

Влияние нейротрофической терапии Церебролизином на показатели Т-клеточного иммунитета у больных с черепно-мозговой травмой



Э. М. Мамытова, доцент кафедры неврологии с курсом медицинской генетики

Кыргызская государственная медицинская академия имени И. К. Ахунбаева, г. Бишкек, Кыргызстан

Nature of dynamics of T-cell immunity in patients with TBI after neuroprotective therapy

E. M. Mamytova

The Kyrgyz State Medical Academy n.a. I. K. Akhunbaev, Bishkek, Kyrgyzstan

Резюме

Целью работы явился проспективный анализ результатов лабораторных исследований консервативного лечения 63 пациентов с ЧМТ средней степени тяжести. Из них 21 больному (основная группа) наряду с лечением, предусмотренным медицинскими стандартами, назначали препарат Церебролизин (EVER Neuro Pharma, Австрия). В контрольной группе (42 человека) больные получали только стандартную терапию. В динамике оценивали показатели Т-клеточного иммунитета. Дополнение схемы лечения Церебролизином обусловило положительные изменения среди показателей клеточного иммунитета и частичную коррекцию возникшего после ЧМТ Т-клеточного иммунодефицита за счет увеличения процентного содержания CD 3+ и CD 4+-субпопуляций Т-лимфоцитов. А также у больных основной группы было выявлено статистически незначимое снижение относительного количества CD-95+-лимфоцитов по сравнению с показателями до лечения.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, Т-клеточный иммунитет, Церебролизин.

Summary

The aim is a prospective analysis of the results of laboratory studies of conservative treatment of 63 patients with traumatic brain injury of moderate severity. Of these, 21 patients (study group), along with the treatment provided by medical standards prescribed drug Cerebrolysin (EVER Neuro Pharma, Austria). In the control group (42 people), patients received only standard therapy. We evaluated the dynamics of indicators of T-cell immunity. Treatment added with Cerebrolysin led to positive changes among the indicators of cellular immunity and partial correction arising after TBI T-cell immunodeficiency due to an increase of the percentage of CD 3+ and CD 4+ T-cell subpopulations. Also in the study group was statistically non-significant reduction in the relative number of CD 95-lymphocytes compared to before treatment.

Key words: traumatic brain injury, T-cell immunity, Cerebrolysin.

Введение

Черепно-мозговая травма, как и другие виды тяжелых травм, сопровождается возникновением неспецифической системной воспалительной реакции с развитием ряда взаимосвязанных патологических синдромов, являющихся ее неотъемлемым компонентом: ДВС-синдрома, синдрома эндогенной интоксикации, синдрома острого повреждения легких, синдрома вторичной иммунологической недостаточности. Иммунодепрессия после ЧМТ формируется уже с первых суток, характеризуется снижением механизмов специфической и неспецифической защиты организма и является значимым фактором развития гнойно-септических осложнений [1–4]. 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 воз-

действие 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 [5, 6].

Для такой нормализации применяется комплекс мер, состоящих из коррекции гормонального статуса, недостаточности гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы, метаболической нейропротекции (антигипоксанта, антиоксиданты и нейротрофические лекарственные препараты), цитокинотерапии, а также иммунокоррекции индивидуально подобранными иммунопрепаратами, прежде всего иммуномодуляторами [5, 6].

Одним из препаратов, обладающих нейроиммунокорректирующим действием, является Церебролизин (EVER Neuro Pharma, Австрия), поскольку он содержит удачную комбинацию нейроактивных аминокислот, микроэлементов и нейропептидов с нейротрофическими и иммуномодулирующими свойствами [6, 7].

Таблица 1
Динамика субпопуляционной структуры лимфоцитов периферической крови до и после лечения у больных группы стандартной схемы лечения (контрольная группа, N = 42)

Показатель	1-е сутки	10-е сутки	Здоровые доноры	P внутри группы	P основной группы на 1-е сутки относительно доноров	P основной группы на 10-е сутки относительно доноров
CD3+	29,4 ± 2,5	35,9 ± 3,8	40,5 ± 1,3	0,2	0,001	0,3
CD4+	17 ± 0,7	19,7 ± 2,6	32 ± 0,9	0,2	0,001	0,001
CD8+	13,9 ± 6,6	16,6 ± 1,3	11,8 ± 0,4	0,5	0,5	0,002
CD16+	17,1 ± 0,9	21,4 ± 0,7	5 ± 0,2	0,01	0,001	0,001
CD20+	17,9 ± 1,4	21 ± 3,1	16 ± 0,9	0,5	0,2	0,1
ИРИ	1,5 ± 0,25	1,25 ± 0,1	1,5 ± 0,5	0,5	0,5	1

Таблица 2
Динамика субпопуляционной структуры лимфоцитов периферической крови до и после лечения у больных группы Церебролизина (основная группа, N = 21)

