

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 пациентов с тяжелой черепно-мозговой травмой (ЧМТ). Материалы и методы. В исследование включено 20 пациентов с ЧМТ по шкале глубины комы Глазго  $\leq 8$ . Забор цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) и сыворотки крови проводили в 1-е и 7 сутки после травмы. Содержание цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН- $\gamma$  и ИЛ-10) 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  $\leq 8$ . The collection of cerebrospinal fluid (CSF) and blood serum was performed on days 1 and 7 after trauma. The content of cytokines (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, IFN- $\gamma$  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

В современном обществе травматизм является одной из наиболее актуальных медицинских и социальных проблем, что обусловлено его распространенностью, поражением преимущественно лиц молодого, трудоспособного возраста, высокой летальностью, инвалидизацией и экономическими затратами на лечение и последующую реабилитацию пациентов [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 травматическое и другое повреждение мозга [4,5]. Вместе с тем, не вызывает сомнения факт существования собственной иммунной системы мозга, клеточный пул которой представлен микроглиальными клетками, астроцитами и дендритными клетками, ассоциированными с гематоэнцефалическим барьером [6,7]. В ответ на любые повреждения (травма, инфекция, воспаление, инсульт) происходит активация и пролиферация клеток микроглии, увеличение экспрессии поверхностных рецепторов и интенсивности фагоцитарных реакций [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 «иммунологически привилегированным органом», гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) которого ограничивает контакт с иммунокомпетентными клетками и гуморальными веществами. 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 пациентов с тяжелой черепно-мозговой травмой.

## Материалы и методы исследования

После утверждения Комитетом по этике и проведению клинических исследований на базе областной клинической больницы г. Курска в условиях нейрохирургического отделения были отобраны 20 пациентов в возрасте от 18 до 78 лет (средний возраст  $38,3 \pm 11,5$ ), большинство из которых (15 пациентов) – лица мужского пола. 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. Локализация очагов поражения подтверждена данными КТ или МРТ головного мозга, 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 (ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН- $\gamma$ , ИЛ-10) в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости определяли методом твёрдофазного ИФА с помощью наборов реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск).

Для определения показателей, принимаемых за физиологическую норму, обследовано 20 здоровых лиц (средний возраст 38,3 $\pm$ 11,5 лет).

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программного комплекса Microsoft Office Excel 2007, используя среднее значение показателя, среднее стандартное отклонение показателя и процент случаев в анализируемой группе пациентов. Достоверность статистических различий средних арифметических величин сравниваемых параметров оценивали по расхождению границ доверительных интервалов. Статистически значимыми считали различия при значениях  $p < 0,05$ . Для выявления корреляционной связи между показателями использовали коэффициент 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 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6, высокая концентрация которых способствует прогрессированию 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- $\alpha$  – в 21 раз было выше нормальных показателей, ИЛ-1 $\beta$  – в 10 раз, ИЛ-6 – в 12 и ИЛ-8 – в 12,8 раза ( $p < 0,05$ ), ИФН- $\gamma$  – в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ). На этом фоне 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 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  в 2 раза, ИФН- $\gamma$  – 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 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и ИЛ-10 превышали их сывороточные значения



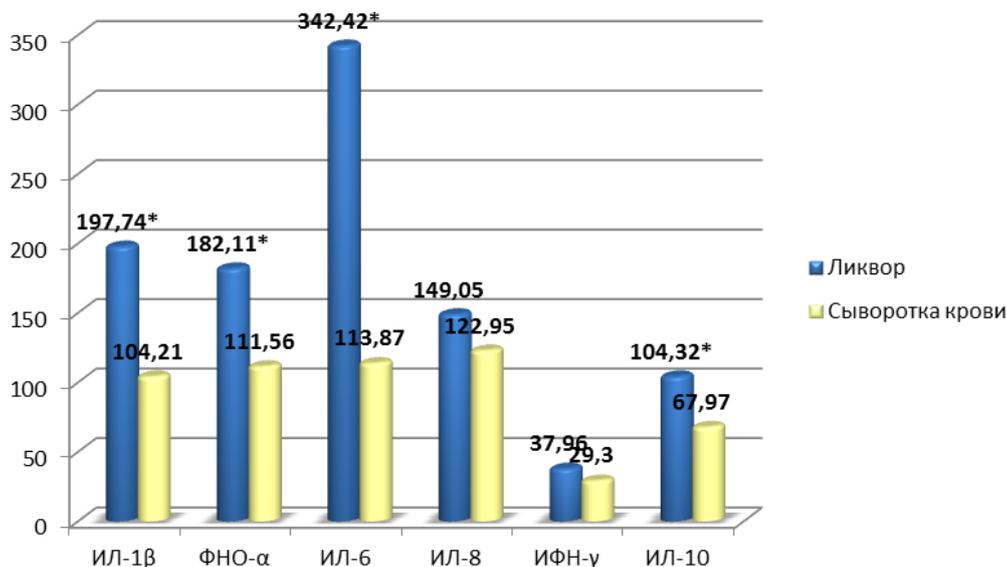
Рис. 1. Профиль цитокинов сыворотки крови у больных с ЧМТ в первые сутки после травмы.

