

## ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ТРАВМОЙ ГРУДНОЙ КЛЕТКИ В СОЧЕТАНИИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ

Рахмонов Н.Х., Абдурахманов М.М.,

Бухарский государственный медицинский институт.

### ✓ Резюме

Под наблюдением было 20 пациентов с травмой грудной клетки в сочетании с черепно-мозговой травмой в возрасте от 19 до 68 лет (средний возраст  $37,3 \pm 10,5$  лет). В первые 24 часа и через 7 суток после травмы пациентам выполнялась люмбальная пункция с забором цереброспинальной жидкости и периферической крови из центральной вены. Количественное содержание  $\alpha$ -дефензинов в плазме крови и цереброспинальной жидкости, цитокинов в сыворотке крови и ЦСЖ определяли методом ИФА с набором для определения человеческих  $\alpha$ -дефензинов и цитокинов. Тяжелая сочетанная травма сопровождалась повышенной продукцией противомикробных пептидов ( $\alpha$ -дефензинов-HNP 1-3), про- и противовоспалительных цитокинов. Обосновано, что уровень HNP 1-3 в плазме крови и ЦСЖ может служить прогностическим критерием тяжести, течения и исходов травмы грудной клетки в сочетании черепно-мозговой травмой.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма; цереброспинальная жидкость  $\alpha$ -дефензины (HNP 1-3); цитокины.

## КУКРАК ҚАФАСИ ВА БОШ МИЯ ЖАРОҲАТИ БИЛАН ОЎРИГАН БЕМОРЛАРДА ТУЁМА ИММУНИТЕТ КЎРСАТКИЧЛАРИ ДИНАМИКАСИ

Рахмонов Н.Х., Абдурахманов М.М.,

Бухоро давлат тиббиёт институти.

### ✓ Резюме

Кузатув остида 20 нафар 19 дан 68 ёшгача (ўртача ёши  $37,3 \pm 10,5$  йил) миё шикастланиши билан бирга кўкрак қафаси жароҳати билан касалланган бемор бор эди. Биринчи 24 соатда ва жароҳатлардан сўнг 7 кундан сўнг, беморларда марказий венадан цереброспинал суюқлик ва периферик қонни олиш билан лумбал пункция амалга оширилди. Қон плазмасида ва цереброспинал суюқликда  $\alpha$ -дефензинларнинг миқдорий таркиби, яллиғланишциитокинлари ва ЦСС инсон  $\alpha$ -дефензинлар ва цитокинларни аниқлаш учун ИФА усули қўлланилди. Оғир кўшма жароҳатлар антимикроб пептидлар ( $\alpha$ -дефензинлар- HNP 1-3), Про - ва яллиғланишга қарши цитокинларнинг кўпайиши билан бирга ўтди. Қон плазмасида ва ЦССда HNP 1-3 даражаси миё шикастланиши билан биргаликда кўкрак қафасининг жароҳатлари оғирлик даражасини баҳолаш учун прогностик мезон сифатида хизмат қилиши мумкинлиги аниқланди.

Калит сўзлар: бош миё жароҳати, цереброспинал суюқлик,  $\alpha$ -дефензинлар (HNP 1-3); цитокинлар.

## DYNAMICS OF INDICATORS OF INNATE IMMUNITY IN PATIENTS WITH CHEST TRAUMA COMBINED WITH CRANIOCEREBRAL TRAUMA

Rakhmonov N.H., Abdurakhmanov M.M.,

Bukhara State Medical Institute.

### ✓ Resume

Under the supervision there were 20 patients with chest trauma severe traumatic brain injury aged 19 to 68 years (mean age  $37,3 \pm 10,5$  years). In the first 24 hours and 7 days after the injury, the patients underwent lumbar puncture with cerebrospinal fluid and peripheral blood sampling from the central vein. The quantitative contents of  $\alpha$ -defensins in plasma and cerebrospinal fluid, cytokines in serum and CSF were determined by ELISA with a kit for determining human  $\alpha$ - defensins and cytokines.