Показатель	1-е сутки	10-е сутки	Здоровые доноры	P внутри группы	P основной группы на 1-е сутки относительно доноров	P основной группы на 10-е сутки относительно доноров
CD3+	34,3 ± 1,4	41,2 ± 2,7	40,5 ± 1,3	0,05	0,001	0,5
CD4+	20,4 ± 1,2	21,5 ± 2,2	32 ± 0,9	0,5	0,001	0,001
CD8+	14,1 ± 0,8	15,2 ± 1,6	11,8 ± 0,4	0,5	0,01	0,05
CD16+	16,4 ± 1,5	18,4 ± 3,2	5 ± 0,2	0,5	0,001	0,001
CD20+	18,9 ± 0,9	24,9 ± 1,8	16 ± 0,9	0,01	0,05	0,001
ИРИ	1,5 ± 0,09	1,4 ± 0,03	1,5 ± 0,5	0,2	1	0,5

Целью настоящего исследования было изучение изменений показателей Т-клеточного иммунитета при терапии, дополненной церебролизином, у больных в остром периоде средне-тяжелой ЧМТ.

Материал и методы исследования

В исследование входили: 1) пострадавшие с ушибами головного мозга средней степени тяжести (мелкоочаговые ушибы головного мозга, травматическое субарахноидальное кровоизлияние [САК], сочетание ушиба мозга и оболочечной гематомы без сдавления мозга); 2) в остром периоде травмы; 3) в возрасте от 17 до 62 лет.

Степень ушиба головного мозга оценивали по классификации А. Н. Коновалова и соавт. (1992). Травматическое САК верифицировали люмбальной пункцией или по данным нейровизуализационного исследования. Осмотры невролога в динамике осуществляли на первый и 10-й дни. Церебролизин вводили внутривенно капельно в дозе 5–10 мл на 200,0 физиологического раствора в течение 10 дней.

В динамике оценивали показатели клеточного иммунитета. Кровь для исследования брали из периферической вены в первые, 10-е сутки после травмы.

Субпопуляционный состав лимфоцитов оценивали по наличию на них поверхностных клеточных антигенов методом непрямой иммунофлюоресценции с моноклональными антителами фирмы «Сорбент» (Россия), при этом использовали антитела против CD 3+ (маркер зрелых лимфоцитов), CD 4+ (маркер Т-хелперов / индук-

торов), CD 8+ (маркер цитотоксических лимфоцитов), CD 16+ (маркер естественных киллеров), CD 20+ (маркер зрелых В-лимфоцитов). Функциональную активность лимфоцитов определяли по экспрессии на них активационного антигена CD 95+ (антиген апоптоза APO1/Fas на лимфоцитах). Для оценки выраженности дисбаланса иммунной системы вычисляли иммунорегуляторный индекс (ИРИ) — соотношение CD 4+ и CD 8++-лимфоцитов.

Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия достоверности Стьюдента.

Консервативное лечение включало общие мероприятия, направленные на поддержание функции жизненно важных органов и систем (дыхания, кровообращения, метаболизма) и специфические, направленные на защиту головного мозга, нормализацию его кровообращения, гематоэнцефалического барьера, метаболизма и ликворциркуляции, снижение внутричерепной гипертензии. При наличии показаний назначались антибактериальные препараты — цефалоспорины III поколения в сочетании с аминогликозидами, а при развитии гнойно-септических осложнений проводилась коррекция антибактериальной терапии в соответствии с чувствительностью высеваемой микрофлоры к антибиотикам.

Критерием исключения из исследования было наличие у больных аллергических реакций на какие-либо лекарственные препараты, сахарного диабета, декомпенсированных заболеваний сердца, почек, печени, возраст

Таблица 3

Процентное содержание лимфоцитов, экспрессирующих CD 95+, в основной и контрольной группах

Показатель, %	День исследования	Контрольная группа (базовая терапия), N = 42	Основная группа (базовая терапия + Церебролизин), N = 21	Доноры, N = 20
CD 95+	1-й день	16,7 ± 0,4	21,5 ± 1,6	8,3 ± 0,1
	10-й день	23 ± 1,75*	20,8 ± 1,6	

Примечание: * — при $p \leq 0,05$ при сравнении значений CD 95+ внутри основной группы.

старше 62 и младше 17 лет, беременности, лактации, тяжелых сопутствующих неврологических заболеваний (эпилепсия, инсульт), онкологических заболеваний.

Результаты и обсуждение

Анализ иммунного статуса пациентов с ЧМТ средней степени тяжести, которые получали лечение по стандартной схеме в первые сутки наблюдения показал снижение количества CD 3+-лимфоцитов и особенно CD 4+-лимфоцитов, уровень которых был ниже показателей здоровых доноров в 1,3 и 1,8 раза (табл. 1).

