

НОРКА АННА ОЛЕГОВНА

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОГНОЗ РАЗВИТИЯ
ОСЛОЖНЕНИЙ И ИСХОДОВ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ
РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ**

3.2.7 – аллергология и иммунология (3.2.7 – иммунология)

3.1.24 – неврология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Екатеринбург – 2023

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Научные руководители:

Кандидат медицинских наук

**Кузнецова
Раиса Николаевна**

Доктор медицинских наук

**Воробьев
Сергей Владимирович**

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры организации и управления в сфере обращения лекарственных средств Института профессионального образования ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России

**Козлов
Иван Генрихович**

Доктор медицинских наук, профессор кафедры нервных болезней ФГБОВУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Минобороны России

**Лобзин
Владимир Юрьевич**

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Краснодар).

Защита диссертации состоится «___» _____ 2023 года в _____ часов на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук 24.1.063.01 на базе ФГБУН Института иммунологии и физиологии УрО РАН по адресу: 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке УрО РАН по адресу: 620041, г. Екатеринбург, ул. Софьи Ковалевской/Академическая, 22/20 и на сайте ИИФ УрО РАН (<http://iir.uran.ru>), с авторефератом – там же и на сайте ВАК РФ (<http://vak2.ed.gov.ru>).

Автореферат разослан _____ 2023 г.

Ученый секретарь Совета 24.1.063.01
на базе Института иммунологии и физиологии УрО РАН,
кандидат биологических наук

Ю.А. Журавлёва

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) относится к числу наиболее значимых форм патологии неврологического профиля. Частота её возникновения, по данным эпидемиологических исследований, достигает 100-749 человек в расчете на 100 тысяч населения (Peeters W.R., 2015). По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), среди всех травматических повреждений ЧМТ характеризуется высоким уровнем летального исхода и инвалидизации (30-77 %), при этом гетерогенность ее вариантов создает трудности в оценке степени тяжести и прогнозировании раннего исхода заболевания (Немкова С.А., 2019; Brenner L.A., 2009; Заваденко Н.Н., 2019).

Согласно современным представлениям, травма головного мозга характеризуется не только вариабельностью анатомических форм и биомеханикой повреждающих воздействий, но и различиями в степени развития нейровоспаления (Rakib F., 2021., Brenner L.A., 2009).

Нейровоспаление – это иммунный ответ на поражение мозга, в ходе которого происходит высвобождение молекул, связанных с повреждением, дальнейшей активацией и пролиферацией клеток микроглии и астроглии, миграцией в зону повреждения Т-лимфоцитов (CD4+ и цитотоксических CD8+ Т-клеток), обладающих как протективным, так и деструктивным действием в отношении мозговой ткани (Исаева Р.Х., 2014; Колударова Е.М., 2021; Wang K.K., 2018; Sahu S., 2017). Управляющую роль в данных процессах играют цитокины – белки, продуцируемые резидентными клетками глии, опосредующие межклеточные взаимодействия при различных патологических состояниях (Абусалех А.И., 2007; Кетлинский С.А., 2008; Пичугина Л.В., 2008). Отдельную группу составляют хемокины, функция которых заключается в регуляции направленной клеточной миграции (Damir N., 2017). Вместе с тем вследствие нарушения барьерной функции гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) происходит рекрутирование из периферической крови в очаг воспаления клеток иммунной системы, которые являются источником провоспалительных цитокинов (Helmu A., 2011). В связи с этим последствия ЧМТ, которые включают нарушение когнитивных функций, развитие инфекционных осложнений (интракраниальные гнойно-воспалительные заболевания) и нарушения функции ликворной системы, в большей степени являются результатом реализации иммунного ответа с последующим вторичным повреждением нервной ткани (Абусалех А.И., 2007; Вознюк И.А., 2022; Зудова А.И., 2020, Поповская Е.В., 2020).

Следует отметить, что тяжесть ЧМТ не всегда коррелирует с клиническими симптомами и нейровизуализационной картиной компьютерной томографии (КТ), что затрудняет дифференциальный диагноз заболевания и определяет необходимость создания дополнительных методов диагностики степени тяжести для снижения летальности и улучшения функциональных исходов лечения (Боголепова А.Н., 2020; Ковтун Н.А., 2021; Одинак М.М., 2015; Коваленко А.П., 2022; Bergold P.J., 2016).

Данное положение предопределяет необходимость поиска новых приемов дифференциальной диагностики тяжести ЧМТ, предикторов развития осложнений и неблагоприятных исходов.

Цель исследования – разработать информативные прогностические критерии определения тяжести и течения черепно-мозговой травмы различной степени тяжести в остром периоде на основании оценки состояния клеточного и гуморального звеньев иммунной системы и цитокинового профиля.

Задачи исследования:

1. Охарактеризовать особенности нарушений неврологического статуса и когнитивных функций у пациентов в остром периоде черепно-мозговой травмы различной степени тяжести.

2. Проанализировать изменения субпопуляционного состава Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов в периферической крови, концентрации цитокинов и хемокинов в цереброспинальной жидкости в зависимости от степени тяжести черепно-мозговой травмы.

3. Оценить информативность определения исследуемых биомаркеров в венозной крови и цереброспинальной жидкости.

4. Создать диагностический алгоритм дифференциации степени тяжести черепно-мозговой травмы.

5. Разработать методы ранней диагностики и прогнозирования развития когнитивных нарушений, интракраниальных гнойно-воспалительных осложнений и неблагоприятных исходов черепно-мозговой травмы.

Научная новизна работы

В диссертационной работе впервые проанализированы особенности изменений субпопуляций «поляризованных» Т-хелперов центральной и эффекторной памяти и В-лимфоцитов на основании экспрессии IgD/CD38 в периферической крови пациентов с травмой головного мозга различной степени тяжести, коррелирующие с исходами заболевания и когнитивными нарушениями.

Установлена значимость изменений концентрации IL-6, IL-18, sCD40L, CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG и CXCL10/IP-10 в цереброспинальной жидкости у пациентов с ушибом лёгкой, средней и тяжёлой степени тяжести.

Создан иммунологический алгоритм дифференциальной диагностики сотрясения головного мозга, ушиба головного мозга лёгкой, средней и тяжёлой степени тяжести. Разработаны способы раннего прогнозирования развития когнитивных нарушений, интракраниальных гнойно-воспалительных осложнений и неблагоприятных исходов заболевания.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Выявлена значимая роль Th1, Th2, Th17 в иммунопатогенезе травмы головного мозга. Установлено, что по мере увеличения степени тяжести ЧМТ повышается содержание Th17 и Th2-клеток, коррелирующее с неблагоприятными исходами заболевания и ухудшением выполнения когнитивных тестов.

Получены приоритетные справки на изобретения «Способ прогнозирования исходов заболевания у пациентов с черепно-мозговой травмой различной степени тяжести (его варианты)» (заявка № 2023101146 от 19.01.2023), «Способ прогнозирования развития гнойно-воспалительных осложнений у пациентов, перенесших черепно-мозговую травму различной степени тяжести» (заявка № 2023101145 от 19.01.2023), «Способ прогнозирования когнитивных нарушений у пациентов с сотрясением головного мозга и ушибом лёгкой степени тяжести» (заявка № 2023101141 от 19.01.2023). Данные алгоритмы улучшат прогностические методы оценки течения и исходов ЧМТ в остром периоде заболевания.

Установлена роль хемокинового рецептора CXCR3, его лигандов CXCL9–CXCL10, а также хемокина CXCL8/IL-8 и цитокинов sCD40L, IL-6 и IL-18 в иммунопатогенезе травмы головного мозга: по мере увеличения степени тяжести в цереброспинальной жидкости возрастают концентрации CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CXCL8/IL-8, sCD40L, IL-6 и IL-18.

Разработан алгоритм дифференциальной диагностики степени тяжести ЧМТ. Получена приоритетная справка на изобретение «Способ дифференциации сотрясения головного мозга, ушиба головного мозга лёгкой, средней и тяжёлой степени тяжести» (заявка № 2023101142 от 19.01.2023). Данный алгоритм поможет улучшить диагностику степени тяжести ЧМТ. Созданный диагностический алгоритм апробирован на независимой выборке пациентов с ЧМТ различной степени тяжести (n=20).

Практическая значимость диссертационной работы состоит в том, что предложены биомаркеры клиничко-иммунологического прогноза течения заболевания, основанные на содержании лимфоцитов Th1, Th2, Th17 и цитокинов/хемокинов CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CXCL8/IL-8, sCD40L, IL-6 и IL-18. Полученные диагностические маркеры содержания IL-6, sCD40L и CXCL9/MIG в ЦСЖ могут являться контрольными для оценки степени тяжести травмы.

