

ОСОБЕННОСТИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ С УШИБОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЛЕГКОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

Норка А.О.^{1,2}, Воробьев С.В.³, Кузнецова Р.Н.^{1,2}, Серебрякова М.К.⁴,
Кудрявцев И.В.^{1,4}, Коваленко С.Н.⁵, Монашенко Д.Н.⁶, Коробова З.Р.^{1,2}

¹ ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

² ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

⁵ ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова», Санкт-Петербург, Россия

⁶ СПб ГБУЗ «Городская больница № 26», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является одной из важнейших проблем в системе здравоохранения. В патогенезе первичной травмы важную роль играет воздействие механической энергии на ткани покровов головы и мозга за счет ударной волны, которая распространяется от места приложения травмирующего агента, а также перемещение и ротация полушарий мозга относительно более фиксированного ствола головного мозга. В результате этих механизмов инициируется каскад метаболических, биохимических и воспалительных изменений, приводящих к вторичному повреждению. ЧМТ в зависимости от ее механизма, тяжести и вида приводит к различным по степени и распространенности первичным структурно-функциональным повреждениям мозга на молекулярном, клеточном, тканевом и органном уровнях с расстройством центральной регуляции всех систем организма. Большинство данных свидетельствует о том, что травма головного мозга повышает риск развития эпилепсии и нейродегенеративных расстройств, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и хроническая травматическая энцефалопатия (ХТЭ), при этом наблюдается ущерб психическому здоровью. ЧМТ – это процесс, а длительно существующие симптомы у пациентов представляют собой функциональные и структурные повреждения. В ответ на травматическое воздействие происходит высвобождение молекулярных паттернов, связанных с повреждением (DAMP), что приводит к активации резидентных клеток мозговой ткани и последующей секреции этими клетками

Адрес для переписки:

Норка Анна Олеговна
ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский
государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова» Министерства
здравоохранения РФ
197022, Россия, Санкт-Петербург,
ул. Льва Толстого, 6-8.
Тел.: 8 (911) 218-85-00.
E-mail: norka-anna@mail.ru

Address for correspondence:

Norka Anna O.
First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University
197022, Russian Federation, St. Petersburg,
L. Tolstoy str., 6-8.
Phone: 7 (911) 218-85-00.
E-mail: norka-anna@mail.ru

Образец цитирования:

А.О. Норка, С.В. Воробьев, Р.Н. Кузнецова,
М.К. Серебрякова, И.В. Кудрявцев, С.Н. Коваленко,
Д.Н. Монашенко, З.Р. Коробова «Особенности
гуморального иммунитета у пациентов с ушибом
головного мозга легкой степени тяжести» // Российский
иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 4. С. 471-476.
doi: 10.46235/1028-7221-1182-FOH

© Норка А.О. и соавт., 2022

For citation:

A.O. Norka, S.V. Vorobyev, R.N. Kuznetsova,
M.K. Serebriakova, I.V. Kudryavtsev, S.N. Kovalenko,
D.N. Monashenko, Z.R. Korobova "Features of humoral
immunity in patients with mild traumatic brain injury",
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2022, Vol. 25, no. 4, pp. 471-476.
doi: 10.46235/1028-7221-1182-FOH

DOI: 10.46235/1028-7221-1182-FOH

хемокинов и цитокинов. К очагу повреждения мигрируют нейтрофилы, которые способствуют удалению поврежденных клеток. Миграция Т- и В-клеток происходит через 3-7 дней после травмы. Таким образом после первичной травмы в результате каскада иммунных ответов возникает более обширное повреждение, называемое «вторичной травмой».

Целью нашего исследования является изучение роли иммунологических реакций в патогенезе ушиба легкой степени тяжести.

Было достоверно повышено количество Bm2-клеток, IgD^{dim}CD27^{low} «наивных» В-клеток и В-клеток с фенотипом IgD^{low}CD27^{hi} («плазмобласты») у больных с ушибом головного мозга легкой степени тяжести по сравнению с контрольной группой пациентов, а количество «наивных» зрелых В-клеток с фенотипом CD27^{low}CD38^{dim} достоверно снижено в сравнении с группой контроля.