В тоже время отмечалось незначительное увеличение содержания CD 8+-лимфоцитов, CD 20+-лимфоцитов. Уровень CD 16+-лимфоцитов был существенно выше, чем в группе здоровых доноров. Показатель ИРИ существенно не изменялся как до, так и после лечения.

На 10-е сутки после лечения у пациентов данной группы уровень CD 3+-лимфоцитов и CD 4+-лимфоцитов повышался относительно такового в первые сутки, но не достигал значений референтной нормы. Другие показатели иммунного статуса также превышали соответствующие величины у здоровых доноров, но при этом регистрировалось достоверное увеличение уровня показателя CD 16+-лимфоцитов по сравнению с уровнем до лечения, что свидетельствовало, по нашему мнению, об углублении дисрегуляции в работе иммунной системы (табл. 1).

Мониторинг показателей иммунного статуса у пациентов с включением в схему лечения Церебролизина (табл. 2) позволил установить, что при СЧМТ уже в первые сутки после травмы происходит достоверное уменьшение содержания количества Т-лимфоцитов (в 1,2 раза) и Т-хелперов (в 1,7 раза) в периферической крови пострадавших при сравнении со значениями референтной нормы. На фоне лечения Церебролизинотом отмечается достоверное повышение количества CD 3+-клеток по сравнению с исходными значениями (первые сутки) и количество последних приближается к значениям здоровых доноров. Это свидетельствовало, по нашему мнению, о начале лимфопролиферативного процесса. Включение Церебролизина в схему лечения привело к недостоверно повышению количества CD 4+-клеток относительно исходных значений, которые на 10-е сутки наблюдения не достигали значений референтной нормы. Поскольку Т-хелперы определяют интенсивность и направленность иммунологических реакций, их уменьшение в периферической крови, возможно, связано с рециркуляцией лимфоцитов и участием этих клеток в иммунологических реакциях в зонах воспаления.

При включении в курс базовой терапии нейропротектора Церебролизина наблюдалось дальнейшее увеличение пула Т-цитотоксических лимфоцитов (CD 8+) на 10-е сутки наблюдения, в то время как в первые дни поступления количество CD 8+-лимфоцитов было выше значений физиологической нормы.

Содержание в крови естественных киллерных клеток CD 16+-лимфоцитов у больных с ЧМТ в первые дни наблюдения достоверно повышалось в 3,3 раза по сравнению с донорами (здоровые лица). На фоне консервативной терапии с включением в нее Церебролизина на 10-й день процентное содержание CD 16+-натуральных киллеров-лимфоцитов продолжает нарастать и превышать физиологическую норму в четыре раза.

Эти изменения закономерно дополняют картину угнетения Т-клеточного звена с повышением выработки цитотоксических клеток и натуральных киллеров (CD 16+) и отражают остроту воспалительного процесса.

Содержание в крови В-лимфоцитов (CD 20+) в первые сутки после травмы было увеличено по сравнению с группой здоровых доноров, на 10-й день посттравматического периода в основной группе тенденция к нарастанию данного показателя иммунограммы сохранялась. Процентное содержание В-лимфоцитов на 10-е сутки наблюдения достоверно (в 1,3 раза) превышало физиологическую норму и исходные значения.

Значимого сдвига иммуно-регуляторного индекса (ИРИ) периферической крови относительно физиологической нормы отмечено не было в течение всего исследуемого периода. В группе с нейропротектором на 10-е сутки наблюдения у больных с СЧМТ иммунорегуляторный индекс (соотношение CD 4+ и CD 8+-лимфоцитов) был понижен за счет уменьшения числа Т-хелперов.

Таким образом, при первичной ЧМТ средне-тяжелой степени в первые сутки посттравматического периода происходит угнетение Т-клеточного звена иммунитета, что проявляется снижением в крови уровня Т-хелперов и (CD 3+) положительных клеток и активацией В-клеточного звена и натурально-киллерных субпопуляций лимфоцитов. Дополнение базовой терапии пациентов с ЧМТ нейропротектором Церебролизинотом приводит к активизации иммунного ответа, который осуществляется за счет активации всех изучаемых популяций Т-лимфоцитов, свидетельствующего о пролиферации Т-лимфоцитов, необходимых для иммунного ответа.

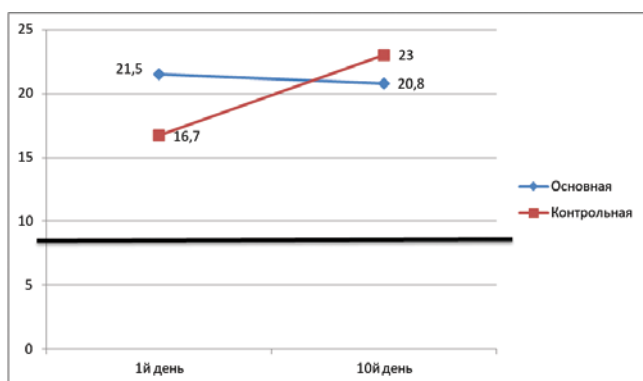


Рисунок 1. Динамика процентного содержания лимфоцитов, экспрессирующих CD95+, в основной, контрольной и группе здоровых добровольцев (%).

