

2. Шиловский И.П. [и др.]. Разработка безадыювантной модели хронической бронхиальной астмы у мышей // Российский иммунологический журнал. 2014. № 17 (3). С. 638–641.
3. Шиловский И.П. [и др.]. Интерференция РНК – новый подход в терапии аллергической бронхиальной астмы // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2016. № 4 (79). С. 35–44.
4. Al-Ramli W. [и др.]. TNF17-associated cytokines (IL-17A and IL-17F) in severe asthma // Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2009. № 5 (123). С. 1185–1187.
5. Campo P. [и др.]. Phenotypes and endotypes of uncontrolled severe asthma: New Treatments // Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology. 2013. № 2 (23). С. 76–88.
6. Dougherty R.H., Fahy J. V. Acute exacerbations of asthma: Epidemiology, biology and the exacerbation-prone phenotype // Clinical and Experimental Allergy. 2009. № 2 (39). С. 193–202.
7. Kitch B.T., Levy B.D., Fanta C.H. Epidemiology, Diagnosis and Treatment 2000. № 5 (17). С. 385–397.
8. Shilovskiy I.P. [и др.]. Adjuvant and adjuvant-free protocols produce similar phenotypes of allergic asthma in mice // Current trends in immunology. 2015. (16). С. 79–91.
9. Shilovskiy I.P. [и др.]. Anticytokine therapy of allergic asthma // Molecular Biology. 2017. № 1 (51). С. 1–13.
10. Zosky G.R., Sly P.D. Animal models of asthma. // Clinical and experimental allergy. 2007. № 7 (37). С. 973–988.
11. Jackson D.J. et al. IL-33-dependent type 2 inflammation during rhinovirus-induced asthma exacerbations in vivo. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2014. Vol. 190, № 12. P. 1373–1382.

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОВ С ТРАВМОЙ МОЗГА РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

Норка А.О.

Воробьев С.В., Кузнецова Р.Н., Кудрявцев И.В., Коваленко С.Н.

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И.П.Павлова,
Санкт-Петербург

E-mail: norka-anna@mail.ru

FEATURES OF THE IMMUNE STATUS IN PATIENTS WITH TRAUMATIC BRAIN INJURY OF VARYING SEVERITY

Norka A.O.¹, Vorobyev S.V.², Kuznetsova R.N.³, Kudryavtsev I.V.⁴, Kovalenko S.N.^{5,6}

¹ Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Russia

² Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Russia

³ Saint Petersburg Pauster Institute, Russia

⁴ Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of Experimental Medicine», Russia

⁵ S.M. Kirov Military Medical Academy, Russia

⁶ City Hospital No. 26, St. Petersburg, Russia.

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является одной из наиболее распространенных патологий центральной нервной системы в мире. При этом ее удельный вес составляет 25–40% от всех видов травм (1). Применение рутинных методов структурной нейровизуализации, таких как компьютерная и магнитно-резонансная томография (КТ и МРТ), проводимая в стандартных режимах, зачастую не позволяют своевременно оценить тяжесть произошедших нарушений на клеточном уровне. Это характерно, в первую очередь, для ЧМТ легкой степени тяжести, при которой наблюдается суб-

микроскопический уровень повреждения (2). Данное положение предопределяет необходимость поиска новых приемов дифференциальной диагностики тяжести ЧМТ и прогнозирования риска развития последствий.

В настоящее время большое внимание уделяется поиску биологических маркеров, которые бы отражали протекающие в травмированном мозге патохимические и патофизиологические процессы. Их обнаружение будет способствовать более информативной оценке имеющихся повреждений и правильному подбору терапевтической стратегии. Одним из таких перспективных

направлений является исследование иммунного статуса или субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови пациентов в остром периоде травмы. На основании имеющихся в литературе сведений известно, что в ответ на повреждение головного мозга запускается реакция со стороны иммунной системы, однако ее роль в формировании отдельных клинических проявлений, в особенности с учетом последних данных в области нейробиологии, до настоящего времени остается малоизученной проблемой (3,4).

Реакции со стороны иммунной системы, которые развиваются после травмы мозга и, возможно, направлены против собственных антигенов, в раннем периоде заболевания имеют отношение к повреждению нервной ткани. Так посредством эндогенных молекул (HSPs, АТР, НМGB1), образующиеся в результате повреждения нервной ткани, активируются клетки иммунной системы. Однако по последним имеющимся данным, реакции со стороны иммунной системы впоследствии способны стимулировать процессы репарации и регенерации в мозговой ткани. (7).

