATIC BRAIN INJURY FLOW

У 63 больных с последствиями легкой закрытой черепно-мозговой травмы (ЧМТ) трижды проводили исследование параметров клеточного и гуморального иммунитета (ежегодно на протяжении 3-х лет). В результате проведенных исследований выявилось, что психопатологически неблагоприятные исходы ЧМТ возникают при микроструктурных нарушениях, определяемых методом проточной цитометрии.

**Ключевые слова:** черепно-мозговая травма, проточная цитометрия

У 63 хворих з наслідками легкої закритої черепно-мозгової травми (ЧМТ) тричі проводили дослідження параметрів клітинного та гуморального імунітету (щорічно протягом 3-х років). В результаті проведених досліджень виявлено, що психопатологічно злякисні наслідки ЧМТ виникають при микроструктурних порушеннях, що визначаються методом проточної цитометрії.

**Ключові слова:** черепно-мозкова травма, проточна цитометрія

In 63 patients with impacts of mild closed traumatic brain injury (TBI) was performed three times study of the parameters of cellular and humoral immunity (every year for 3 years). The studies revealed that the psychopathological adverse outcomes occur in TBI microstructural irregularities determined by flow cytometry.

**Key words:** brain injury, flow cytometry

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) остается важнейшей проблемой современной медицины. Известно, что наиболее тяжелым последствием ЧМТ является диффузное аксональное повреждение с вторичной дегенерацией нервных клеток. Ряд авторов [1] показали, что в мозге пациентов с ЧМТ даже при отсутствии выраженных макроскопических изменений мозга наблюдаются нарастающие со временем диффузные микроскопические изменения в виде дегенерации аксонов. Применение методов нейровизуализации часто не позволяет своевременно оценить тяжесть и, особенно, прогноз травмы мозга, так как для ЧМТ характерен субмикроскопический уровень повреждения, затрагивающий такие жизненно важные структуры как ретикулярная формация, ствол головного мозга и мозолистое тело [1—3].

В последнее время появились работы, свидетельствующие о том, что исход травмы мозга во многом определяется состоянием иммунной системы [4—6]. Существуют работы, подчеркивающие значимость иммунопатологического процесса, в том числе аутоиммунного воспаления, которое протекает непосредственно в мозговых структурах. Однако до настоящего времени остаются недостаточно изученными иммунные предикторы неблагоприятного исхода ЧМТ. В последнее время использование проточной цитометрии облегчает изучение вышеуказанных процессов.

Проточная цитометрия позволяет охарактеризовать гетерогенные клеточные популяции как по фенотипу, так и по генотипу. В связи с тем, что современные цитометры могут регистрировать сразу несколько параметров для каждой отдельной клетки со скоростью до 10000 клеток в секунду, с их помощью обнаруживаются даже весьма редкие внутриклеточные процессы, в том числе встречающиеся с частотой  $10^{-7}$ . Все это позволяет проследить за едва уловимыми нарушениями в головном мозге, возникающими после ЧМТ, исследовать их интенсивность, степень тяжести, трансформацию, а также уточнить динамику процесса.

Целью настоящей работы явилось сопоставление исследования иммунного статуса у больных в остром и отдаленном периоде и изучение возможности прогнозирования тяжести психопатологических последствий.

У 63 больных с последствиями легкой закрытой ЧМТ трижды проводили исследование параметров клеточного и гуморального иммунитета (ежегодно на протяжении 3-х лет). Эти пациенты составили основную группу. Для контроля использовали данные лаборатории проточной цитометрии Центра СПИД, представляющие среднестатистические показатели здоровых лиц.

Использовался метод проточной цитометрии с привлечением прямой иммунофлуоресценции цельной периферической крови. Применялась «безотмывочная» технология.

Клетки периферической крови окрашивали трехцветными комбинациями моноклональных антител к CD45/CD4/CD3 и CD45/CD8/CD3, конъюгированных с флуоресцентными красителями FITC/PE/PC5. Окрашенные образцы анализировали на проточном цитометре EPICS XL (Beckman Coulter, США) с помощью мультипараметрического анализа. Данный тест основан на способности моноклональных антител специфически взаимодействовать с дискретными антигенными детерминантами, экспрессированными на поверхности лейкоцитов. В свою очередь эта процедура позволяла вести одновременную идентификацию и подсчет общего количества Т-лимфоцитов ( $CD45^+CD3^+$ ), общего количества Т-хелперов ( $CD45^+CD3^+CD4^+$ ) и общего количества цитотоксических Т-лимфоцитов ( $CD45^+CD3^+CD8^+$ ). Эритроциты удаляли из исследуемых образцов прямым лизисом с помощью лизирующих и фиксирующих реагентов ImmunoPrep Reagent System и автоматической рабочей станции Q-PREP (Beckman Coulter, США). Популяцию лимфоцитов выделяли с помощью гетерогенного гейтирования (область событий, имеющих яркую флуоресценцию CD45-FITC и низкий уровень сигнала светорассеяния под углом  $90^\circ$ ). Подсчет основного количества клеток проводился

с использованием одноплатформенной технологии и референсных частиц Flow-Count Fluorespheres (Beckman Coulter, США).