Внедрение данных алгоритмов и способов диагностики в остром периоде течения ЧМТ в практику врачей-неврологов и нейрохирургов многопрофильных стационаров является необходимым для объективизации и оценки течения заболевания с последующей коррекцией лечения.

Методология и методы исследования

В основу методологии исследования положены базовые общенаучные и специальные принципы, принятые в современной иммунологии и неврологии. Они включают в себя алгоритмы диагностического поиска с использованием клиничко-неврологического, нейропсихологического, инструментального и лабораторного видов обследования. Объектом исследования являлись пациенты с ЧМТ различной степени тяжести. Исследование выполнялось по многоэтапной схеме. На первом этапе проводился отбор пациентов согласно разработанным критериям с оценкой неврологического статуса, проведением нейропсихологического обследования, оценкой методов нейровизуализации, а также забором образцов венозной крови и цереброспинальной жидкости для дальнейшего исследования. Второй этап заключался в

проведении комплексного иммунологического изучения отобранных биологических образцов с целью выявления значимых паттернов изменения иммунного статуса, характерных для определенной степени повреждения головного мозга, а также необходимых для прогнозирования осложнений и течения заболевания. На третьем этапе производилась оценка исходов заболевания с применением специализированных шкал. На четвертом этапе проводилась комплексная статистическая оценка и аналитический разбор полученных данных, направленные на разработку моделей прогнозирования возникновения когнитивных нарушений, интракраниальных гнойно-воспалительных осложнений, а также исходов заболевания. Исследование проведено в строгом соответствии с принципами доказательной медицины с использованием современных статистических алгоритмов.

Положения, выносимые на защиту

1. Основу клинической картины нарушений высших корковых функций в остром периоде сотрясения и ушиба головного мозга легкой степени тяжести составляют регуляторные и нейродинамические расстройства, степень выраженности которых прогрессивно нарастает с увеличением тяжести повреждения.

2. Маркерами нейровоспалительного процесса являются DP и DN Th17 типа, Th1 типа, Th2 типа, IgD/CD38 В-лимфоциты, «наивные» и «эффекторные» регуляторные Т-лимфоциты, при этом степень тяжести травмы головного мозга взаимосвязана со степенью нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера, нарастанием содержания цитокинов (IL-6, IL-18, sCD40L) и хемокинов (CXCL9, CXCL10) в цереброспинальной жидкости.

3. Разработанный алгоритм, основанный на определении содержания в цереброспинальной жидкости IL-6, IL-18, IL-10, sCD40L, CXCL9/MIG, позволяет проводить дифференциальную диагностику степени тяжести болезни, а способы прогноза когнитивных нарушений, интракраниальных гнойно-воспалительных осложнений и исходов заболевания решают задачи ранней диагностики последствий травмы головного мозга.

Степень достоверности, апробация результатов

Достоверность и обоснованность полученных результатов диссертационного исследования подтверждается достаточным объемом обследованных пациентов (n=110) и выполненными лабораторными исследованиями, а также выбором адекватных, соответствующих задачам исследования современных методов статистической обработки полученных данных с применением программ Statistica 8.0 (StatSoft, США) и GraphPad Prism 5.00 for Mac (GraphPad Prism Software Inc., США).

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на Всероссийской молодежной медицинской конференции с международным участием «Алмазовские чтения – 2018» (Санкт-Петербург, 2018), VII международной молодежной медицинской конференции «Санкт-Петербургские научные чтения, 2017» (Санкт-Петербург, 2017), Modern Molecular-biochemical Markers in Clinical and Experimental Medicine (Prague, Czech Republic, 2018); Первой Международной Олимпиаде по аллергологии и иммунологии

(Москва, 2018), Всероссийской научно-практической конференции «Дегенеративные и сосудистые заболевания нервной системы» (Санкт-Петербург, 2018), XXII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2018), LXXIX Научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины» (Санкт-Петербург, 2018), Всероссийской молодежной медицинской конференции с международным участием «Алмазовские чтения–2019» (Санкт-Петербург, 2019), LXXX научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины» (Санкт-Петербург, 2019), Всероссийской научно-практической конференции «Неотложные состояния в неврологии: современные методы диагностики и лечения», посвященной 140-летию со дня рожд. Б.С. Дойникова (Санкт-Петербург, 2019), Конгрессе с международным участием «Давиденковские чтения», посвященному 140-летию со дня рождения академика С.Н. Давиденкова и 115-летию А.Г. Панова (Санкт-Петербург, 2020), Всероссийской научно-практической конференции «Дегенеративные и сосудистые заболевания нервной системы», посвященной 160-летию со дня основания кафедры нервных и душевных болезней императорской медико-хирургической академии (Санкт-Петербург, 2020), XXIII конгрессе с международным участием «Давиденковские чтения» (Санкт-Петербург, 2021), Седьмой научно-практической школе «Аллергология и Клиническая иммунология» (Сочи, 2021), Восьмой научно-практической школе «Аллергология и Клиническая иммунология» (Сочи, 2022), XXIV конгрессе с международным участием «Давиденковские чтения» (Санкт-Петербург, 2022), Forum of European Neuroscience (Париж, 2022), XIII Всероссийской школе по клинической иммунологии «Иммунология для врачей» (Пушкинские горы, 2023).

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии во всех этапах диссертационного исследования. Создание базовой идеи, планирование научной работы, включая формулировку рабочей гипотезы, целей, задач работы, определение методологии диссертационного исследования. Интерпретация и анализ полученных результатов проводились диссертантом совместно с научными руководителями – д.м.н. С.В. Воробьевым и к.м.н. Р.Н. Кузнецовой.

Автором самостоятельно проводился отбор пациентов с черепно-мозговой травмой для включения в группы настоящего исследования, а также мониторинг их состояния, нейропсихологическое обследование больных, спинномозговая пункция и взятие крови из периферической вены для дальнейшего лабораторного изучения биологических образцов. Совместно с врачом-рентгенологом выполнялся анализ результатов компьютерной томографии. Был освоен метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим самостоятельным выделением ДНК вирусов герпеса из ЦСЖ пациентов с ЧМТ. Результаты, полученные в ходе лабораторного исследования образцов периферической крови и ЦСЖ, оценивались совместно с врачом-лаборантом. Автором самостоятельно проведена статистическая обработка данных, а также анализ,

систематизация, обобщение литературы по исследуемой проблеме, оформление рукописи диссертации и автореферата, формулировка положений, выносимых на защиту, выводов и практических рекомендаций, представление результатов исследования в виде докладов на конференциях. Подготовка публикаций по теме диссертации осуществлялась автором совместно с научными руководителями.

Внедрение результатов исследования в практику

Основные результаты диссертационного исследования внедрены в практику работы диспансерно-поликлинического отделения ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, в учебный процесс ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера при изучении аспирантами дисциплины «Амбулаторная помощь и диспансерное наблюдение», а также в научно-исследовательскую работу ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера при проведении исследований, направленных на анализ проблемы иммунологических нарушений при черепно-мозговой травме.

Публикации

По теме диссертации опубликована 21 печатная работа, в том числе 14 – в научных изданиях, рецензируемых ВАК, и входящих в международные базы данных Web of Science и Scopus. Получены 4 приоритетные справки на патенты РФ.

Конкурсная поддержка

Исследование выполнено в рамках бюджетной программы Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» (№ 121021600217-1 от 16.02.2021).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 168 страницах, иллюстрирована 39 рисунками и 37 таблицами, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, пяти глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка цитируемой литературы, списка условных сокращений. Список литературы включает 175 источников – 49 отечественных и 126 иностранных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Для достижения цели и решения поставленных задач было обследовано 110 пациентов с ЧМТ различной степени тяжести. В выборку вошли пациенты в возрасте от 20-ти до 55-ти лет, из них женщины – 59 человек, мужчины – 51 человек. Все пациенты были разделены на 4 группы: 1 группа – пациенты с сотрясением головного мозга (СТГ) (n=25); 2 группа – пациенты с ушибом головного мозга лёгкой степени тяжести (УЛС) (n=30); 3 группа – пациенты с ушибом головного мозга средней степени тяжести (УСС) (n=31); 4 группа – пациенты с ушибом головного мозга тяжёлой степени тяжести (УТС) (n=24). В контрольную группу вошли 48 практически здоровых лиц (женщины – 26

человек, мужчины – 22 человека) в возрасте от 18-ти до 55-ти лет (средний возраст $42,3 \pm 11,3$ лет).