The results of the studies showed that severe head injury is accompanied by increased production of antimicrobial peptides ( $\alpha$ -defensins - HNP 1-3), pro- and anti-inflammatory cytokines. The level of HNP 1-3 in plasma and CSF can serve as a prognostic criterion for the severity, course, and outcome of TBI.

Keywords: chest trauma, traumatic brain injury; cerebrospinal fluid;  $\alpha$ -defensins (HNP 1-3); cytokines.

### Актуальность

В настоящее время травма грудной клетки(ТГК) в сочетании с черепно-мозговой травмой(ЧМТ) рассматривают как реакцию всего организма, включая иммунную систему, на травму ЦНС [2, 5]. Возникающие нарушения в иммунной системе при ТГК в сочетании с ЧМТ являются проявлением защитной реакции организма. Показано, что исход травмы обусловлен не только тяжестью сочетанной травмы грудной клетки и головного мозга, но и вторичными реакци-

ями, а именно, иммунной дисрегуляцией [1, 8, 9].

Иммунная и нервная системы организма находятся в сложном иммуно-регулирующем влиянии, что привело к выделению при патологических состояниях в ЦНС и, в частности ЧМТ, ряда иммунологических синдромов, таких как синдром вторичного иммунодефицита, аутоиммунный и асимметрии в иммунном ответе [11,12]. С учетом этого на современном этапе исследования сконцентрированы на изучении роли иммунных механизмов в патогенезе ТГК в сочетании с ЧМТ, в частности врожденного иммунитета, как

первой линии защиты в развитии посттравматического воспалительного процесса в головном мозге и его исходов. В последние годы активно исследуется новый класс эффекторных молекул врожденного иммунитета – противомикробных пептидов (ПМП), обладающих многофункциональными свойствами [10]. Продукция ПМП является одним из важнейших механизмов врожденного иммунитета. Катионные противомикробные пептиды (дефензины, кателицидины, протегрины и др.) способны непосредственно вызывать гибель патогенных микроорганизмов, участвовать во врожденных и адаптивных иммунных реакциях, выполнять роль сигнальных молекул, вовлекаемых в воспаление, свертываемость крови, тканевую репарацию и другие важные процессы в организме [4,13]. Кроме прямых антимикробных функций ПМП выполняют роль медиаторов воспаления, влияют на хемотаксис, обладают иммуномодулирующей и цитотоксической активностью. У человека наибольшую защитную функцию выполняют дефензины и кателицидины [10,14]. При этом особого внимания заслуживают  $\alpha$ -дефензины, основным источником которых являются нейтрофилы – клетки, осуществляющие первыми трансэндотелиальную миграцию в ткани при любом повреждении. Показано, что уровень  $\alpha$ -дефензинов может быть надежным маркером активации нейтрофилов, а эти пептиды более длительно сохраняются в плазме крови и тканях за счет их способности сорбироваться на различных белках и клетках после гибели короткоживущих нейтрофилов [4]. Наряду с этим  $\alpha$ -дефензины влияют на продукцию ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8 и ИЛ-10, выполняющих важную роль при воспалении [6, 11]. Совокупность этих свойств позволяет рассматривать  $\alpha$ -дефензины как мощные активаторы различных звеньев иммунной защиты, а их уровень как маркер системной активации при мониторинге течения инфекционных, воспалительных и аутоиммунных патологических процессов. В литературе приводится много сведений о роли  $\alpha$ -дефензинов (HNP 1-3) в патогенезе различных заболеваний [6, 15], однако данные об их участии в развитии иммунного ответа при травматической болезни головного мозга отсутствуют.

С учетом этого нами поставлена цель, заключающаяся в сопоставительном анализе содержания  $\alpha$ -дефензинов (HNP 1-3), про- и противовоспалительных цитокинов в плазме крови и цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) и их роли в развитии системного воспалительного ответа в посттравматическом периоде у пациентов с ТГК в сочетании с ЧМТ.