У пациентов с давностью травмы до 1 года при определении абсолютных и относительных значений показателей клеточного иммунитета в 83,7 % случаев обнаруживалось повышение Т-хелперов (CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>) в сравнении со среднестатистическими показателями здоровых лиц. В то время как абсолютные и относительные показатели цитостатических Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>) оставались в пределах нормы.

Абсолютные значения позитивных клеток в микролитрах (мкл) крови и относительные показатели CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup> у лиц, перенесших ЧМТ, были достоверно выше, чем аналогичные показатели здоровых лиц.

Зафиксировано повышение цитометрического значения экспрессии Т-лимфоцитов CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup> в лимфоцитарном окне по интенсивности флюоресценции и проценту позитивных клеток. Наблюдалась усиленная продукция интерлейкинов IL-1b, IL-6, IL-10, TNF-α, которые, помимо других многочисленных функций, участвуют в регуляции иммунного ответа в очаге хронического воспаления [10]. Как известно, IL-1b относят к провоспалительным цитокинам, а IL-10 — к противовоспалительным, IL-6 рассматривают и как провоспалительный, и как противовоспалительный цитокин [10—11]. При этом IL-6 является главным индуктором реакции острой фазы воспалительного процесса.

По теории системного воспалительного ответа, последовательно секретируются TNF-α, IL-1b, IL-6. Затем IL-6 начинает подавлять секрецию TNF-α и IL-1b.

В этот период у всех исследуемых больных отмечалась церебралестическая неврозоподобная симптоматика.

Пациенты, независимо от тяжести ЧМТ, предъявляли жалобы на раздражительность (98 %), несдержанность (98 %), нетерпеливость (47 %), трудности сосредоточения (93 %), забывчивость (51 %), рассеянность (51 %), колебания артериального давления (47 %), сердцебиение (23 %), повышенную потливость ладоней и стоп (39 %), легко возникающее покраснение лица (21 %), головные боли (87 %), тошноту при поездках в транспорте (24 %), трудности при засыпании (49 %), поверхностный сон (32 %), раннее пробуждение (19 %), метеозависимость (98 %).

Через 1 год (2 года после ЧМТ) исследование повторили. У 47 больных иммунологические показатели достигли нормативов, у 16 чел. (основная группа) удерживался повышенный уровень интерлейкинов, что свидетельствовало о затяжном характере воспаления. У этих больных сохранялась и психопатологическая симптоматика, астения стала носить более тяжелый характер, возникали депрессивные и тревожные эпизоды. У пациентов отмечались сложные переплетения астенических, вегетативных, аффективных, истероформных и эксплозивных вариантов реагирования.

Как уже указывалось, через 1,5—2 года после травмы быстро нарастали расстройства астенического круга: поверхностный сон с частыми пробуждениями, затруднение засыпания, раннее пробуждение, ночные кошмары, ночные страхи. У этих же больных наблюдались головные боли, истощаемость внимания, нарушение запоминания, метеозависимость,

раздражительность, обидчивость, вспыльчивость, утрированная борьба за социальную справедливость, вегетативные расстройства в виде нарушения частоты пульса, лабильности артериального давления. Клинические наблюдения показали, что у пациентов в течение указанного времени особенно нарастала астения, она становилась ключевым клиническим симптомом. У данных пациентов из-за выраженной истощаемости психических процессов работоспособность стала носить непродуктивный характер. Пациенты с трудом преодолевали препятствия, теряли гибкость мышления, застревали на несправедливостях, гиперболлизировали социальные нарушения. Из-за тяжелой астении и эмоциональной лабильности для них представляла затруднение даже возможность получения положенных им льгот.

