

ЦИТОКИНЫ, ОКСИДАНТНЫЙ СТРЕСС И АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА ПРИ ИЗОЛИРОВАННОЙ И СОЧЕТАННОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ

А. Д. Беляевский¹, Е. А. Лебедева¹, М. Е. Белоусова²

¹ ФПК и ППС Ростовский государственный медицинский университет кафедра анестезиологии и реаниматологии,

² МЛПУ городская больница скорой медицинской помощи № 2, Ростов-на-Дону

Cytokines, Oxidative Stress and Antioxidant Defense in Isolated and Concomitant Brain Injury

A. D. Belyaevsky¹, Ye. A. Lebedeva¹, M. Ye. Belousova²

¹ Department of Anesthesiology and Reanimatology, Rostov-on-Don State Medical University;

² City Emergency Medical Care Hospital Two, Rostov-on-Don

Цель исследования: изучение взаимосвязи показателей цитокинового статуса с биохимическими маркерами оксидантного стресса и антиоксидантной защиты как звеньев системной воспалительной реакции у пострадавших с тяжелой изолированной и сочетанной черепно-мозговой травмой. **Материал и методы:** исследование проведено у 12 пострадавших с тяжелой изолированной ЧМТ и у 14 пострадавших с тяжелой сочетанной ЧМТ в возрасте от 18 до 69 лет, находившихся на стационарном лечении в отделении анестезиологии и реанимации МЛПУ БСМП № 2 г. Ростова-на-Дону. **Результаты:** установлена прямая средняя корреляционная связь между уровнем ИЛ-4 и концентрацией МДА эритроцитов в 1–3-и и на 5–7-е сутки от момента повреждения у больных с тяжелой изолированной ЧМТ. У пациентов с сочетанной ЧМТ выявлена прямая средняя корреляционная связь между уровнем МДА плазмы и уровнями ИЛ-10 на 1–3-и сутки от момента травмы. У пациентов с сочетанной ЧМТ выявлена зависимость между дисбалансом в цитокиновом статусе и процессом деструкции клеточных биомембран, на что указывает диссоциация в наличии обратной средней корреляционной связи между содержанием ИЛ-6 и уровнем МДА эритроцитов и прямой сильной корреляционной связью между содержанием ИЛ-6 и уровнем МДА плазмы. **Заключение:** полученные результаты свидетельствуют о том, что при травматическом повреждении головного мозга дисбаланс системы цитокинов ассоциируется с оксидантным стрессом и активацией системы АОЗ, что позволяет рассматривать эти процессы как компоненты единого механизма повреждения головного мозга. Особенно наглядно данная закономерность проявляется у пострадавших с сочетанной ЧМТ. **Ключевые слова:** черепно-мозговая травма, система перекисного окисления липидов, антиоксидантная защита, цитокиновый статус.

Objective: to study a relationship of the parameters of the cytokine status to the biochemical markers of oxidative stress and antioxidant defense (AOD) as the links of a systemic inflammatory reaction in victims with severe isolated and concomitant brain injury (BI). **Subjects and methods.** The study was conducted in 12 victims with severe isolated BI and in 14 with severe concomitant BI, aged 18 to 69 years, who were treated at the Unit of Anesthesiology and Reanimatology, Rostov-on-Don City Emergency Medical Care Hospital Two. **Results.** A direct average correlation was found between the level of IL-4 and the concentration of malondialdehyde (MDA) in the red blood cells on days 1–3 and 5–7 after the onset of injury in the patients with severe isolated BI. Those with concomitant BI showed a direct average correlation between the plasma level of MDA and the concentration of IL-10 on days 1–3 after the onset of injury. In patients with concomitant BI, there was a relationship between the imbalance in the cytokine status and the destruction of cell biomembranes, which is evidenced by dissociation in the presence of an inverse average correlation between the content of IL-6 and the level of MDA in the red blood cells and a direct strong correlation between the content of IL-6 and the level of MDA in the plasma. **Conclusion.** The findings suggest that in traumatic brain injury, imbalance in the cytokine system is associated with oxidative stress and AOD activation, which permits these processes to be regarded as components of a common mechanism of brain injury. This regularity is particularly evident in victims with concomitant BI. **Key words:** brain injury, lipid peroxidation system, antioxidant defense, cytokine status.

К настоящему этапу развития фундаментальной и клинической медицины всё большую популярность обретает концепция синдрома системной воспалительной

реакции, определяющей течение многих критических состояний.

Травматическая болезнь головного мозга на всем протяжении сопровождается воспалительными процессами, конечной целью которых является ликвидация последствий повреждения. Есть все основания утверждать, что травматическая болезнь головного мозга протекает по законам синдрома системной воспалительной реакции.