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

Примечание: \*-p<0.05; \*\*- p<0.01 критерий достоверности в сравнении с 1 и 7 сутками.



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

Примечание: \*- p<0,05

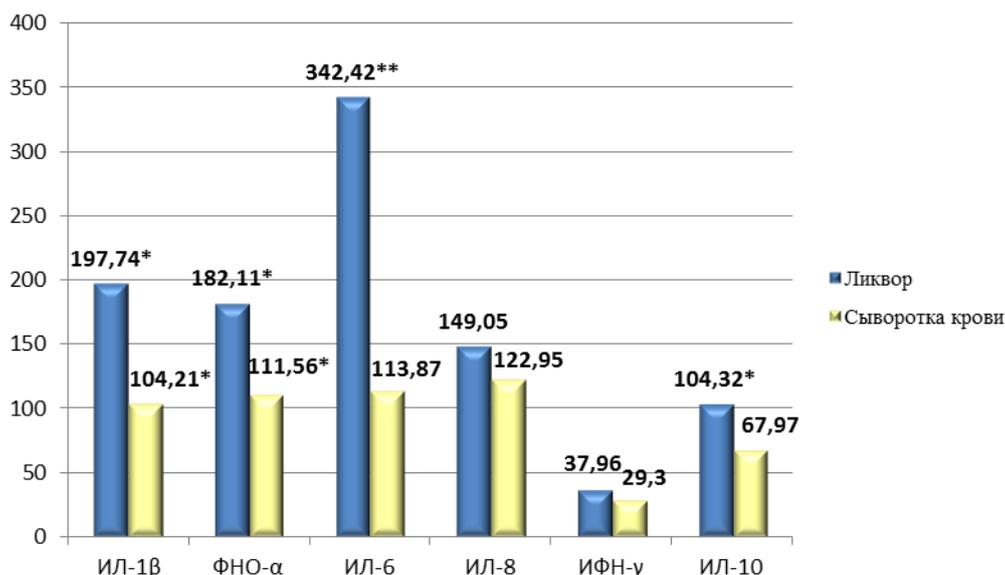
среднем в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), ИЛ-6, ИЛ-8 и ИФН-γ – в 1,3 раза. Полученные данные логично согласуются с тем, что продукция цитокинов всегда выше в очаге воспаления на уровне органа-мишени [13,14].

На 7-е сутки отмечалась аналогичная динамика, содержание ИЛ-1β, ФНО-α, ИЛ-8 и ИФН-γ в ЦСЖ достоверно превышало сывороточные показатели в среднем в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ). Вместе с тем, уровни ИЛ-6 и ИЛ-8 были значительно выше их концентрации в сыворотке крови соответственно в 3,4 ( $p < 0,01$ ) и в 1,9 раза. Содержание ИЛ-6 и ИЛ-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 повышенная продукция провоспалительных цитокинов и, в частности, ИЛ-8 и ИЛ-6 значительно снижает функции ГЭБ, способствует привлечению гематогенных нейтрофилов в мозг и развитию 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 изменение исследуемых показателей были взаимосвязаны. При проведении корреляционного анализа, установлена прямая корреляционная 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 значительное увеличение концентрации цитокинов как с про- (ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН-γ), так и с противо-

воспалительной активностью (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. [PubMed]
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. [PMC free article] [PubMed]
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. [PMC free article] [PubMed]
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. [PubMed]
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. [PMC free article] [PubMed]
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. [PMC free article] [PubMed]
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. [PubMed]
14. Floyd CL, Lyeth BG. Astroglia: important mediators of traumatic brain injury. *Prog Brain Res*. 2007;161:61–79. [PubMed]
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.