Следующее исследование было проведено спустя 3 года после ЧМТ. У пациентов основной группы вновь было проведено иммунологическое исследование. На данном этапе методом проточной цитометрии по киллингу клеток-мишеней K-562, меченных CFSE, определяли наличие и активность естественных киллеров (NK-клеток). По литературным данным, у пациентов с выраженной астенией количество NK-клеток в 2 раза выше, чем у практически здоровых лиц [7], однако эти исследования касались лишь психической астении. В цитоплазме NK-клеток находятся так называемые цитолитические гранулы [8], являющиеся производными лизосом и содержащие цитолитические белки. К ним относятся перфорин и гранзимы [9—11]. Мономеры перфорина встраиваются в мембрану клетки, полимеризуются и образуют патологические поры. Через поры в клетку поступают гранзимы. Они активизируют каспазный каскад самоликвидации клеток-мишеней, то есть, вызывают апоптоз клетки. Содержание популяции Granzyme V<sup>+</sup>-клеток у пациентов основной группы составило 63,9 %, в то время как у здоровых доноров содержание Granzyme V<sup>+</sup> составляло лишь 31 %. Возникновение апоптоза очевидно было спровоцировано затяжным характером воспаления и нарушением гематоэнцефалического барьера. В культурах лимфоцитов появлялись бластные формы клеток, увеличивалась экспрессия CD95<sup>+</sup>, возрастало число AnV<sup>+</sup> апоптирующих клеток. Наблюдалась потеря митохондриями способности к поддержанию мембранного потенциала, что связано с подавлением антиоксидантных функций ингибирующих апоптоз белков bcl-2. В результате снижения трансмембранного потенциала (Du<sub>m</sub>) и образования пор проапоптогенные факторы (цитокины) вступали в цитоплазму и активизировали каскад каспаз. Клинически это соответствовало нарушению общего состояния, а также появлению психопатологических галлюцинаторно-бредовых и аффективных «зарниц». Превалировали бредовые идеи отношения (31 %), преследования (31 %), ревности (26 %), ипохондрические (12 %). Бред в 37 % сочетался галлюцинациями, при этом содержание галлюцинаций в 33 % случаев не соответствовало содержанию бредовых идей. В 73 % случаев они были систематизированными, стойкими, носили характер паранойяльного бреда, сопровождалась грубым нарушением эмоционального фона в виде маниакальных и депрессивных состояний. Аффективные расстройства протекали несколько атипично: так, маниакальные состояния

носили характер гневливой мании, а депрессивные — депрессивно-дисфорический. Независимо от того, в какой из фаз — депрессивной или маниакальной — находились больные, в любом случае они боролись за социальную справедливость, писали жалобы, защищали обиженных, пытались участвовать в политических акциях. Пациенты отличались конфликтностью, неуживчивостью, ригидностью. Они поступали только сообразно собственному мнению, в ряде случаев были бестактны, назойливы, не учитывали точку зрения собеседника. Стеничность и напористость особенно ярко проявлялись при решении «общественных» дел, пациенты пытались устраивать «судьбы» родственников, коллег, сотрудников вопреки их желанию. Они, как правило, не доводили начатое дело до конца, быстро истощались, раздражались, высказывали выраженное недовольство не только обидчиками опекаемых ими лиц, но и самими «неблагодарными» опекаемыми. С течением времени нарастала органическая симптоматика, формировался психоорганический синдром. Психоорганический синдром диагностировали на основании комплекса симптомов в виде интеллектуально-мнестических и аффективных нарушений. Данные проявления были относительно сглажены, не весь симптомокомплекс проявлялся в одинаковой мере, одни симптомы проявлялись ярче, другие — завуалировано. Наиболее часто на первый план выступали нарушения запоминания, выраженная истощаемость психических функций, особенно внимания, затруднялось выполнение профессиональных навыков, отмечалось недержание аффектов, снижался уровень интересов, ослаблялось адекватное понимание ситуации. Вышеуказанные проявления маскировались глобальной астенией. Постепенно происходило огрубление и переход личности на более низкий уровень. Формирование псевдопсихопатических расстройств травматического генеза проходило на специфической почве. Психопатоподобные нарушения проявлялись в виде сложного полиморфного симптомокомплекса с астеническими, вегетативными, эксплозивными, истероформными, шизоформными, циклотимоподобными и психоорганическими компонентами. С течением времени возможна патологическая трансформация циклотимоподобных проявлений травматического генеза в очерченные аффективные; подозрительности и сензитивности в бредовые (шизофреноподобные) расстройства, эксплозивных — в органические расстройства личности.