Адрес для корреспонденции (Correspondence to):

Лебедева Елена Александровна
E-mail: okulus@yandex.ru

Травма нарушает деятельность мозга как за счет первичного (биомеханические факторы), так и вследствие последующего вторичного повреждения (активация патофизиологических каскадов). Вторичное повреждение охватывает множество сложных биохимических и клеточных процессов, усугубляющих тяжесть первичного повреждения [1]. Значимое место здесь отводится цитокинам, продуктам перекисного окисления липидов (ПОЛ) и компонентам антиоксидантной защиты (АОЗ).

В этой связи представляет интерес изучение взаимосвязи показателей цитокинового статуса и биохимических маркеров оксидантного стресса как звеньев системной воспалительной реакции у пострадавших с тяжелой изолированной и сочетанной черепно-мозговой травмой (ЧМТ).

Материалы и методы

Исследование проведено у 12-и пострадавших с тяжелой изолированной ЧМТ и у 14-и пострадавших с тяжелой сочетанной ЧМТ в возрасте от 18 до 69 лет, находившихся на стационарном лечении в отделении анестезиологии и реанимации МЛПУ БСМП № 2 г. Ростова-на-Дону. У всех больных имелось два и более клинико-лабораторных признака синдрома системной воспалительной реакции. Степень органной дисфункции в исследуемых группах оценивали по шкале SOFA.

Проанализированы данные, полученные от 20-и выживших пациентов (10 — с изолированной ЧМТ и 10 — с сочетанной ЧМТ), сопоставимых по полу, возрасту, тяжести состояния и исходной степени органной дисфункции (при поступлении средний балл по SOFA у пациентов с изолированной ЧМТ составил $9,3 \pm 0,76$, у пациентов с сочетанной ЧМТ — $10,5 \pm 0,72$, при $p=0,29$).

Изучение показателей степени выраженности оксидантного стресса, АОЗ и компонентов цитокинового статуса проводили в 1–3-е сутки и через 5–7 суток от момента получения травмы.

В качестве показателей степени оксидантного стресса исследовали содержание продуктов ПОЛ в эритроцитах и плазме крови: диеновых конъюгат (ДК), малонового диальдегида (МДА) и шиффовых оснований (ШО). АОЗ оценивалась по уровню супер-оксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КА), супер-оксидустраивающей активности плазмы крови (СУА).

Содержание ДК определяли по методу И. Д. Стальной [2]. Концентрацию МДА определяли по методу И. Д. Стальной и Т. Г. Горшвили [2]. Уровень ШО исследовали методом Bidlack et al. [3]. Активность СОД определялась по методу Т. В. Сироты [4], КА — по методу М. А. Королюка и соавт. [5].

Компоненты цитокинового статуса оценивали по концентрации в плазме крови провоспалительных и противовоспалительных цитокинов: ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-4, ИЛ-10, определение которых проводили методом, основанном на твердофазном «сэндвич»-варианте иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов ИФА-Бест ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск (Россия).

В качестве нормальных значений приняты показатели 10-и здоровых доноров станции переливания крови, сопоставленные с исследуемыми группами по полу и возрасту.

Статистическую обработку цифрового материала проводили при помощи программы «Statistika 6.0 for Windows» методами описательной статистики, непараметрическими методами для зависимых (тест Wilcoxon) и независимых (тест Mann-Whitney) переменных, а также путем выполнения корреляционного анализа (критерии Spearman) с расчетом коэффициента ранговой корреляции (R). Данные приведены в виде указания среднего значения (M) \pm стандартная ошибка среднего (m).

Результаты и обсуждение

Результаты, полученные при исследовании, представлены в таблицах.

В процессе анализа данных по изменению концентрации сывороточных цитокинов установлено, что статистически подтвержденные отличия получены только в отношении ИЛ-4. Так, содержание ИЛ-4 у пациентов с сочетанной и изолированной ЧМТ превышает значение у здоровых доноров на 1–3-е сутки в 1,5 и в 1,6 раза, соответственно ($p=0,004$, $p=0,004$). К 5–7-м суткам наблюдения у пациентов исследуемых групп концентрация ИЛ-4 в плазме крови оставалась повышенной, достигая наибольших значений у пациентов с изолированной ЧМТ.