Формирование основных групп для проведения исследования осуществлялось в несколько этапов, в соответствии со следующими критериями включения:

1. Наличие установленного факта травмы головного мозга;
2. Наличие диагноза: черепно-мозговая травма в соответствии с общепринятыми критериями;
3. Возраст пациентов старше 18 лет;
4. Сроки поступления в стационар не более 24 часов с момента травмы головного мозга.

Критерии исключения из исследования:

1. Возраст менее 18 лет;
2. Сомнительный факт травмы головного мозга;
3. Поступления в стационар позднее 24 часов с момента травмы головного мозга;
4. Наличие сочетанной травмы;
5. Наличие лимфопролиферативных заболеваний;
6. Наличие онкологических заболеваний;
7. Наличие аутоиммунных заболеваний;
8. Хроническая патология в стадии обострения;
9. Алкогольное опьянение при поступлении в отделение скорой медицинской помощи;
10. Наркотическое опьянение при поступлении в отделение скорой помощи, а также анамнестический факт употребления наркотических средств;
11. Любая сопутствующая инфекционная патология;
12. Перенесенная ранее любая инфекционная патология, в том числе COVID-19, менее чем за 6 месяцев до включения в исследование.

Методы клинико-неврологического обследования пациентов

В 1-е сутки от момента поступления всем пациентам проводилось комплексное клиническое и неврологическое обследование по стандартной методике с оценкой тяжести состояния по шкале комы Глазго (ШКГ).

Методы оценки когнитивных функций

В 1-е сутки поступления в стационар у пациентов с ЧМТ оценивались высшие корковые функции с использованием комплексного нейропсихологического тестирования: краткая шкала оценки психического статуса (КШОПС, от англ. «Mini-Mental State Examination», MMSE); батарея лобных тестов (англ. «Frontal Assessment Battery» – FAB); монреальская шкала оценки когнитивных функций (от англ. Montreal Cognitive Assessment, MoCA); тест на ориентацию и амнезию Гальвестона; тест 10 слов; тест рисования часов; тест когнитивных функций медицинского центра Ранхо Лос Амигос.

Методы оценки клинических исходов заболевания

Исходы заболевания оценивались с использованием расширенной шкалы исходов Глазго (Glasgow Outcome Scale Extended, GOSE) и модифицированной шкалы Рэнкина (mRS). Расширенная шкала исходов Глазго учитывает остаточные психоневрологические нарушения и социальную активность пациентов, а модифицированная шкала Рэнкина позволяет оценить уровень независимости и трудоспособности пациентов.

Методы лабораторной диагностики

1. Определение содержания альбумина в биологических жидкостях (сыворотка крови и ЦСЖ) с последующим расчётом интегрального коэффициента проницаемости альбумина (Q(Alb)) для оценки функционального состояния ГЭБ. Так как альбумин является белком крови, который не синтезируется местно и обладает высокой молекулярной массой, он может являться «маркером», проникшим из кровотока вследствие нарушения избирательной проницаемости ГЭБ.

Расчет интегрального коэффициента производился по формуле:

$$Q(\text{Alb}) = (\text{Alb биол. жидк.} / \text{Alb сыв. крови}) \times 10^3 \quad (1)$$

2. Исследование ЦСЖ методом полимеразной цепной реакции с помощью реагентов «АмплиСенс» для исключения реактивации латентной герпетической инфекции (HSV I/II, HHV 7, VZV);

3. Бактериологическое исследование цереброспинальной жидкости.

Методом микроскопического исследования и посева на соответствующих питательных средах проводилась оценка ЦСЖ для исключения бактериальной этиологии менингита. До начала исследования ЦСЖ в объеме 0,5 мл засеивали в чашку с «шоколадным» агаром, 0,5 мл, в среду обогащения (в 5,0 мл 0,1% полужидкого питательного агара с сывороткой крупного рогатого скота).

4. Иммунологические методы исследования.

4.1. Определение субпопуляций лимфоцитов.

В 1-е сутки от момента травмы в цельной крови у обследованных пациентов производилась оценка состава субпопуляций лимфоцитов методом проточной цитофлуориметрии с использованием диагностического анализатора Navios (Beckman Coulter, Inc., США), оснащенного тремя лазерами с длинами волн излучения 405, 488 и 638 нм. Обработка данных проводилась с использованием программ: Navios Software v.1.2, Kaluza™ v.2.0 (Beckman Coulter, США). Для определения субпопуляций лимфоцитов использовались различные комбинации прямых моноклональных антител (Beckman Coulter, США; Biolegend, США). Результаты содержания лимфоцитов представлены в виде: % – процента содержания от общего числа лимфоцитов или исследуемой популяции лимфоцитов; абсолютного (кл/мкл, количество клеток в 1 мкл периферической крови) числа лимфоцитов.

T-хелперы определяли, как CD3+CD4+ лимфоциты. С целью выявления отдельных популяций, находящихся на различных стадиях дифференцировки, применяли антитела против поверхностных CD45RA и CD62L. «Наивные» Th с фенотипом CD45RA+CD62L+ для дальнейших исследований не использовали в силу отсутствия экспрессии

интересующих хемокиновых рецепторов на их поверхности. «Терминально-дифференцированные» CD45RA-позитивные эффекторные Т-хелперы (TEMRA) с фенотипом CD45RA+CD62L- также исключались из дальнейшего анализа ввиду практически полного отсутствия данной популяции клеток в периферической крови условно здоровых доноров. Th памяти подразделялись на основании экспрессии CD62L и CD45RA на Т-хелперы центральной (Th CM) и эффекторной (Th EM) памяти с фенотипами CD45RA-CD62L+ и CD45RA-CD62L-, соответственно. На указанных субпопуляциях Th при помощи моноклональных антител анализировали уровень экспрессии хемокиновых рецепторов: CCR4, CCR6, CXCR3, CXCR5. Для выявления основных субпопуляций Т-лимфоцитов и регуляторных Т-лимфоцитов оценивали уровень экспрессии ими молекул CD39 и CD73.

Выявление основных стадий дифференцировки В-лимфоцитов производили на основе анализа ко-экспрессии IgD и CD38, а также IgD и CD27. Окраска антителами против IgD и CD38 позволяет идентифицировать популяции В-клеток: «наивные» Vm1 клетки с фенотипом IgD+CD38-, «активированные наивные» Vm2 клетки (IgD+CD38+), Vm2' – клетки-предшественники В-клеток зародышевых центров периферических лимфоидных органов (IgD+CD38++), общая субпопуляция, включающая в себя центробласты и centroциты – так называемые «Vm3+Vm4» клетки (IgD-CD38++), клетки ранней памяти eVm5 (IgD-CD38+) и покоящиеся клетки памяти Vm5 (IgD-CD38-). Оценка ко-экспрессии IgD и CD27 позволяет разделить общий пул В-лимфоцитов на «наивные» клетки с фенотипом IgD+CD27-, выявить три типа В-клеток памяти – клетки памяти с непереключенным классом синтезируемых антител («unswitched» IgD+CD27+), клетки памяти с переключенным классом синтезируемых антител («class-switched» IgD-CD27+) и так называемые «дважды-негативные» клетки памяти (IgD-CD27-), а также циркулирующие предшественники плазматических клеток с фенотипом IgD-CD27++.

4.2. Определение концентрации цитокинов.

В ЦСЖ методом мультиплексного анализа по технологии xMAP («Luminex») проводили измерение концентраций следующих цитокинов (пг/мл): IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-12 (p40), IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17A/CTLA8, IFN- α 2, IFN- γ , TNF α , TNF β /Lymphotoxin- α (LTA); противовоспалительные цитокины: IL-1Ra, IL-10; ростовые факторы: EGF, FGF-2/FGF-basic, Flt3 Ligand, G-CSF, GM-CSF, PDGF-AA, PDGF-AB/BB, TGF α , VEGF-A; другие растворимые факторы: sCD40L; хемокины: CC-хемокины (CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α , CCL4/MIP-1 β , CCL5/RANTES, CCL7/MCP-3, CCL11/Eotaxin, CCL17/TARC, CCL20/MIP-3 α , CCL22/MDC); CXC-хемокины (CXCL1/GRO, CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CXCL11/I-TAC, CXCL13/BCA-1); CX3C-хемокины (CX3CL1/Fractalkine).

Использовали коммерческие тест-системы «Milliplex MAP» («Millipore», США) с применением магнитных микросфер («Milliplex Mag», США) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя. Регистрацию и анализ полученных данных проводили на приборе «Luminex MAGPIX» («Luminex», США).