Ключевые слова: ушиб головного мозга, черепно-мозговая травма, гуморальное звено системы иммунитета, воспаление, иммунофенотипирование, проточная цитофлуориметрия

FEATURES OF HUMORAL IMMUNITY IN PATIENTS WITH MILD TRAUMATIC BRAIN INJURY

Norka A.O.^{a, b}, Vorobyev S.V.^c, Kuznetsova R.N.^{a, b}, Serebriakova M.K.^d,
Kudryavtsev I.V.^{a, d}, Kovalenko S.N.^e, Monashenko D.N.^f,
Korobova Z.R.^{a, b}

^a First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

^b St. Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

^c V. Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russian Federation

^d Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

^e S. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation

^f St. Petersburg City Hospital No. 26, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Traumatic brain injury (TBI) is an important problem of the healthcare system. A leading role in pathogenesis belongs to the action of shock wave upon skull and brain integuments, extending from the impacted site, as well as displacement and rotation of the cerebral hemispheres relative to the fixed brain stem. As a result, a cascade of metabolic, biochemical and inflammatory changes is initiated, leading to secondary damage. TBI, depending on its mechanism, severity and type, causes various primary structural and functional brain lesions at molecular, cellular, tissue and organ levels with dysregulation of all systems in the body, dependent on its degree and extent. In most cases, the brain injury increases the risk of developing epilepsy and neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease and chronic traumatic encephalopathy (CTE), with mental health disorders. TBI is a long-term symptomatic process in patients with functional and structural damage. In response to a traumatic event, The damage-associated molecular patterns (DAMPs) encountered upon tissue damage are expressed, which cause activation of the resident brain tissue cells, and secretion of multiple chemokine and cytokine by distinct cell populations. Neutrophils migrate to focal lesions, which remove damaged cells and debris. Migration of T and B cells is observed 3-7 days after the trauma. Hence, following primary injury, due to a cascade of immune reactions, a more extensive lesion, the so-called secondary trauma, is developed. The aim of our study was to evaluate the role of immune response in pathogenesis of mild traumatic brain injury.

An increased number of Bm2 cells, IgD^{dim}CD27^{low} "naive" B cells and B cells with the IgD^{low}CD27^{hi} ("plasmablasts") phenotype was found in patients with mild brain contusion, compared to comparison group. Moreover, the number of "naive" mature B cells with the CD27^{low}CD38^{dim} phenotype was significantly decreased compared with the controls.

Keywords: traumatic brain injury, mild, B cells, humoral immune status, inflammation, multicolor flow cytometry, immunophenotyping

Введение

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является одной из важнейших проблем в системе здравоохранения по ряду причин, среди которых выделяют: 1) масштабностью распространения среди лиц работоспособного возраста; 2) высокой летальностью, постоянная или временная инвалидизация [2, 3]. В патогенезе первичной травмы важную роль играет воздействие механической энергии на ткани покровов головы и мозга за счет ударной волны, которая распространяется от места приложения травмирующего агента, а также перемещение и ротация полушарий мозга относительно более фиксированного ствола головного мозга. В результате этих механизмов инициируется каскад метаболических, биохимических и воспалительных изменений, приводящих к вторичному повреждению [7, 8]. В зависимости от того, какой тип воздействия является доминирующим, выделяют различные виды повреждения.

ЧМТ в зависимости от ее механизма, тяжести и вида приводит к различным по степени и распространенности первичным структурно-функциональным повреждениям мозга на молекулярном, клеточном, тканевом и органном уровнях с расстройством центральной регуляции всех систем организма. Большинство данных свидетельствует о том, что травма головного мозга повышает риск развития эпилепсии и нейродегенеративных расстройств, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и хроническая травматическая энцефалопатия (ХТЭ), при этом наблюдается ущерб психическому здоровью [8].

ЧМТ – это процесс, а длительно существующие симптомы у пациентов представляют собой функциональные и структурные повреждения. В ответ на травматическое воздействие происходит высвобождение молекулярных паттернов, связанных с повреждением (DAMP), что приводит к активации резидентных клеток мозговой ткани и последующей секреции этими клетками хемокинов и цитокинов. К очагу повреждения мигрируют нейтрофилы, которые способствуют удалению поврежденных клеток. Миграция Т- и В-клеток происходит через 3-7 дней после травмы [5, 7]. Таким образом после первичной травмы в результате каскада иммунных ответов возникает более обширное повреждение, называемое «вторичной травмой».

Целью исследования является изучение роли иммунологических реакций в патогенезе ушиба легкой степени тяжести.

Материалы и методы

С целью изучения особенностей влияния клеток иммунной системы на формирование клини-

ческой картины ушиба легкой степени тяжести в рамках исследования обследовано 28 пациентов с ушибом головного мозга легкой степени тяжести в возрасте от 20 до 45 лет, находившихся на лечении в городской больнице № 26 города Санкт-Петербурга. Среди них было 15 женщин и 13 мужчин. Обследование включало сбор жалоб, анамнеза заболевания, оценку соматического и неврологического статуса в соответствии с стандартной методикой.