Современные научные исследования указывают, что Т-клетки играют роль как в формировании вторичных повреждений, так и в механизмах восстановления. Они обеспечивают протекцию нейронов посредством продукции ряда нейротрофических факторов, в частности такого как нейротрофический фактор мозга (BDNF), который стимулирует рост нейронов, формирование синапсов (7). Кроме того, Т-клетки способны потенцировать выживание нейронов, влияя на фенотип миелоидных клеток в месте повреждения, участвуя в процессах поляризации в М2-клетки через продукцию интерлейкина-4 (IL-4) и IL-13. В дальнейшем М2-клетки организуют стимуляцию нейропротекции посредством продукции нейропротекторных молекул, таких как трансформирующий фактор роста b (TGF-b), инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF1), IL-10 и ряд других (5).

Целью нашего исследования являлся анализ характера изменений субпопуляций Т-клеток у больных с травмой мозга, протекающей как на фоне ультраструктурных изменений (сотрясение головного мозга), так и имеющих макроструктурные повреждения (ушиб головного мозга различной степени тяжести).

Материалы и методы.

Нами было обследовано 38 пациентов с диагнозом ЧМТ, находившихся на стационарном лечении и обследовании в городской больнице № 26 города Санкт-Петербурга. Из них сотрясение головного мозга установлено у 22 человек, ушиб головного мозга – у 16 человек. Контрольную группу составили 40 относительно-здоровых лиц. Все обследованные пациенты были сопоставимы по полу, возрасту.

Диагноз черепно-мозговая травма устанавливался в соответствии с принятыми критериями диагностики, включающими данные анамнеза, клинической картины, результатов дополнительных методов исследования (КТ/МРТ). Также проводилось комплексное нейропсихологическое тестирование, позволившее оценить различные составляющие когнитивных функций. Критериями исключения являлись: имеющиеся ЧМТ любой степени тяжести в анамнезе, врожденные дефекты иммунной системы, наличие острых и хронических инфекционных заболеваний, сопутствующая соматическая патология в стадии обострения и требующая лечения, иная патология центральной нервной системы, экзогенная интоксикация, пожилой возраст.

Все исследования проводились в день взятия крови. Подготовку образцов периферической крови и настройку проточного цитофлуориметра проводили в соответствии с рекомендациями производителей антител. Для выявления Т-хелперов использовали антитела против CD3 и CD4, для разделения CD3+CD4+ лимфоцитов на отдельные субпопуляции применяли антитела против CD45RA и CD62L производства Beckman Coulter, США. На всех указанных выше субпопуляциях CD3+CD4+ лимфоцитов, находящихся на разных стадиях дифференцировки, при помощи моноклональных антител анализировали уровень экспрессии хемокиновых рецепторов: CCR4 (CD194, клон L291H4), CCR6 (CD196, клон G034E3), CXCR3 (CD183, клон G025H7) и CXCR5 (CD185, клон J252D4) производства Biolegend, США. Удаление эритроцитов из образцов проводили с использованием лизирующего раствора VersaLyse (Beckman Coulter, США), к 975 мкл которого *ex tempore* добавляли 25 мкл фиксирующего раствора IOTest 3 Fixative Solution (Beckman Coulter, США). Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре Navios TM (Beckman Coulter, США). Цитофлуориметрических данных выполняли при помощи программы GraphPad Prism. Результаты выражали в виде % позитивных клеток от искомой популяции, а также представляли их средние значения и среднюю ошибку ($M \pm m$). Статистическую значимость различий между выборками выявляли при помощи t-критерия Стьюдента с использованием непараметрических метода Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение.