Статистическая обработка результатов проводилась непараметрическими методами, применяемыми для малых выборок с принятием доверительной вероятности $p \leq 0,05$ с использованием пакетов программ Statistica 8.0 (StatSoft, США) и GraphPad Prism 5.00 for Mac (GraphPad Prism Software Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Особенности когнитивных функций по данным нейропсихологического обследования пациентов. Для оценки когнитивной сферы было проведено комплексное нейропсихологическое исследование с использованием оценочных шкал, позволяющих определить профиль нарушений высших корковых функций. При этом полное обследование, включавшее в себя MMSE (краткая шкала оценки психического статуса), MoCA (Монреальская шкала оценки когнитивных функций), FAB (шкала лобной дисфункции), тест рисования часов, тест десяти слов, тест на ориентацию и амнезию Гальвестона, тест когнитивных функций медицинского центра Ранхо Лос Амигос, было выполнено у пациентов с сотрясением ($n=25$) и ушибом головного мозга лёгкой степени тяжести ($n=30$). У пациентов с ушибом средней ($n=31$) и тяжёлой степени тяжести ($n=24$) с учётом тяжести состояния оценка проводилась по краткой схеме посредством теста на ориентацию и амнезию Гальвестона и теста когнитивных функций медицинского центра Ранхо Лос Амигос. Согласно результатам тестирования по шкале КШОПС средний балл в 1-й группе (СТГ) составил $28,4 \pm 1,7$, а во 2-й группе (УЛС) – $25,5 \pm 1,8$. Данные различия в группах были статистически достоверны ($p < 0,05$). При этом в 1-й группе (СТГ) преобладали пациенты, у которых результаты соответствовали референсным значениям. В то же время во 2-й группе (УЛС) преобладали пациенты, у которых значения теста соответствовали умеренным когнитивным нарушениям. Обследование по шкале MoCA позволило выявить, что средний балл в 1-й группе (СТГ) составил $27,7 \pm 2,1$, во 2-й группе (УЛС) – $24,4 \pm 2,7$ ($p < 0,05$). Для группы с сотрясением головного мозга доминирующими были результаты, соответствующие нормальным значениям, а для пациентов с ушибом легкой степени тяжести – умеренным когнитивным нарушениям. Результаты выполнения теста рисования часов также достоверно отличались в выделенных группах. В 1-й группе (СТГ) средний балл составил $9,1 \pm 0,9$ балла, а во 2-й группе (УЛС) – $7,7 \pm 1,3$ ($p < 0,05$). Показатели обследования по тесту на ориентацию и амнезию Гальвестона, а также по тесту когнитивных функций медицинского центра Ранхо Лос Амигос продемонстрировали значимые изменения только в 3-й (УСС) и 4-й (УТС) группах ($p < 0,05$). Таким образом, результаты нейропсихологического обследования свидетельствовали о преобладании в клинической картине нейродинамических и регуляторных нарушений, которые проявлялись, прежде всего, ухудшением внимания, брадифренией, уменьшением когнитивной активности, наличием трудностей во время перехода от решения одной задачи к следующей. Кроме того, были выявлены нарушения памяти на текущие события, но подсказки при выполнении «мнестических» заданий оказались эффективными. Необходимо отметить, что степень

выраженности наблюдающихся нарушений прогрессивно возрастала по мере увеличения тяжести травмы головного мозга.

Особенности содержания «поляризованных» Т-хелперов в периферической крови. Среди поляризованных Т-хелперов центральной памяти (Th CM), обладающих фенотипом CD45RA⁻CD62L⁺ выявлено значимое снижение относительного содержания Th1 типа у всех пациентов с ушибом головного мозга ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой. Повышенный уровень абсолютного и относительного содержания Th17 был установлен у всех пациентов, перенесших ЧМТ ($p < 0,05$). При этом абсолютное содержание Th2 было снижено относительно группы контроля только в 4-й группе (УТС) ($p = 0,038$).

Анализ Т-хелперов эффекторной памяти (Th EM), популяции клеток, способных к миграции в очаг воспаления, позволил выявить пониженный уровень абсолютного и относительного содержания Th1 у всех пациентов с ЧМТ ($p < 0,05$) в сравнении с группой контроля. Однако в популяции CCR6⁺Th17 выявлены обратные изменения относительно группы контроля в виде их повышенного содержания у всех пациентов с ЧМТ ($p < 0,05$). Аналогичные изменения выявлены в субпопуляции CCR4⁺Th2 в виде их повышенного относительного и абсолютного содержания только в группе с ушибом головного мозга ($p < 0,05$).

Таким образом, в первые сутки после травмы отмечается интенсивный процесс перераспределения популяций Т-хелперов как центральной памяти, так и эффекторной памяти, способных мигрировать в периферические воспаленные ткани.

Особенности изменений в субпопуляции Т-хелперов 17 типа в периферической крови. При анализе CCR6⁺ Th CM выявлен повышенный уровень относительного содержания DN Th17 у пациентов во 2-й (УЛС) ($p = 0,0147$) и 3-й группах (УСТ) ($p = 0,0036$). Достоверно повышенное содержание «классических» Th17 ($p = 0,01$) было только в группе пациентов, имеющих обширные повреждения (4-я группа – УТС), а в популяции «неклассических» Th 17 (популяции клеток, ответственных за продукцию интерферона гамма (IFN γ) и интерлейкина-17А –IL-17А) выявлены изменения в виде их пониженного уровня в 4-й группе (УТС) ($p = 0,0084$). Содержание DP Th17 (популяция клеток, обладающая высокой миграционной способностью в периферические ткани и органы, обусловленная высокой экспрессией хемокиновых рецепторов и адгезионных молекул) было повышено в 3-й (УСС) ($p = 0,012$) и 4-й группах (УТС) ($p = 0,006$). Оценка изменений в субпопуляциях Th17 в рамках CCR6⁺ Th EM позволила установить повышенное количество DN Th17 у всех пациентов с ЧМТ ($p < 0,05$). Установлено значимое повышение количества «классических» Th17 у пациентов во 2-й группе (УЛС) ($p = 0,037$) и в 4-й группе (УТС) ($p = 0,0148$) в сравнении с контрольной группой. Содержание «неклассических» Th17 (Th17.1) было достоверно снижено только у пациентов в 4-й группе (УТС) ($p = 0,0158$). Анализ DP Th17 не выявил статистически значимых изменений.

Полученные результаты указывают на активное формирование пула клеток Th17 как в рамках центральной, так и эффекторной памяти, что свидетельствует о

направленной их миграции в ответ на ЧМТ. Данные согласуются с работами Moalem, G. и соавторов, которые экспериментально доказали, что Th17 CCR6+ в условиях *in vitro* обладают высокой способностью к трансмиграции через эндотелий, входящий в состав гематоэнцефалического барьера. Можно предположить, что высокая пластичность Th17 способствует возникновению реципрокных изменений как закономерного процесса в ответ на повреждение нервной ткани.

Особенности изменений субпопуляций В-лимфоцитов в периферической крови. При анализе субпопуляций CD19+ В-лимфоцитов выявлены дисбаланс в виде снижения пула «активированных наивных» Vm2 клеток и Vm2'– клеток-предшественников герминального центра, а также повышенное количество общей субпопуляции Vm-клеток, включающей в себя центробласты и центроциты у пациентов 3-й (УСС) и 4-й групп (УСТ) ($p < 0,05$). Можно предположить, что данные изменения обусловлены процессами перераспределения миграции клеток. Так, повышение «наивных» Vm1 клеток у пациентов в 1-й (СТГ) и 2-й групп (УЛС), является ответом на повреждение в виде активации клеток, способных к дальнейшей дифференцировке и реализации своих эффекторных свойств, однако с увеличением тяжести наблюдается истощение пула клеток в результате их миграции в головной мозг и вторичные лимфоидные органы для осуществления процессов дифференцировки в более зрелые формы. Данное положение подтверждается повышением в циркуляторном русле «Vm3+Vm4» и покоящихся клеток памяти Vm5 у пациентов 3-й (УСС) и 4-й групп (УТС) ($p < 0,05$). Таким образом, в ответ на ЧМТ происходит истощение пула В-лимфоцитов, находящихся на ранней стадии дифференцировки, в ответ на утяжеление степени тяжести травмы.