Содержание продуктов ПОЛ у пациентов с изолированной и сочетанной ЧМТ в 1–3-и сутки после травмы повышается как в эритроцитах, так и в плазме в сравнении с данными, полученными от здоровых доно-

Таблица 1
Концентрация сывороточных цитокинов у пациентов с тяжелой изолированной и сочетанной ЧМТ

Показатель	Здоровые доноры	Значения показателей в группах			
		Изолированная ЧМТ (n=10)		Сочетанная ЧМТ (n=10)	
Период наблюдения		1–3-и сутки	5–7-е сутки	1–3-и сутки	5–7-е сутки
		ФНО- α , пг/мл	$1,26 \pm 0,2$	$0,898 \pm 0,172$ -28,73% $p=0,25$	$1,926 \pm 0,44$ +52,86% $p=0,77$
ИЛ-6, пг/мл	$33 \pm 0,6$	$39,968 \pm 11,504$ +21,12% $p=0,2$	$21,602 \pm 3,203$ -34,54% $p=0,2$	$107,912 \pm 24,774$ +227,01% $p=0,32$	$40,477 \pm 7,358$ +22,66% $p=0,67$
		ИЛ-4, пг/мл	$1,9 \pm 0,23$	$3,022 \pm 0,374$ +59,05% $p=0,004$	$2,895 \pm 0,305$ +52,37% $p=0,004$
ИЛ-10, пг/мл	$4,3 \pm 0,4$	$7,118 \pm 1,947$ +65,53% $p=0,9$	$5,920 \pm 1,386$ +37,67% $p=0,4$	$17,94 \pm 6,74$ +317,21% $p=0,77$	$4,692 \pm 1,938$ +9,12% $p=0,15$

Примечание. Здесь и в табл. 2–3: во второй строке указан процент изменения по сравнению со здоровыми донорами; знаки «+» или «-» означают направленность изменений показателя по сравнению с нормой; p — достоверность изменений по сравнению с нормой.

Таблица 2

Показатели перекисного окисления липидов у пациентов с тяжелой изолированной и сочетанной ЧМТ

Показатель	Здоровые доноры	Значения показателей в группах			
		Изолированная ЧМТ (n=10)		Сочетанная ЧМТ (n=10)	
Период наблюдения		1–3-и сутки	5–7-е сутки	1–3-и сутки	5–7-е сутки
ДК (эритроциты), нмоль/мг Нб	5,79±0,276	8,446±0,985 +45,87% p=0,001	9,844±0,824 +70,02% p=0,005	13,76±0,509 +137,65% p=0,004	14,448±0,872 +149,53% p=0,004
ДК (плазма крови), нмоль/мл	12,38±0,875	21,41±1,213 +72,94% p=0,001	27,779±1,494 +124,39% p=0,004	24,14±0,811 +94,99% p=0,004	31,958±1,204 +158,14% p=0,004
МДА (эритроциты), нмоль/мг Нб	0,99±0,039	2,415±0,166 +143,94% p=0,007	3,432±0,297 +246,67% p=0,004	2,34±0,455 +136,36% p=0,008	4,152±0,557 +319,39% p=0,008
МДА (плазма крови), нмоль/мл	20,09±0,922	28,171±2,07 +40,22% p=0,03	33,336±2,49 +65,93% p=0,005	29,78±1,589 +48,23% p=0,01	35,982±3,77 +79,1% p=0,009
ШО (эритроциты), единицы флуоресценции/мг Нб	9,55±0,206	11,802±0,307 +23,58% p=0,06	12,557±0,216 +31,49% p=0,004	12,54±0,317 +31,31% p=0,009	13,135±0,358 +37,54% p=0,001
ШО (плазма крови), единицы флуоресценции/мг Нб	17,01±0,162	19,501±0,66 +14,64% p=0,07	26,855±1,324 +57,88% p=0,04	20,552±0,212 +20,82% p=0,004	27,488±1,563 +61,6% p=0,006

Таблица 3

Показатели антиоксидантной защиты у пациентов с тяжелой изолированной и сочетанной ЧМТ

Показатель	Здоровые доноры	Значения показателей в группах			
		Изолированная ЧМТ (n=10)		Сочетанная ЧМТ (n=10)	
Период наблюдения		1–3-и сутки	5–7-е сутки	1–3-и сутки	5–7-е сутки
СОД (эритроциты), у. е./мин. мг Нб	3,55±0,199	3,051 ± 0,176 -14,06% p=0,1	2,149 ± 0,208 -39,46% p=0,005	1,944 ± 0,183 -45,24% p=0,001	1,986 ± 0,284 -44,06% p=0,003
СУА (плазма крови), у. е./мин. мл	0,63±0,03	2,811 ± 0,239 +346,19% p=0,004	3,213 ± 0,316 +410,0% p=0,004	3,311 ± 0,328 +425,56% p=0,004	4,542 ± 0,245 +620,95% p=0,007
КА (эритроциты), нмоль/мг Нб	37,83±0,25	18,053 ± 1,521 -52,28% p=0,004	17,727 ± 1,581 -53,14% p=0,004	17,287 ± 1,041 -54,30% p=0,004	13,553 ± 0,503 -64,17% p=0,004
КА (плазма крови), нмоль/мл Нб	15,36±0,579	13,326 ± 0,789 -13,24% p=0,06	22,66 ± 1,296 +47,53% p=0,001	18,927 ± 1,297 +23,22% p=0,15	26,217 ± 1,486 +70,68% p=0,009