Объектом лабораторного исследования служила венозная кровь. Все исследования были проведены в день взятия крови. Подготовку образцов периферической крови и настройку проточного цитофлуориметра проводили согласно рекомендациям, изложенным Хайдковым С.В. и соавт. [4]. Для выявления популяции В-лимфоцитов периферической крови использовали антитела против CD45 и CD19. Для анализа распределения В-лимфоцитов по основным субпопуляциям применяли антитела против поверхностных IgD, CD38 и CD27 [8]. В работе использовали антитела производства Beckman Coulter (США). Окраска антителами была проведена в соответствии с рекомендациями производителя. Подбор оптимальных комбинаций антител и конъюгированных с ними флуорохромов производили в соответствии с принципами, которые опубликованы в литературе [1]. Удаление эритроцитов из образцов проводили с использованием лизирующего раствора VersaLyse (Beckman Coulter, США). После разрушения эритроцитов образцы однократно отмывали избытком физиологического раствора. Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре Navios™ (Beckman Coulter, США), оснащенном тремя диодными лазерами 405, 488 и 638 нм. Обработку цитофлуориметрических данных проводили при помощи программ Navios Software v.1.2 и Kaluza™ v.1.2 (Beckman Coulter, США).

Статистическую обработку проводили при помощи программного обеспечения GraphPad Prism 6.00 (GraphPad Prism for MAC., США). Результаты были выражены, как процент (%) положительных клеток в целевой популяции с их средними значениями и стандартным отклонением ($M \pm SD$).

Результаты и обсуждение

Нейровоспаление, как результат травмы головного мозга, является одним из основных компонентов патофизиологии ЧМТ и вносит свой вклад как в формирование вторичных повреждений, так и в механизмы восстановления. Так, нами для оценки гуморального звена иммунной системы в ходе работы использовался подход, который основан на выявлении субпопуляций В-клеток,

ТАБЛИЦА 1. ОСНОВНЫЕ СУБПОПУЛЯЦИИ В-КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ (КЛЕТКИ/МКЛ) У БОЛЬНЫХ УШИБОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЛЕГКОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

TABLE 1. B CELL SUBPOPULATIONS OF THE MILD TBI PATIENTS' PERIPHERAL BLOOD (ABSOLUTE B CELL COUNT PER MICROLITER)

Субпопуляции В-клеток B cell subpopulations abs	Контроль Control group n = 52	Пациенты с ушибом головного мозга легкой степени тяжести Patients with mild brain contusion n = 22	
	M±SD	M±SD	Достоверность различий, p Significance of differences, p
	1	2	3
Vm1 (IgD^{dim}CD38^{low})	1,797±0,645	2,309±1,289	0,2366
Vm2 (IgD^{dim}CD38^{low})	6,4215±1,2400	9,212±2,550	0,026
Плазмобласты Plasmablasts (IgD ^{low} CD27 ^{hi})	1,175±0,289	0,223±0,093	0,0122
«Наивные» "Naive" (IgD ^{dim} CD27 ^{low})	1,421±0,528	2,548±1,391	0,0456
Клетки памяти Memory cells (IgD ^{dim} D27 ^{dim})	0,476±0,180	0,466±0,244	0,934
«Наивные» зрелые "Naive" mature (CD27 ^{low} CD38 ^{dim})	8,237±3,210	5,628±2,101	0,0363
Плазмобласты Plasmablasts (CD27 ^{hi} CD38 ^{hi})	0,656±0,369	1,190±0,756	0,856

различающихся по экспрессии поверхностного IgD и CD38 (табл. 1), было выявлено, что количество Vm2-клеток достоверно выше у больных с ушибом головного мозга легкой степени тяжести по сравнению с контрольной группой пациентов ($p < 0,05$), что касается популяции Vm1-клеток достоверных изменений обнаружено не было ($p = 0,2366$).

Для более детального анализа В-клеток, т. е. клеток, которые прошли антигензависимую дифференцировку в периферических лимфоидных органах был использован подход, в основе которого использовался анализ уровня экспрессии поверхностного IgD и CD27 (табл. 1), при этом необходимо отметить, что CD27 используется в качестве маркера клеток памяти. Было обнаружено достоверное повышение количества IgD^{dim}CD27^{low} «наивных» В-клеток и В-клеток с фенотипом IgD^{low}CD27^{hi} («плазмобласты») было достоверно повышено у пациентов с ушибом

головного мозга легкой степени тяжести в сравнении с группой контроля ($p < 0,05$).

При этом в ходе исследования для более детального анализа субпопуляционного состава В-клеток периферической крови оценивались уровни экспрессии CD27 и CD38. Было выявлено достоверное снижение «наивных» зрелых В-клеток с фенотипом CD27^{low}CD38^{dim} у пациентов с ушибом головного мозга легкой степени тяжести по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$).