Роль отдельных субпопуляций лимфоцитов в прогнозировании когнитивных нарушений. Для оценки влияния найденных изменений в субпопуляционном составе лимфоцитов на исход пациентов с ЧМТ и уровень когнитивных нарушений выполнен анализ корреляционных взаимосвязей между основными субпопуляциями Т- и В-лимфоцитов в образцах периферической крови и результатами основных нейропсихологических тестов (MMSE, FAB, MoCA, Тест Галвестона). По результатам анализа между относительным содержанием Th 17 CM и результатами выполнения теста FAB ($r = -0,455$; $p = 0,0018$) выявлена отрицательная корреляционная зависимость. Анализ гуморального звена иммунной системы показал, что между содержанием Vm1 клеток с фенотипом IgD+CD38- и показателями выполнения теста MMSE существует отрицательная корреляционная связь ($r = -0,510$; $p = 0,0004$). Кроме этого, между показателями теста FAB и относительным содержанием клеток памяти с «непереключенным» классом синтезируемых антител (“unswitched” IgD+CD27+) выявлена положительная корреляционная связь ($r = 0,415$; $p = 0,05$).

Роль отдельных субпопуляций лимфоцитов в прогнозировании течения заболевания. Обнаружена достоверная положительная взаимосвязь между исходами по расширенной шкале ком Глазго и абсолютным содержанием Th2 EM ($r = 0,473$; $p = 0,022$) и покоящихся клеток памяти Vm5 ($r = 0,431$; $p = 0,03$). Также обнаружена отрицательная зависимость между исходами заболевания по модифицированной шкале Рэнкина (mRS) и абсолютным содержанием Th EM ($r = -0,41$; $p = 0,033$).

Оценка проницаемости гематоэнцефалического барьера в зависимости от степени тяжести. Был определён уровень альбумина (г/л) в биологических жидкостях (в ЦСЖ и сыворотке крови) с дальнейшим расчётом интегрального коэффициента проницаемости альбумина (QAlb). Нами было обнаружено, что у пациентов 3-й (УСС) и 4-й групп (УТС) наблюдается достоверно повышенный индекс QAlb (29,8 г/л и 50,82 г/л, соответственно) нарушения избирательной проницаемости ГЭБ.

Изменение содержания цитокинов/хемокинов в цереброспинальной жидкости в зависимости от степени тяжести черепно-мозговой травмы. Проводился сравнительный анализ уровня цитокинов/хемокинов в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) пациентов с ушибом головного мозга различной степени тяжести (2-я, 3-я, 4-я группы) с данными в 1-й группе (СТГ), что было связано с отсутствием у них структурных изменений, а также с трудностями забора ЦСЖ у практически здоровых лиц как группы, не имеющей показаний для проведения спинномозговой пункции.

Изучение полученных данных позволило выявить, что увеличение степени тяжести травмы сопровождалось нарастанием концентрации провоспалительных цитокинов в ЦСЖ. Уровень IL-1 α в 3-й группе (УСС) в 5,5 раз и почти 8 раз у пациентов 4-й группы (УТС) выше, чем в группе сравнения (1-я группа, СТГ). Обращает на себя внимание, что концентрация IL-6 статистически значимо возрастала в 7,6, в 40 и 862 раза при исследовании ЦСЖ пациентов 2-й (УЛС), 3-й (УСС) и 4-й групп (УТС), соответственно. Аналогичная динамика выявлена в концентрации IL-18. Уровень IL-18 достоверно увеличивался во всех группах по сравнению с данными в группе сравнения (1-я группа, СТГ). Помимо этого, концентрация TNF α достоверно превышала значения группы сравнения (1-я группа, СТГ) только 4-й группе (УТС) (почти в 12 раз). Установлено, что 4-я группа (УТС) характеризовалась значимым повышением уровня противовоспалительных цитокинов (IL-1 RA и IL-10) относительно группы сравнения (1-я группа, СТГ). Не исключено, что достоверно значимое повышение IL-10 является предиктором развития гнойно-септических осложнений и неблагоприятного исхода ЧМТ. Анализ ростовых факторов в ЦСЖ пациентов 2-й (УЛС), 3-й (УСС) и 4-й (УТС) групп позволил выявить тенденцию к повышению концентрации Flt3 Ligand в 4-й группе (УТС) почти в 3 раза относительно группы сравнения (1-я группа, СТГ). Существенное повышение G-CSF и PDGF-AA нами было выявлено в 3-й (УСС) и 4-й группах (УТС) по сравнению с данными в группе сравнения (1-я группа, СТГ). Вероятно, повышенная продукция ростовых факторов у пациентов с ушибом головного мозга является компенсаторным механизмом, направленным на нейропротекцию поврежденной нервной ткани. При этом концентрация sCD40L была достоверно повышена у всех пациентов с ушибом головного мозга независимо от степени тяжести. А именно, во 2-й группе (УЛС) в 9 раз, в 3-й группе (УСС) в 13,5 раз и в 4-й группе (УТС) в 19 раз превышали значения в группе сравнения (1-я группа, СТГ).

По результатам оценки концентрации хемокинов в ЦСЖ обращает на себя внимание факт повышения уровня CXCL9/MIG у всех пациентов с травмой головного мозга ($p < 0,05$) в отличие от концентраций CCL4/MIP-1 β , CXCL1/GRO, CXCL8/IL-8,

CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, значимое повышение которых установлено только в 4-й группе (УТС). Согласно полученным данным в 4-й группе пациентов (УТС) уровень CCL2/MCP-1 был повышен почти в 3 раза, CCL4/MIP-1 β – в 10,5 раз, CXCL1/GRO – в 10 раз, CXCL8/IL-8 – в 3,5 раза, CXCL9/MIG – в 9 раз, CXCL10/IP-10 – в 3 раза относительно значений в группе сравнения (1-я группа, СТГ).

Согласно литературным данным нарастание альбумина и уровня цитокинов отражает не только тяжесть повреждения головного мозга, но и степень нарушения избирательной проницаемости гематоэнцефалического барьера (Mehta T., 2022). Необходимо отметить, что повышенный уровень провоспалительных цитокинов и хемокинов (CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10) в ЦСЖ имеет одно из ключевых значений в иммунопатогенезе нейровоспалительного процесса, так как результатом этого процесса является нарушение барьерной функции гематоэнцефалического барьера (Simon F., 2021).

Клинико-диагностическая значимость определения цитокинов/хемокинов в цереброспинальной жидкости. Для определения информативности содержания цитокинов/хемокинов в ЦСЖ у пациентов с ЧМТ различной степени тяжести был проведен анализ кривых операционной характеристики (ROC-анализ) и построены характеристические ROC-кривые, а также вычислены площади под характеристической кривой. В *таблице 1* представлены наиболее информативные показатели.

Таблица 1 – Параметры диагностической информативности определения цитокинов/хемокинов, выявленные в результате ROC-анализа у пациентов с черепно-мозговой травмой различной степени тяжести

Цитокины/ хемокины, пг/мл	2 группа (УЛС)				3 группа (УСС)				4 группа (УТС)			
	n=30				n=31				n=24			
	ППК	Ч	СП	КР	ППК	Ч	СП	КР	ППК	Ч	СП	КР
IL-6*	0,906	100	87,5	>11,4	0,961	94	100	>17,3	0,961	100	87,5	>241
sCD40L*	0,805	83	67	>16,6	0,850	77	75	>29	0,921	87,5	84	>37,8
CXCL9/MIG*	0,761	78	67	>27	0,850	67	64	>43,1	0,951	87	93	>86,2
PDGF-AA*					0,763	78	67	>29	0,785	72	75	>30,77
CXCL10/IP-10*					0,750	75	54	>394,8	0,755	78	87	>717,6
IL-1RA*									0,910	86	82	>23,4
Flt3 Ligand*									0,794	75	71	>4,3
CXCL8/IL-8*									0,881	88	73	>59,43

*Примечание: ППК – площадь под характеристической кривой, Ч – чувствительность (%), СП – специфичность (%), КР – оптимальный критерий разделения; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести; * $p < 0,05$.*

Особенности содержания основного белка миеллина в цереброспинальной жидкости у пациентов с черепно-мозговой травмой различной степени тяжести

Для оценки степени демиелинизации был проведен анализ уровня основного белка миеллина (ОБМ) в ЦСЖ у пациентов с ушибом головного мозга легкой, средней и тяжелой степеней тяжести. 1-я группа (СТГ) исключена, в связи с отсутствием структурных

повреждений, способных привести к появлению нейроспецифических белков в ЦСЖ. С возрастанием тяжести пациентов наблюдалось нарастание концентрации ОБМ в ЦСЖ. Статистически значимые отклонения от нормы ($>1,0$ нг/мл) обнаружены у пациентов всех групп. Анализ корреляционных взаимосвязей между уровнем ОБМ и IL-6 в общей группе обследованных с ушибом головного мозга различной степени тяжести позволил выявить прямую корреляционную зависимость ($r=0,465$; $p=0,017$). Данные результаты закономерно отражают степень воспаления и процесса нейродегенерации.