Материалы и методы исследования. Под наблюдением было 20 пациентов с ТГК в сочетании с ЧМТ в возрасте от 19 до 68 лет (средний возраст  $37,3 \pm 10,5$  лет), находившихся на лечении в хирургическом отделении и отделении нейрореанимации Бухарского филиала РНЦЭМП, среди которых преобладали лица мужского пола (15 пациентов).

Критериями включения пациентов в исследование являлись: ТГК в сочетании с ЧМТ, средний уровень сознания по шкале комы Глазго –  $6,8 \pm 1,2$  балла. Среди наблюдаемых больных с ТГК у 6 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 –  $3,9 \pm 0,1$  балла. Диагностика и лечение ТГК в сочетании с ЧМТ проводились в соответствии с требованиями Стандарта спе-

циализированной помощи при внутричерепной травме [2, 5]. Всем больным проводилось комплексное общесоматическое, неврологическое и рентгенологическое обследование. Локализация очагов поражения подтверждена данными КТ или МРТ грудной клетки и 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 травмы пациентам выполнялась люмбальная пункция с забором цереброспинальной жидкости и периферической крови из центральной вены.

Количественное содержание  $\alpha$ -дефензинов (HNP 1-3) в плазме крови и цереброспинальной жидкости (ЦСЖ), цитокинов (ИЛ-1 $\alpha$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН- $\gamma$ , ИЛ-10) в сыворотке крови и ЦСЖ определяли методом ИФА с набором для определения человеческих  $\alpha$ -дефензинов (ELISakit, HyCult biotechnology, Нидерланды) и цитокинов в сыворотке крови исследовали иммуноферментным твердофазным методом с помощью тест-систем ООО "Протеиновый контур" (Санкт-Петербург).

Для определения показателей, принимаемых за физиологическую норму, обследовано 20 здоровых лиц (средний возраст  $36,3 \pm 11,8$  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 исследования. При анализе содержания  $\alpha$ -дефензинов (HNP 1-3) в плазме крови и ЦСЖ в первые сутки после травмы выявлено их значительное повышение в обеих биологических жидкостях, но уровень HNP 1-3 в ЦСЖ был в 9,7 раза ниже, чем в плазме крови ( $93261,4 \pm 8296,98$  и  $9569,2 \pm 562,12$  пг/мл соответственно). Аналогичная картина отмечалась и на 7-е сутки посттравматического периода, а именно, на фоне снижения к 7-м суткам содержания HNP 1-3 как в плазме крови, так и в ЦСЖ, их уровень в ЦСЖ был в 15 раз меньше, чем в плазме крови ( $63282 \pm 621,77$  и  $4126,9 \pm 129,36$  пг/мл соответственно).

При этом замечено, что на 7-е сутки в сравнении с 1-ми сутками после травмы концентрация  $\alpha$ -дефензинов в плазме крови снизилась в 1,4 раза, а в ЦСЖ – в 2,3 раза (рис. 1).

Следует заметить, что проведенное нами исследование содержания HNP 1-3 в ликворе у доноров и пациентов с ТГК в сочетании с ЧМТ показало отсутствие HNP 1-3 в ликворе доноров, при этом у больных уровень HNP 1-3 был сопоставим с данными пациентов с бактериальными менингитами [7].