Выявленные нами изменения в рамках популяций В-клеток указывают на их возможную роль в патогенезе ЧМТ легкой степени тяжести, а именно понимание динамики изменений субпопуляций В-клеток и их роли в патогенезе ушиба легкой степени тяжести поможет разработать более эффективные методы лечения в острый период для улучшения исходов течения заболевания.

Список литературы / References

1. Кудрявцев И.В., Субботовская А.И. Опыт измерения параметров иммунного статуса с использованием шестицветного цитофлуориметрического анализа // Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 1. С. 19-26. [Kudryavtsev I.V., Subbotovskaya A.I. Application of six-color flow cytometric analysis for immune profile monitoring. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2015, Vol. 17, no. 1, pp. 19-26. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2015-1-19-26.
2. Лихтерман Л.Б. Черепно-мозговая травма. Диагностика и лечение. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 488 с. [Lichterman L.B. Traumatic brain injury. Diagnosis and treatment]. Moscow: GEOTAR-Media, 2014. 488 p.
3. Потапов А.А., Лихтерман Л.Б., Кравчук А.Д., Корниенко В.Н., Захарова Н.Е., Ошоров А.В., Филатов М.М. Современные подходы к изучению и лечению черепно-мозговой травмы // Анналы клинической и экспериментальной неврологии, 2010. Т. 4, № 1. С. 4-12. [Potapov A.A., Lichterman L.B., Kravchuk A.D., Kornienko V.N., Zakharova N.E., Oshorov A.V., Filatova M.M. Modern approaches to the management of traumatic brain injury. *Annaly klinicheskoy i eksperimentalnoy neurologii = Annals of Clinical and Experimental Neurology*, 2010, Vol. 4, no. 1, pp. 4-12. (In Russ.)]
4. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тоголян Арег А., Хайдуков С.В. Стандартизованная технология «исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» (проект) // Медицинская иммунология, 2012. Т. 14, № 3. С. 255-268. [Khaydukov S.V., Baidun L.A., Zurochka A.V., Totolyan Areg A. Standardized technology "Study of the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes using flow cytometer-analyzers" (project). *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, Vol. 14, no. 3, pp. 255-268. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2012-3-255-268.
5. Dantzer R., O'Connor J.C., Freund G.G., Johnson R.W., Kelley K.W. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2008, Vol. 9, no. 1, pp. 46-56.
6. McKee C.A., Lukens J.R. Emerging roles for the immune system in traumatic brain injury. *Front. Immunol.*, 2016, Vol. 7, 556. doi: 10.3389/fimmu.2016.00556.
7. Nizamutdinov D., Shapiro L.A. Overview of traumatic brain injury: an immunological context. *Brain Sci.*, 2017, Vol. 7, no. 1, 11. doi: 10.3390/brainsci7010011.
8. Prak E.T.L., Ross J., Sutter J., Sullivan K.E. Age-related trends in pediatric B-cell subsets. *Pediatr. Dev. Pathol.*, 2011, Vol. 14, no. 1, pp. 45-52.

Авторы:

Норка А.О. — старший лаборант кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»; врач-невролог медицинского центра ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Воробьев С.В. — д.м.н., главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории неврологии и нейрореабилитации ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Кузнецова Р.Н. — к.м.н., доцент кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»; врач — аллерголог-иммунолог медицинского центра ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Norka A.O., Senior Laboratory Assistant, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University; Neurologist, Medical Centre, St. Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

Vorobyev S.V., PhD, MD (Medicine), Chief Research Associate, Research Laboratory of Neurology and Neurorehabilitation, V. Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russian Federation

Kuznetsova R.N., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University; Allergist-Immunologist, Medical Centre, St. Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

Серебрякова М.К. — аспирант, научный сотрудник отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Кудрявцев И.В. — к.б.н., старший научный сотрудник отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; доцент кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Коваленко С.Н. — преподаватель кафедры нейрохирургии ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова», Санкт-Петербург, Россия

Монашенко Д.Н. — к.м.н., врач-нейрохирург, заведующий 1 НХО СПб ГБУЗ «Городская больница № 26», Санкт-Петербург, Россия

Коробова З.Р. — лаборант-исследователь лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»; старший лаборант кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Serebriakova M.K., Postgraduate Student, Research Associate, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Kudryavtsev I.V., PhD (Biology), Senior Research Associate, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine; Associate Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Kovalenko S.N., Lecturer, Department of Neurosurgery, S. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation

Monashenko D.N., PhD (Medicine), Neurosurgeon, St. Petersburg City Hospital No. 26, St. Petersburg, Russian Federation

Korobova Z.R., Laboratory Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, PhD Student, St. Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology; Senior Laboratory Assistant, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 15.07.2022
Принята к печати 28.07.2022

Поступила 15.07.2022
Принята к печати 28.07.2022