Мы проанализировали CD45RA-негативную популяцию CD3 + CD4 + клеток у пациентов с ЧМТ различной степени тяжести в остром периоде заболевания в сравнение с контрольной группой на основании экспрессии хемокиновых рецепторов CXCR5, CXCR3, CCR6, CCR4. Этот подход позволил нам определить фенотип Th1 (CXCR5-CXCR3+CCR6-CCR4-),

Th2 (CXCR5-CXCR3-CCR6-CCR4+), Th17/Th22 (CXCR5-CXCR3-CCR6+CCR4+), Th1/Th17 (CXCR5-CXCR3+CCR6+CCR4-), Tfh1 (CXCR5+CXCR3+CCR6-CCR4-) и Th17 (CXCR5-CXCR3-CCR6+CCR4-) клеток. Сравнение этих субпопуляций Th между пациентами и контрольной группой показало значительно более низкое значение Th1 ($p < 0,001$), у пациентов с ушибом головного мозга и значительно более высокое значение Th17 ($p < 0,001$; $p < 0,001$) у пациентов с ушибом и сотрясением головного мозга в сравнение с группой контроля. Кроме того, мы наблюдали значительное повышение количества Th17/Th22 ($p < 0,0001$) у пациентов с ушибом головного мозга и повышение количества Th1/Th17 ($p < 0,001$) у пациентов с сотрясением головного мозга в сравнение со здоровыми лицами.

Что касается Tfh1-клеток, их количественные изменения незначительны в сравнение со здоровыми лицами, однако установлены существенные изменения ($p < 0,001$) между группами больных с ЧМТ, при этом выявлены разнонаправленные изменения, так у пациентов с сотрясением головного мозга происходит увеличения количества Tfh1 ($3,8 \pm 0,25$) и снижение их количества у пациентов с ушибом головного мозга ($1,7 \pm 0,15$) в сравнение со здоровыми лицами ($3,5 \pm 0,2$).

Кроме того в субпопуляции Th2 клеток нет достоверных различий между пациентами с травмой мозга и контрольной группой.

Заключение.

Таким образом, сотрясение и ушиб головного мозга оказывают воздействие на клеточный иммунный ответ, вызывая снижение или повышение определенных субпопуляций клеток в CD45RA-негативной популяции CD3 + CD4 + лимфоцитов. Было выявлено, что при ушибе головного мозга происходит более сильная активация клеток, участвующих в воспалении наряду с клетками, участвующих в репаративных процессах. Возможно эти изменения могут быть предиктором

формирования клинической картины посттравматической энцефалопатии в отдаленном периоде, что требует усовершенствования лечебного и реабилитационного алгоритмов у данной категории больных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Damir Nizamutdinov, Lee A. Shapiro. Overview of Traumatic Brain Injury: An Immunological Context Overview of Traumatic Brain Injury: An Immunological Context. Brain Sci. 2017, 7, 11;
2. Melikyan Z.A., Mikadze Yu.V., Potapov A.A. Neurovisualization and Neuropsychological Studies in the Clinic of Traumatic and Brain Injuries of Mild to Medium Severity, Zh. Nevrol. and psychiatrist. – 2010. – Т. 110, No. 12. – P. 100-111.
3. Isaeva R.Kh., Antonyuk I.A., Gridyakina A.V., Evstafeva A.E. Immunological changes in traumatic brain injury // Intern. Log applied and basic research. – 2014. – № 8. – p. 41-47.
4. Xiong Y., Mahmood A., Chopp M. Current understanding of neuroinflammation after traumatic brain injury and cell-based therapeutic opportunities // Chin. J. Traumatol. – 2018. – Vol. 21 (3). – P. 137-151.
5. Yasir N. Jassam, Saef Izzy, Michael Whalen, Dorian B. McGavern, Joseph El Khoury Neuroimmunology of Traumatic Brain Injury: Time for a Paradigm Shift Neuron. 2017;95(6)1246
6. O'Neil ME, Carlson K, Storzbach D, Brenner L, Freeman M, Quiñones A, Motu'apuaka M, Ensley M, Kansagara D. Complications of Mild Traumatic Brain Injury in Veterans and Military Personnel: A Systematic Review. Washington (DC): Department of Veterans Affairs (US); 2013 Jan.
7. Celia A. McKee and John R. Lukens. T cells in the central nervous system: messengers of destruction or purveyors of protection? Immunology.- 2014.- 141, 340–344.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ: ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ И ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ

Образцов И. В., Корсунский И. А., Федоскова Т. Г.

Адрес для корреспонденции: Шмитовский пр-д, 29, Москва, 123317

E-mail: Эл. почта: igor_obraztsov@bk.ru

Введение. Колоректальный рак (КРР) является одним из наиболее распространенных злокачественных новообразований, занимающим третье место по смертности среди причин смерти, связанных с онко-

логическими заболеваниями [1]. Небольшая доля КРР характеризуется генетической предрасположенностью (семейный аденоматозный полипоз, синдром Линча и другие редкие синдромы), в то время как основная часть