Также нами была изучена динамика сывороточного маркера апоптоза (CD95+) лимфоцитов у больных с ЧМТ средней тяжести при стандартной схеме лечения и с включением в нее Церебролизина.

В остром периоде средне-тяжелой ЧМТ выявлено изменение количества CD95+-лимфоцитов в крови (табл. 3 и рис. 1).

Уровень относительного количества CD95+-лимфоцитов имел различия в сравниваемых группах.

При обследовании пациентов в обеих исследуемых группах на первый день исследования отмечено достоверное повышение процентного содержания лимфоидных клеток крови с маркерной молекулой CD95+ при сравнении здоровыми донорами ($p = 0,001$).

Наблюдаемое в обеих группах в первые сутки при СЧМТ повышение CD95+-лимфоцитов в крови отражает воспаление-зависимое повышение экспрессии его на клетках-носителях иммунной системы и играет роль в стимуляции апоптоза клеток иммунной системы с развитием Т-клеточного иммунодефицита, который имеет место при средне-тяжелой ЧМТ.

На 10-й день исследования у больных основной группы было выявлено снижение относительного количества CD95+-лимфоцитов по сравнению с показателями до лечения. У больных контрольной группы отмечалось дальнейшее повышение относительного количества CD95+-лимфоцитов при сравнении с первыми сутками наблюдения. Достоверных различий в относительном количестве лимфоцитов, экспрессирующих CD95+ на первые и 10-е сутки в основной группе не было. Тогда как в контрольной группе наблюдалось достоверно значимое повышение уровня относительного количества CD95+-лимфоцитов на 10-е сутки наблюдения при сравнении с первыми сутками.

Таким образом, из табл. 3 видно, что при использовании Церебролизина в схеме лечения зафиксировано незначительное снижение избыточной пролиферации лимфоцитов, экспрессирующих CD95+, что свидетельствует о слабой реакции маркера CD95+-лимфоцитов на лечение.

Выводы

1. При первичной ЧМТ средне-тяжелой степени в первые сутки посттравматического периода происходит угнетение Т-клеточного звена иммунитета, что проявляется снижением в крови уровня Т-хелперов и (CD 3+) положительных клеток и активацией В-клеточного звена и натурально-киллерных субпопуляций лимфоцитов. Дополнение схемы лечения Церебролизином обусловило положительные изменения среди показателей клеточного иммунитета и частичную коррекцию возникшего после ЧМТ Т-клеточного иммунодефицита за счет увеличения процентного содержания CD 3+ и CD 4+-субпопуляций Т-лимфоцитов.
2. В обеих исследуемых группах в первые сутки при СЧМТ наблюдалось повышение CD 95+-лимфоцитов. На 10-й день исследования у больных основной группы было выявлено статистически незначимое снижение относительного количества CD 95+-лимфоцитов по сравнению с показателями до лечения. У больных контрольной группы отмечалось дальнейшее повышение относительного количества CD 95+-лимфоцитов при сравнении с первыми сутками наблюдения.

Список литературы

3. Шевченко К. В., Четвертных В. А., Кравцов Ю. И. Иммунопатологические изменения при тяжелой черепно-мозговой травме. Иммунология 2009; 3: 180–184.
4. Пишель Я. В., Григорьева И. А. Состояние гуморального иммунитета у больных с тяжелой черепно-мозговой травмой в остром и отдаленном периодах. Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова 1984; 84 (5): 672–675.
5. Редькин Ю. В. Патологические аспекты иммунологических нарушений при травматической болезни: автореферат дис. док. мед. наук. Томск; 1988.
6. Епифанцева Н. Н., Борщикова Т. И., Чурляев Ю. А. и соавт. Эндогенная интоксикация при легочных осложнениях у больных с тяжелой черепно-мозговой травмой. Общая реаниматология 2008; IV (3): 36–43.
7. Grechko A. T. The neurotropic activity of peptide immunomodulators // *Eksp. Klin. Farmakol.* — 1998. — 61. — P. 14–16.
8. Peptidergic drugs increase the synaptophysinimmunoreactivity in brains of 24-month-old rats // *Histochem. J.* — 1999. — 31. — P. 395–401.
9. Кульчиков А. Е., Моложавая О. С., Скачкова О. В. и др. Сравнительное изучение иммунокорректирующего действия нейропептидных препаратов при острой экспериментальной цереброваскулярной патологии // *Цитокины и воспаление.* — 2009. — № 3. — С. 18–23.