ров. Так, концентрация ДК в плазме крови в указанный срок наблюдения превышает показатели здоровых доноров в 1,7 раз у пациентов с изолированной ЧМТ ($p=0,001$) и в 2 раза у пострадавших с сочетанной травмой ($p=0,004$). Отмечено, что изменения показателя МДА в эритроцитах более существенны, чем в плазме. Так, содержание МДА в эритроцитах у пациентов с изолированной ЧМТ превышает норму в 2,5 раза ($p=0,007$) и в группе с сочетанной травмой в 2,4 раза ($p=0,008$), в то время как содержание этого же продукта ПОЛ в плазме превышает показатель здоровых доноров у пациентов с изолированной ЧМТ в 1,4 раза ($p=0,03$), с сочетанной ЧМТ – в 1,5 раза ($p=0,01$).

К 5–7-м суткам активность процессов перекисидации сохраняется на высоком уровне у пациентов обеих групп с тяжелой ЧМТ, что выражается в увеличении концентрации всех продуктов ПОЛ по сравнению с нормой. У пациентов с сочетанной травмой оксидантный

стресс более выражен. На 5–7-е сутки содержание ДК и ШО в плазме крови у пациентов с сочетанной ЧМТ превышает норму в 2,5 ($p=0,004$) и в 1,5 раза ($p=0,006$), соответственно. У пациентов с изолированной ЧМТ данные показатели превышают нормальные значения в 2,2 ($p=0,004$) и в 1,5 раза ($p=0,04$), соответственно.

Изменения в системе АОЗ разнонаправленны по сравнению с показателями здоровых доноров. Активность СОД в 1–3-е сутки наблюдения в эритроцитах была ниже нормы в 1,8 раза у пострадавших сочетанной ЧМТ ($p=0,001$). Изменение данного показателя у пострадавших с изолированной ЧМТ по сравнению с данными, полученными от здоровых доноров в указанный срок наблюдения, статистически не достоверны. СУА в плазме крови в 1–3-е сутки наблюдения имела значения, превышающие нормальные показатели в 4,6 раза у пациентов с изолированной ЧМТ ($p=0,004$) и в 5,5 раз – с сочетанной ($p=0,004$). При изучении динамики ак-

тивности антиоксидантных ферментов у пациентов с наличием тяжелой ЧМТ получены данные, свидетельствующие о дальнейшем снижении их активности в клетках при увеличении таковой в плазме по сравнению с данными, полученными от здоровых доноров.

При непараметрическом сравнении уровней цитокинов, показателей оксидантного стресса и антиоксидантной защиты в 1–3-и и 5–7-е сутки у пациентов с тяжелой изолированной и сочетанной ЧМТ была установлена статистически достоверная динамика следующих показателей: ИЛ-4, ДК эритроцитов, ДК плазмы, МДА эритроцитов, МДА плазмы, СУА плазмы и КА эритроцитов ($0,001 < p < 0,05$) по сравнению с показателями здоровых доноров.

При корреляционном анализе уровней цитокинов, показателей оксидативного стресса и антиоксидантной защиты по критерию Spearman у больных с тяжелой изолированной ЧМТ установлена прямая средняя корреляционная связь между уровнем ИЛ-4 и концентрацией МДА эритроцитов как в 1–3-и сутки ($R=0,531$, $p=0,016$), так и на 5–7-е сутки ($R=0,519$, $p=0,0019$) от момента травмы.

У пациентов с сочетанной ЧМТ выявлено наличие прямой средней корреляционной связи между уровнем МДА плазмы и уровнями ИЛ-10 на 1–3-и сутки от момента травмы ($R=0,489$, $p=0,028$).

У пациентов с сочетанной ЧМТ выявлена обратная средняя корреляционная связь между уровнем ИЛ-6 и содержанием КА эритроцитов ($R=-0,554$, $p=0,011$), при наличии прямой сильной корреляционной связи между КА плазмы и уровнем ИЛ-6 ($R=0,613$, $p=0,005$).