Появлению грубых психопатологических и иммунных нарушений способствовало возникновение инсомнии. Инсомнии, обусловленные ЧМТ, были представлены нарушениями всех составляющих процесса сна, а именно — у больных отмечались нарушения засыпания, сон был поверхностным, пробуждения — ранними. Нарушения режима и длительности сна как последствий ЧМТ входило в структуру исследуемых психопатологических синдромов, обусловленных ЧМТ. Вышеуказанные нарушения имели некоторые особенности, преимущественно количественного характера, зависящие от варианта того или иного синдрома. Сон пациентов носил поверхностный характер, не способствовал полноценному отдыху и восстановлению трудоспособности. При этом у больных с маниакальной симптоматикой травматического

генеза отмечались частые пробуждения, яркие красочные сновидения; с депрессивной — испытывали ночные ужасы и кошмары, изжогу, боли, сновидения устрашающего характера. Для тревожных пациентов были характерны панические атаки, а также синдром «беспокойных ног». Галлюцинаторно-параноидные пациенты испытывали неприятные сновидения и проночные галлюцинации. У больных с когнитивными расстройствами во время сна нередко наблюдались храп, апноэ, снохождение, встречались проночные галлюцинации.

Психопатологически неблагоприятные исходы ЧМТ возникают при микроструктурных нарушениях, определяемых методом проточной цитометрии. Как следует из вышеприведенного, у пациентов, перенесших даже лёгкую ЧМТ, отмечаются не только функциональные расстройства, но и стойкие нарушения адаптационной системы всего организма. Предвестником неблагоприятного течения могут быть иммунные нарушения.

#### Список литературы

1. Нганкам А. Иммунологические маркеры тяжести и прогноза черепно-мозговой травмы / А. Нганкам, Н. В. Казанцева, М. М. Герасимова // Журнал неврологии и психиатрии. — 2011. — № 7. — С. 61—65.
2. Герасимова М. М. Особенности клинического течения и патогенез легкой мозговой травмы у детей / М. М. Герасимова, Г. Т. Ягудин // Там же. — 2000. — № 3. — С. 16—18.
3. Moppet I. Traumatic brain injury: assessment, resuscitation and early management / British J. Anaesthesia. — 2007. — Vol. 99, № 1. — P. 18—31.
4. Шевченко К. В. Иммунопатологические изменения при тяжелой черепно-мозговой травме / К. В. Шевченко, В. А. Четвертных, Ю. И. Кравцов // Иммунология. — 2009. — № 3. — С. 180—184.
5. Горбунов В. И. Иммунологические изменения при черепно-мозговой травме / В. И. Горбунов, И. В. Ганнушкина // Клиническое руководство по черепно-мозговой травме / под ред. А. Н. Коновалова и др. — М., 2001. — Т. 1. — С. 342—359.
6. Фраерман А. П. Сдавление головного мозга при изолированной и сочетанной черепно-мозговой травме / А. П. Фраерман, Л. Я. Кравец, А. О. Трофимов. — Н. Новгород, 2008. — С. 79—92.
7. Александровский Ю. А. Клинико-иммунологическая характеристика больных с астеническими расстройствами непсихотического уровня / Ю. А. Александровский // Российский психиатрический журнал — 2003. — № 3. — С. 4—8.
8. Дегрануляция NK-клеток у пациентов с синдромом Вискотта — Олдрича и хронической гранулематозной болезнью / [В. В. Мугурин, Н. Е. Мугурина, А. П. Продеус и др.] // Иммунология. — 2009. — № 6. — С. 376—382.
9. Burkhardt J. K., Two proteins targeted to the same lytic granule compartment undergo very different post-translational processing / J. K. Burkhardt, S. Hester, Y. Argon // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1989. — Vol. 86 — P. 7128—7132.
10. Cooper M. A. The biology of human natural killer-cell subsets / M. A. Cooper, T. A. Fehniger, M. A. Caligiuri // Trends Immunol. — 2001. — Vol. 22. — P. 633—640.
11. Tschopp J. Perforin-mediated target cell lysis by cytolytic T lymphocytes / J. Tschopp, M. Nabholz // Annu. Rev. Immunol. — 1990. — Vol. 8. — P. 279—302.

Надійшла до редакції 26.12.2013 р.

**КАЗАКОВ Виталий Евгеньевич**, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры психиатрии, наркологии и медицинской психологии Государственного заведения «Луганский государственный медицинский университет», г. Луганск; e-mail: svtlanakazakova@ukr.net

**KAZAKOV Vitalii Yevhenovych**, MD, PhD, assistant of the Department of Psychiatry, Narcology and medical Psychology of the State Institution "Luhansk State medical University", Luhansk; e-mail: svtlanakazakova@ukr.net