Помимо оценки абсолютных величин уровня цитокинов и ОБМ в ЦСЖ мы проанализировали взаимосвязь между концентрацией ОБМ и результатами выполнения тестов, направленных на оценку когнитивных функций. Была установлена отрицательная корреляционная связь с результатами выполнения теста FAB ($r=-0,41$; $p=0,006$) и MoCA ($r=-0,44$; $p=0,032$).

На основании анализа полученных в работе результатов был сформирован клинично-лабораторный алгоритм (рисунок 1), позволяющий использовать исследованные биомаркеры для дифференцировки степени тяжести, а также разработаны клинично-иммунологические модели (рисунок 2) прогнозирования течения ЧМТ различной степени тяжести (способы прогноза развития когнитивных нарушений, гнойно-воспалительных осложнений и неблагоприятных исходов заболевания).

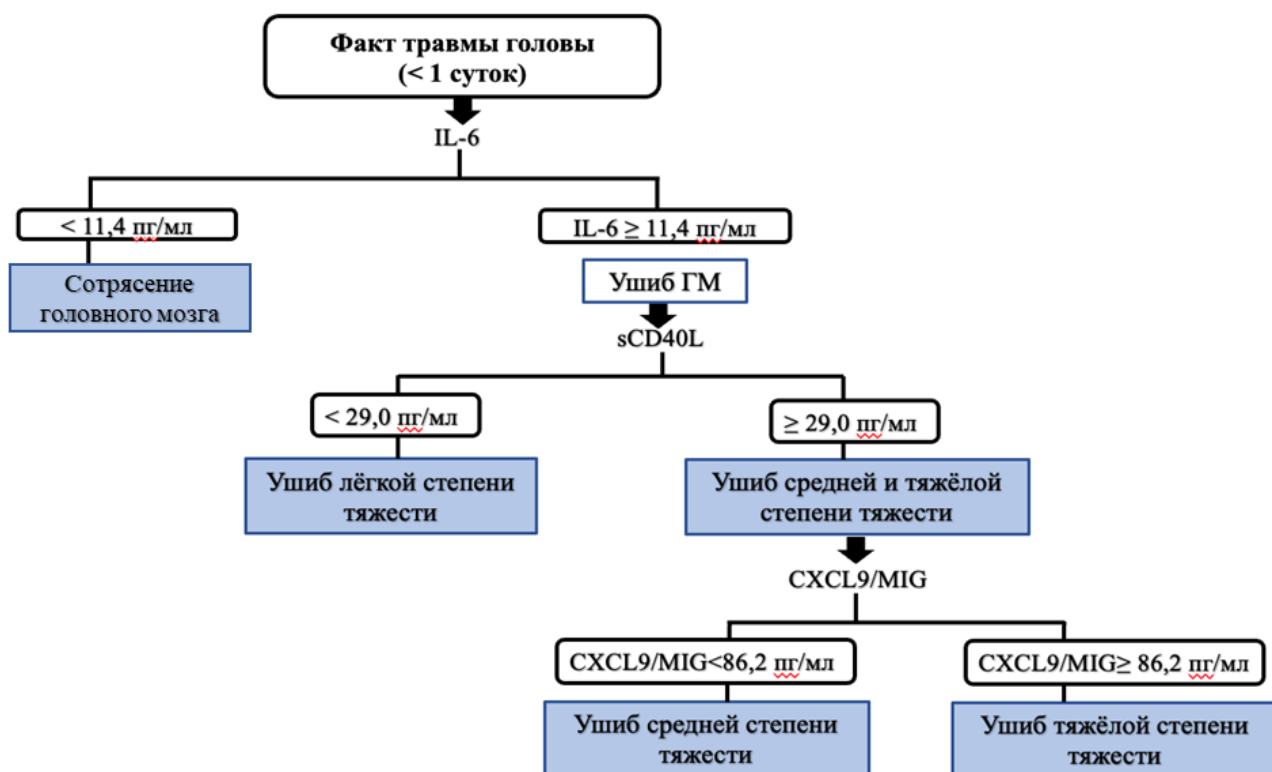


Рисунок 1 – Дерево решений для дифференциации черепно-мозговой травмы различной степени тяжести

Примечание: ГМ – головной мозг.

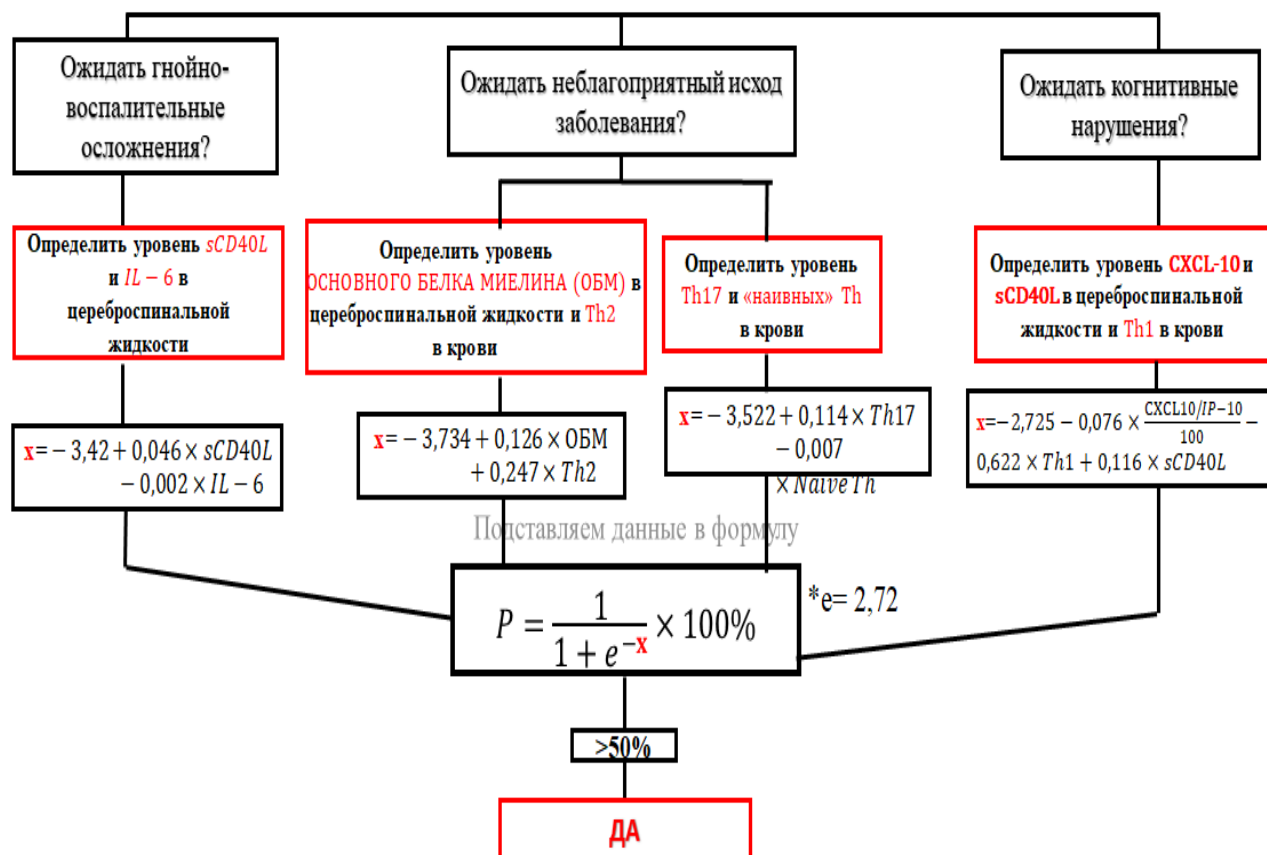


Рисунок 2 – Прогноз вероятности развития когнитивных нарушений, интракраниальных гнойно-воспалительных осложнений и исходов заболевания
ВЫВОДЫ

1. Основу клинической картины нарушения когнитивных функций при лёгкой черепно-мозговой травме составляют ухудшение внимания, замедление темпа мышления, снижение активности, уменьшение мотивации к действиям, снижение контроля их выполнения, негрубые мнестические расстройства, соответствующие лёгким и умеренным расстройствам; у пациентов с ушибом головного мозга средней и тяжелой степени тяжести на фоне изменения сознания и общего статуса комплексная оценка нарушений высших корковых функций затруднена, что предопределяет необходимость их изучения после окончания острого периода травмы.