Выявленные закономерности (прямая средняя корреляционная связь между уровнем ИЛ-4 и концентрацией МДА эритроцитов у пациентов с изолированной ЧМТ, прямая средняя корреляционная связь между уровнем ИЛ-10 и концентрацией МДА плазмы у пациентов с сочетанной ЧМТ, обратная средняя корреляционная связь между уровнем ИЛ-6 и содержанием КА эритроцитов у пациентов обеих групп), на наш взгляд, свидетельствуют о том, что при травматическом повреждении головного мозга дисбаланс системы цитокинов ассоциируется с оксидантным стрессом и угнетением системы АОЗ. По нашему мнению, механизм выявленных связей может быть следующим: дефицит внутриклеточной КА, мощного эндогенного фермента, является одним из факторов, способствующих накопле-

нию свободных радикалов, которые, в свою очередь, запускают продукцию ИЛ-4 и ИЛ-6 при тяжелой ЧМТ.

Наши данные согласуются с результатами, полученными Lynch G. et al. [6], которые показали, что избыток активных форм кислорода (АФК) усиливает экспрессию провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО- α), а противовоспалительные цитокины ИЛ-4 и ИЛ-10, являясь антагонистами провоспалительных, выступают как синергисты в подавлении продукции супероксидных и нитроксидных радикалов, действуя на фермент, участвующий в их образовании [7].

У пациентов с сочетанной ЧМТ выявлена зависимость между дисбалансом в цитокиновом статусе и процессом деструкции клеточных биомембран, на что указывает диссоциация в наличии обратной средней корреляционной связи между содержанием ИЛ-6 и уровнем МДА эритроцитов и прямой сильной корреляционной связи между содержанием ИЛ-6 и уровнем МДА плазмы.

Вероятнее всего, именно дисбаланс в системе провоспалительных и противовоспалительных цитокинов взаимосвязан с оксидантным стрессом и активацией системы АОЗ при травматическом повреждении головного мозга, что позволяет рассматривать эти процессы как компоненты единого механизма травматической болезни головного мозга. Особенно наглядно данная закономерность проявляется у пострадавших с сочетанной ЧМТ, что вполне логично, учитывая наличие повреждений других органов и тканей в условиях снижения координирующей роли ЦНС по отношению к обменным процессам вообще и к процессам ПОЛ в частности [8, 9].

Заключение

Подтверждена взаимосвязь между дисбалансом в системе цитокинов, оксидантным стрессом и системой АОЗ при тяжелом травматическом повреждении головного мозга. Взаимосвязь между указанными процессами может рассматриваться как компонент единого механизма травматической болезни головного мозга. Взаимосвязь рассмотренных разделов гомеостаза дает теоретическое обоснование возможности их взаимокоррекции путем использования различных средств и методов, имеющихся на вооружении или разрабатываемых в настоящее время в медицине.

Литература

1. *Мурешану Д. Ф.* Нейропротекция и нейропластичность при черепно-мозговой и спинальной травме (лекция). Междунар. неврологич. журн. 2007; 6: 16.
2. *Стальная И. Д., Горишвили Т. Д.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. В кн.: Современные методы в биохимии. М.: Медицина; 1977. 66–68.
3. *Bidlack W. R., Tappel A. L.* Fluorescent products of phospholipids during lipid peroxidation. *Lipids* 1973; 8 (4): 203–207.
4. *Сирота Т. В.* Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использования его для измерения активности супероксиддисмутазы. *Вопр. мед. химии* 1999; 3: 14–15.
5. *Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е.* Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело* 1988; 1: 16–19.
6. *Lynch G., Granger R., Ambros-Ingerson J. et al.* Evidence that a positive modulator of AMPA-type glutamate receptors improves delayed recall in aged humans. *Exp. Neurology* 1997; 145 (1): 89–92.
7. *Фрейдлин И. С.* Ключевая позиция макрофагов в цитокиновой регуляторной сети. *Иммунология* 1995; 16 (3): 45–48.
8. *Белицкая Т. С.* Оптимизация интенсивной терапии при черепно-мозговой травме: Дис. ... к. м. н. Ростов-на-Дону; 2000: 203.
9. *Беляевский А. Д., Заварзин П. Ж., Мареев Д. В. и соавт.* Синдром мультисистемной дисфункции как типовой патологической процесс в оценке функционального состояния больных с острой хирургической патологией и повреждением головного мозга. *Укр. журн. эксперимент. медицины им. Г.А. Можалева* 2001; 2: 70–74.

Поступила 29.10.08