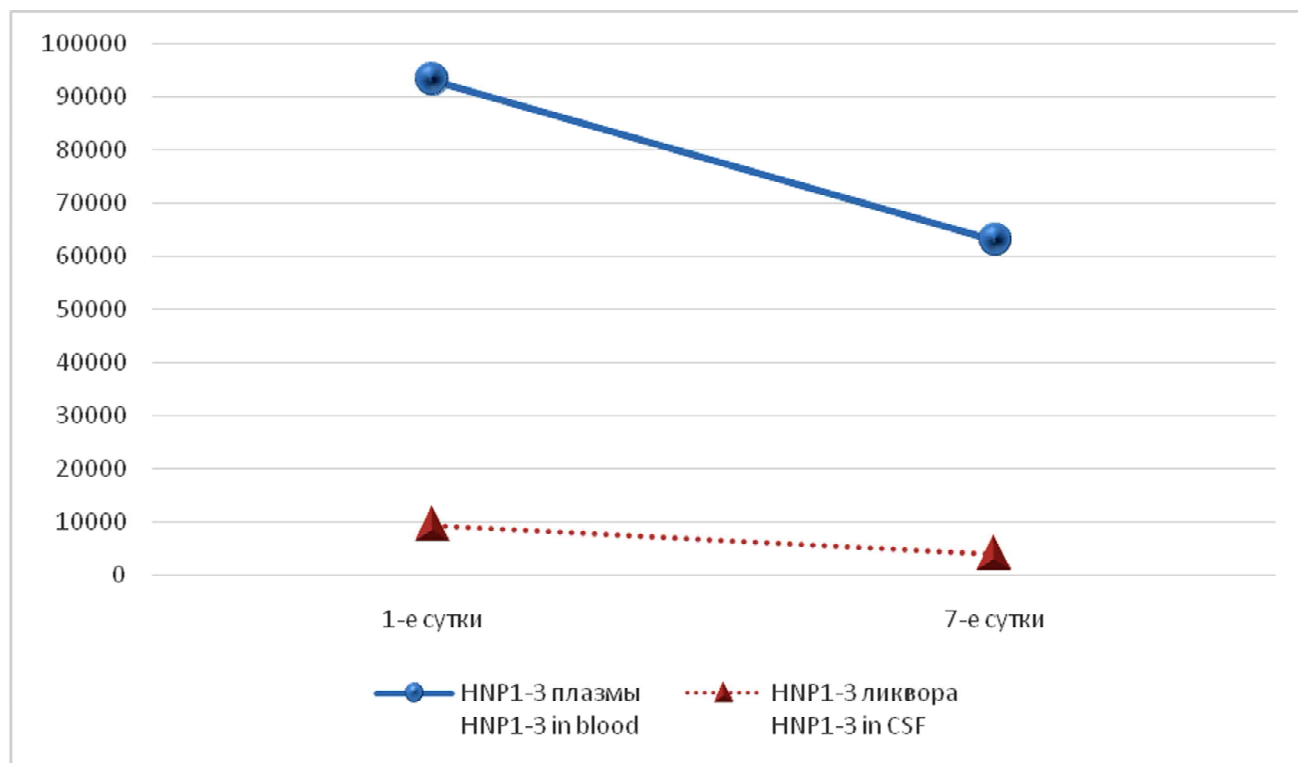
Принимая во внимание данные литературы о том, что  $\alpha$ -дефензины, наряду с антимикробной активностью, обладают способностью взаимодействовать с системой комплемента и коагуляционного гемостаза, индуцировать синтез цитокинов, представлялось интересным сопоставить содержание  $\alpha$ -дефензинов и цитокинов в исследуемых биологических жидкостях в разные сроки после ЧМТ.

Проведенными ранее исследованиями нами было показано, 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 [3]. А именно, в первые сутки после травмы в сыворотке крови и ЦСЖ наблюдалось значительное увеличение концентрации цитокинов с про- (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН- $\gamma$ ) и противовоспалительной активностью (ИЛ-10) с пос-

ледующим снижением их содержания на седьмые сутки, кроме ИЛ-6 и ИЛ-8, концентрация которых увеличилась в обеих биологических жидкостях в 1,5-2 раза. При этом уровень цитокинов в ЦСЖ достоверно превышал их сывороточные значения в среднем в 1,5 раза.

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 [15]. С учетом этого был проведен корреляционный анализ между показателями HNP 1-3 в плазме крови и ликворе в 1-е и 7-е сутки после травмы (табл. 1), результаты которого выявили сильную прямую корреляционную связь изменения концентрации HNP 1-3 в плазме крови и ликворе.

Рис. 1. Динамика содержания HNP 1-3 в плазме крови и ликворе.



Примечание: \* -  $p < 0.05$ .

Таблица 1.