2. У пациентов с ушибом головного мозга в 1-е сутки после травмы в периферической крови выявляется значительное снижение количества $Th1$ типа и повышение $Th2$ типа и $Th17$ типа, которые коррелируют с результатами выполнения нейропсихологических тестов (MMSE, FAB) и исходами заболевания.

3. У пациентов с ушибом головного мозга лёгкой, средней и тяжёлой степени тяжести в 1-е сутки после травмы в периферической крови наблюдается сниженный уровень «активированных наивных» $Vm2$ лимфоцитов с фенотипом $IgD+CD38+$ и общей популяции В-лимфоцитов с фенотипом $IgD-CD38+++$, при этом содержание «активированных наивных» В-лимфоцитов прямо коррелирует с результатами выполнения нейропсихологических тестов (MMSE, FAB) и исходами заболевания.

4. Уровень IL-6 в цереброспинальной жидкости прямо коррелирует с уровнем основного белка миелина в цереброспинальной жидкости, интегральным коэффициентом проницаемости альбумина и степенью тяжести заболевания, что является свидетельством нарушения барьерной функции гематоэнцефалического барьера у пациентов с ушибом головного мозга, приводящего к притоку цитокинов в очаг повреждения.

5. Повышенные концентрации цитокинов IL-6, sCD40L и хемокинов CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10 в цереброспинальной жидкости пациентов с ушибом головного мозга являются высокоинформативными маркерами повреждения нервной ткани.

6. Совокупная оценка концентраций IL-6, CXCL9/MIG и sCD40L в цереброспинальной жидкости позволяет проводить дифференциальную диагностику сотрясения и ушиба головного мозга лёгкой, средней и тяжёлой степени тяжести.

7. Разработанные прогностические модели, основанные на определении уровня Т-хелперов, Th1, Th2, Th17, от CD3+CD4+ в периферической крови и основного белка миелина, CXCL9/MIG, IL-6, sCD40L в цереброспинальной жидкости, позволяют своевременно оценить риски развития интракраниальных гнойно-воспалительных осложнений, нарушений когнитивных функций и неблагоприятных исходов заболевания.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При поступлении пациентов в стационар в течение первых суток необходимо проводить нейропсихологическое обследование. Для пострадавших с ушибом головного мозга средней и тяжелой степеней оно должно включать проведение теста на ориентацию и амнезию Гальвестона и теста когнитивных функций медицинского центра Ранхо Лос Амигос. При легкой травме головного мозга обследование необходимо дополнять краткой шкалой оценки психического статуса, батареей лобных тестов, Монреальской шкалой оценки когнитивных функций, тестом 10 слов.

2. При проведении лабораторного обследования для объективизации тяжести повреждения головного мозга необходимо исследовать содержание в периферической крови следующих субпопуляций Т- и В-лимфоцитов: Th1, Th2, Th17.

3. После проведения люмбальной пункции необходимо проводить оценку содержания цитокинов (IL-6, IL-18 и sCD40L) и хемокинов (CXCL9/MIG и CXCL10/IP-10) в ЦСЖ для оценки степени тяжести, а также выполнять расчет интегрального показателя проницаемости гематоэнцефалического барьера по альбумину; это позволит своевременно диагностировать пациентов с высоким риском тяжелого течения заболевания.

4. Для прогнозирования развития когнитивных нарушений, интракраниальных гнойно-воспалительных осложнений и неблагоприятных исходов заболевания целесообразно применять разработанные нами модели, основанные на построении многофакторной бинарной логистической регрессии результатов клинико-иммунологического обследования.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и индексируемых в международных базах данных WoS и Scopus:

1. Клинико-иммунологический прогноз осложнений черепно-мозговых травм / **А.О. Норка**, С.В. Воробьев, Р.Н. Кузнецова // Трансляционная медицина. – 2018. – Прил. № 3. – С. 343. (ИФ РИНЦ – 0.260, К-2).
2. Показатели клеточного иммунитета у больных с ЧМТ и перспективы клинико-иммунологического прогноза течения заболевания при различной степени тяжести / **А.О. Норка**, С.В. Воробьев, Р.Н. Кузнецова, И.В. Кудрявцев, С.Н. Коваленко // Аллергология и Иммунология. – 2018. – Т. 19, № 3. – С.161. (ИФ РИНЦ – 0, К-3).
3. Состояние клеточного иммунитета у пациентов с ЧМТ различной степени тяжести и возможности клинико-иммунологического прогноза течения заболевания / **А.О. Норка**, С.В. Воробьев, Р.Н. Кузнецова, И.В. Кудрявцев, С.Н. Коваленко // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2018. – Прил. 3, № 63. – С. 147 – 148. (RSCI, ИФ РИНЦ – 0.409, К-2).
4. Изменения иммунного статуса у пациентов с сотрясением головного мозга / **А.О. Норка**, С.В. Воробьев, Р.Н. Кузнецова, И.В. Кудрявцев, С.Н. Коваленко // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2019. – Т. 38, № 3. – С. 215-216. – doi: 10.17816/rmmar26219. (RSCI, ИФ РИНЦ – 0.409, К-2).
5. Изменения показателей клеточного иммунитета у пациентов с травмой мозга различной степени тяжести в остром периоде заболевания / **А.О. Норка**, С.В. Воробьев, Р.Н. Кузнецова, И.В. Кудрявцев, С.Н. Коваленко // Трансляционная медицина. – 2019. – Прил. № 1. – С. 271. (ИФ РИНЦ – 0.314, К-2).
6. Особенности иммунного статуса у пациентов с травмой мозга различной степени тяжести / **А.О. Норка**, С.В. Воробьев, Р.Н. Кузнецова, И.В. Кудрявцев, С.Н. Коваленко // Российский Аллергологический журнал. - 2019. – Т. 16, № 1. – С. 110–112. (ИФ РИНЦ – 0.232, К-2).
7. Особенности клеточного иммунитета у пациентов с черепно-мозговой травмой различной степени тяжести в остром периоде заболевания / **А.О. Норка**, Р.Н. Кузнецова, И.В. Кудрявцев, С.Н. Коваленко, М.К. Серебрякова, С.В. Воробьев // Медицинский академический журнал. – 2019. – Спецвып., Т. 19: Взаимодействие нервной и иммунной систем в норме и патологии: VII междунар. симпозиум (27 – 31 мая 2019 г., Санкт-Петербург). – С. 96–98. (ИФ РИНЦ – 0.190, К-2).
8. Анализ клинической картины и иммунологических нарушений у пострадавших с сотрясением головного мозга / **А.О. Норка**, С.В. Воробьев, А.Ю. Емелин, Р.Н. Кузнецова, И.В. Кудрявцев, М.К. Серебрякова, С.Н. Коваленко // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2020. – Прил. 3, № 71. – С. 144– 145. (RSCI, ИФ РИНЦ – 0.409, К-2).
9. Особенности изменений показателей иммунного статуса при сотрясении головного мозга в остром периоде / **А.О. Норка**, С.В. Воробьев, Р.Н. Кузнецова, М.К. Серебрякова, И.В. Кудрявцев, С.Н. Коваленко // Российский иммунологический журнал. – 2020. – Т. 23, № 4. – С. 529-536. – doi: 10.46235/1028-7221-1049-PFO. (RSCI, PubMed, ИФ РИНЦ – 0.165, К-1).
10. Комплексная оценка клинико-иммунологических нарушений у пациентов в остром периоде сотрясения головного мозга / **А.О. Норка**, С.В. Воробьев, А.Ю. Емелин, Р.Н. Кузнецова, И.В. Кудрявцев, М.К. Серебрякова, С.Н. Коваленко // Российский неврологический журнал. – 2020. – Т. 25, № 5. – С. 21–28. – doi: 10.30629/2658-7947-2020-25-5-21-28 (IF Scopus - 0.11, Q4; ИФ РИНЦ – 0.394, К-1).

11. Особенности гуморального иммунитета у пациентов с сотрясением головного мозга в остром периоде заболевания / **А.О. Норка**, С.В. Воробьев, Р.Н. Кузнецова, М.К. Серебрякова, И.В. Кудрявцев, С.Н. Коваленко // Российский иммунологический журнал. – 2021. – Т. 24, № 4. – С. 525– 530. doi: 10.46235/1028-7221-1049-PFO. (RSCI, PubMed, ИФ РИНЦ – 0.165, К-1).