#### Корреляционный анализ содержания HNP 1-3 в плазме крови и ликворе в 1-е и 7-е сутки

| Коэффициент корреляции Спирмена |   | Содержание HNP 1-3 плазмы и ликвора, пг/мл |
|---------------------------------|---|--------------------------------------------|
| HNP 1-3 плазмы                  | p | 0.82                                       |
|                                 | R | 0.5*                                       |
| HNP 1-3 ликвора                 | p | 0.736                                      |
|                                 | R | 0.55*                                      |

Примечание:  $p > 0,5$  - связь сильная прямая; R - оценка коэффициента корреляции, \* - связь достоверная.

Кроме этого, была проанализирована корреляционная зависимость между показателями HNP 1-3, цитокинами и общего анализа ликвора (табл. 2), выя-

вившая достоверную сильную прямую корреляционную связь между HNP 1-3 и концентрацией ИЛ-1 $\alpha$  в плазме крови, HNP 1-3 и содержанием белка и цито-

**Корреляционный анализ с расчетом коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r) между показателями HNP 1-3, цитокинов и общего анализа ликвора**

| Цитокины, пг/мл |        | HNP 1-3   | 3, пг/мл  |
|-----------------|--------|-----------|-----------|
|                 |        | 1-е сутки | 7-е сутки |
| ИЛ-1 $\beta$    | Плазма | 0.67*     | 0.22      |
|                 | Ликвор | -0.325    | -0.343    |
| ФНО- $\alpha$   | Плазма | -0.155    | -0.3      |
|                 | Ликвор | -0.373    | -0.44     |
| ИЛ-6            | Плазма | -0.501**  | 0.1       |
|                 | Ликвор | 0.118     | 0.38      |
| ИЛ-8            | Плазма | -0.26     | -0.13     |
|                 | Ликвор | 0.275     | 0.31      |
| ИФН- $\gamma$   | Плазма | -0.682**  | 0.14      |
|                 | Ликвор | -0.0136   | -0.435    |
| ИЛ-10           | Плазма | -0.33     | 0.5*      |
|                 | Ликвор | 0.457     | 0.83*     |
| Белок, г/мл     | Ликвор | 0.526*    | 0.036     |
| Цитоз           | Ликвор | 0.513*    | 0.16      |

Примечание: \* -  $r > 0,5$  - связь сильная прямая, \*\* -  $r < -0,5$  - связь сильная обратная.

зом в ликворе в 1-е сутки. При этом сильная обратная связь наблюдалась между HNP 1-3 с ИЛ-6 и ИФН- $\gamma$  в плазме крови. На 7-е сутки констатирована достоверная прямая корреляционная зависимость между HNP 1-3 и противовоспалительным цитокином ИЛ-10 как в плазме, так и в ликворе, что имеет важное значение в динамике течения воспалительного процесса в головном мозге.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что тяжелая ЧМТ сопровождается повышенной продукцией противомикробных пептидов ( $\alpha$ -дефензинов - HNP 1-3), про- и противовоспалительных цитокинов, секреция которых в динамике развития воспалительного процесса в головном мозге имеет ряд особенностей.

### Выводы.

1. В первые сутки после ТГК с сочетанием ЧМТ в плазме крови и ЦСЖ наблюдается значительное увеличение концентрации HNP 1-3. При этом уровень в плазме крови достоверно превышает их содержание в ЦСЖ в 9,7 раза.

2. В динамике на седьмые сутки после травмы отмечалось снижение содержания HNP 1-3 в плазме крови и ЦСЖ, более выраженное (в 15 раз) в ликворе.

3. Выявлена прямая корреляционная зависимость между уровнем HNP 1-3 и ИЛ-1 $\beta$  в плазме крови, HNP 1-3 и содержанием белка, цитозом в ликворе в 1-е сутки, а также достоверная прямая корреляционная зависимость между HNP 1-3 и противовоспалительным цитокином ИЛ-10 как в плазме крови, так и в ликворе на 7-е сутки, что отражает динамику течения воспалительного процесса в головном мозге и может служить прогностическим критерием его исходов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

- Горбунов В.И., Ганнушкин И.В., под ред. Коновалова А.Н., Лихтермана Л.Б., Потапова А.А. Клиническое руководство по черепно-мозговой травме. Москва: Антидор, 2001. Том 1. 553 с.
- Гусев Е.И., Коновалов А.Н., Скворцова В.И., Гехт А.Б. Неврология. Национальное руководство. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 921 с.
- Дюкарев В.В., Юдина С.М., Королев А.Г. Особенности цитокинового профиля сыворотки крови и ликвора у больных с черепно-мозговой травмой. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2018;3: 27-32
- Кокряков В.В., Ковальчук Л.В., Алешина Г.М., Шамова О.В. Катионные противомикробные пептиды как молекулярные факторы иммунитета: мультифункциональность. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2006;2: 98105
- Коновалов А.Н., Лихтерман Л.Б., Потапов А.А., под ред. Клиническое руководство по черепно-мозговой травме. Москва: Антидор, 1998. Том 1. 540 с.
- Конюченко Е.А., Ульянов В.Ю., Дроздова Г.А., Норкин И.А. Корреляционный анализ содержания  $\alpha$ -дефензинов нейтрофилов 1-3 и цитокинов в плазме крови пациентов в остром и раннем периодах травматической болезни спинного мозга. Клиническая лабораторная диагностика. 2015; 60 (7): 53-55
- Dressler J., Hanisch U., Kuhlisch E., Geiger K.D. Neuronal and glial apoptosis in human traumatic brain injury. Int J Legal Med. 2007; 121(5): 365-375. DOI: 10.1007/s00414-006-0126-6
- Hellewell S.C., Morganti-Kossmann M.C. Guilty molecules, guilty minds? The conflicting roles of the innate immune response to traumatic brain injury. Mediators Inflamm. 2012; 2012: 356494. DOI: 10.1155/2012/356494.
- Hoge C.W., McGurk D., Thomas J.L. Mild traumatic brain injury in U.S. Soldiers returning from Iraq. N Engl J Med. 2008; 358(5): 453-463. DOI: 10.1056/NEJMoa072972
- Lehrer R.I., Lu W.  $\alpha$ -Defensins in human innate immunity. Immunol Rev. 2012; 245(1): 84-112. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2011.01082.x.
- Loane D.J., Byrnes K.R. Role of microglia in neurotrauma. Neurotherapeutics. 2010; 7(4): 366-377. DOI: 10.1016/j.nurt.2010.07.002.
- Maffei F.A., Heine R.P., Whalen M.J., Mortimer L.F., Carcillo J.A. Levels of antimicrobial molecules defensins and lactoferrin are elevated in the cerebrospinal fluid of children with meningitis. Pediatrics. 1999. 103(5 Pt 1): 987-992. DOI: 10.1542/peds.103.5.987

13. Ramlackhansingh A.F., Brooks D.J., Greenwood R.J., Bose S.K., Turkheimer F.E., Kinnunen K.M., Gentleman S., Heckemann R.A., Gunanayagam K., Gelosa G., Sharp D.J. Inflammation after trauma: Microglial activation and traumatic brain injury. *Ann Neurol*. 2011 Sep; 70(3):374-83 DOI: 10.1002/ana.22455
14. Van Wetering S., Mannesse-Lazeroms S.P., Van Sterkenburg M.A., Daha M.R., Dijkman J.H., Hiemstra P.S. Effect of defensins on interleukin-8 synthesis in airway epithelial cells. *Am J Physiol*. 1997; 272(5 Pt 1): L888-896. DOI: 10.1152/ajplung.1997.272.5.L888
15. Weckbach S., Neher M., Losacco J.T., Bolden A.L., Kulik L., Flierl M.A., Bell S.E., Holers V.M., Stahel P.F. 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; 29(6): 1233-1242. DOI: 10.1089/neu.2011.2169
16. Woodcock T., Morganti-Kossmann M.C. The role of markers of inflammation in traumatic brain injury. *Front Neurol*. 2013; 4: 18. DOI: 10.3389/fneur.2013.00018

Поступила 09.09. 2020