12. Role of the cellular immunity in the pathogenesis of brain contusion / **A.O. Norka**, S.V. Vorobyev, R.N. Kuznetsova, M.K. Serebriakova, I.V. Kudryavtsev, S.N. Kovalenko // Medical Immunology (Russia). – 2021. – V. 23, № 4. – P. 825-830. doi: 10.15789/1563-0625-ROT-2355 (Scopus, IF - 0.6, Q4; PubMed; ИФ РИНЦ – 0,718, К-1).

13. Особенности гуморального иммунитета у пациентов с ушибом головного мозга легкой степени тяжести / **А.О. Норка**, С.В. Воробьев, Р.Н. Кузнецова, М.К. Серебрякова, И.В. Кудрявцев, С.Н. Коваленко, Д.Н. Монашенко, З.Р. Коробова // Российский иммунологический журнал. – 2022. – Т. 25, № 4. – С. 471–476. doi: 10.46235/1028-7221-1182-FOH. (RSCI, PubMed, ИФ РИНЦ – 0.165, К-1).

14. Сотрясение и ушиб головного мозга легкой степени тяжести: нейropsychологические и иммунопатогенетические аспекты / **А.О. Норка**, С.В. Воробьев, И.В. Кудрявцев, Р.Н. Кузнецова, М.К. Серебрякова, Д.Н. Монашенко, К.М. Шубина, А.А. Тотолян // Российский нейрохирургический журнал им. профессора А.Л. Поленова. – 2023. – Т. XV, № 1. – С. 37–44. (ИФ РИНЦ – 0.300, К-1).

Публикации в других изданиях

15. Comparative evaluation of clinic-immunological data in patients with traumatic brain injury of different severity level in acute period / **A.O. Norka**, S.V. Vorobyev, R.N. Kuznetsova, I.V. Kudryavtsev, S.N. Kovalenko // Biological Markers in Fundamental and Clinical Medicine. – 2018. – Vol. 2, № 2. – P. 48-49. doi:10.29256/v.02.02.2018.escbm01-87.

16. Параметры клеточного иммунитета у пациентов с травмой мозга различной степени тяжести / С.В. Воробьев, **А.О. Норка**, Р.Н. Кузнецова, И.В. Кудрявцев, С.Н. Коваленко // Фундаментальная наука и клиническая медицина. Человек и его здоровье: тез. XXII Междунар. медико-биол. конф. молодых исследователей (20.04.2019, Санкт-Петербург). – Санкт-Петербург, 2019. – С.120–121.

17. Сравнительная оценка показателей клеточного иммунитета у больных с ЧМТ различной степени тяжести в остром периоде заболевания и перспектива клинко-иммунологического прогноза течения заболевания / **А.О. Норка**, С.В. Воробьев, Р.Н. Кузнецова, И.В. Кудрявцев, М.К. Серебрякова, С.Н. Коваленко // Мультидисциплинарные проблемы профилактики и лечения болезней мозга. – Москва, 2019. – С. 510–511.

18. Особенности изменения иммунологических показателей у пациентов с сотрясением головного мозга в остром периоде заболевания / **А.О. Норка**, С.В. Воробьев, Р.Н. Кузнецова, И.В. Кудрявцев, М.К. Серебрякова, С.Н. Коваленко // Давиденковские чтения: Неврология: материалы XXII конгресса с междунар. участием (24-25.09.2020, Санкт-Петербург). – Санкт-Петербург, 2020. – С. 330– 331.

19. Клеточный иммунитет и его роль в патогенезе у пациентов с ушибом легкой степени тяжести в остром периоде заболевания / **А.О. Норка**, С.В. Воробьев, Р.Н. Кузнецова, И.В. Кудрявцев, С.Н. Коваленко // Давиденковские чтения: Неврология: материалы XXIII конгресса с междунар. участием (23-24.09.2021, Санкт-Петербург). – Санкт-Петербург, 2021. – С. 248– 249.

20. Особенности изменения иммунологических показателей у пациентов с сотрясением головного мозга в остром периоде заболевания / **А.О. Норка**, С.В. Воробьев, Р.Н. Кузнецова, И.В. Кудрявцев, М.К. Серебрякова, С.Н. Коваленко // Давиденковские чтения: Неврология: сб.

тез. XXIV конгресса с междунар. участием (22-23.09.2022, Санкт-Петербург). – Санкт-Петербург, 2022. – С. 217– 218.

21. Cellular immunity in patients with concussion and possible association with subsequent cognitive impairment withdrawn by author [электронный ресурс] / A. Norka, S. Vorobjev, R. Kuznetsova, I. Kudryavtsev, M. Serebriakova, S. Kovalenko, D. Monashenko, A. Saveliev // E-Book of Abstracts. – 2022. – Режим доступа: <https://kenesvm.azureedge.net/public/general/FENS2022.pdf>.

Заявки на патент

22. **Заявка 2023101141 Российская Федерация.** Способ прогнозирования когнитивных нарушений у пациентов с сотрясением головного мозга и ушибом лёгкой степени тяжести / **Норка А.О.**, Кузнецова Р.Н., Воробьев С.В., Кудрявцев И.В., Монашенко Д.Н., Тотолян А.А.; заявитель ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; опубл. 19.01.2023. – 7 с.: ил.

23. **Заявка 2023101142 Российская Федерация.** Способ дифференциации сотрясения головного мозга, ушиба головного мозга лёгкой, средней и тяжёлой степени тяжести» / **Норка А.О.**, Кузнецова Р.Н., Воробьев С.В., Кудрявцев И.В., Коробова З.Р., Любимова Н.Е., Монашенко Д.Н., Тотолян А.А.; заявитель ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; опубл. 19.01.2023. – 6 с.: ил.

24. **Заявка 2023101145 Российская Федерация.** Способ прогнозирования развития гнойно-воспалительных осложнений у пациентов, перенесших черепно-мозговую травму различной степени тяжести / **Норка А.О.**, Кузнецова Р.Н., Воробьев С.В., Кудрявцев И.В., Коробова З.Р., Любимова Н.Е., Монашенко Д.Н., Тотолян А.А.; заявитель ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; опубл. 19.01.2023. – 5 с.: ил.

25. **Заявка 2023101146 Российская Федерация.** Способ прогнозирования исходов заболевания у пациентов с черепно-мозговой травмой различной степени тяжести (его варианты) / **Норка А.О.**, Кузнецова Р.Н., Воробьев С.В., Кудрявцев И.В., Лапин С.В., Серебрякова М.К., Монашенко Д.Н., Тотолян А.А.; заявитель ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; опубл. 19.01.2023. – 12с.: ил.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГМ – головной мозг

ГЭБ – гематоэнцефалический барьер

СТГ – сотрясение головного мозга

ОБМ – основной белок миелина

ППК – площадь под характеристической кривой

ПЦР – полимеразно-цепная реакция

УЛС – ушиб легкой степени тяжести

УКН – умеренные когнитивные нарушения

УСС – ушиб средней степени тяжести

УТС – ушиб тяжелой степени тяжести

ЦСЖ – цереброспинальная жидкость

ЧМТ – черепно-мозговая травма

CCR – CC chemokine receptors (рецептор СС-хемокинов)

CD – cluster of differentiation (кластер дифференцировки)

CXCR – CXC chemokine receptor (рецептор СХС-хемокинов)

DN Th – дважды-негативные Т-хелперы

DP Th – дважды-позитивные Т-хелперы
FAB – Frontal Assessment Battery (Батарейка лобных тестов)
GOSE – Glasgow Outcome Scale Extended (расширенная шкала исходов Глазго)
G-CSF – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
IL – interleukin (интерлейкин)
HSV – вируса простого герпеса
IFN – интерферон
MoCA – Montreal Cognitive Assessment (Монреальская шкала оценки когнитивных функций)
MMSE – Mini-Mental State Examination (КШОПС, Краткая шкала оценки психического статуса)
mRS – modified Rankin scale (модифицированная шкала Рэнкина)
Naive Th – наивные Т-хелперы
Q(Alb) – коэффициент проницаемости для альбумина
Treg – регуляторный Т-лимфоцит
Th – Т-хелпер
Tfh – фолликулярный Т-хелпер
Th CM – Т-хелперы центральной памяти
Th EM – Т-хелперы эффекторной памяти
VEGF – эндотелиальный фактор роста сосудов
VZV – вирус ветряной оспы
xMap – мультиплексный анализ

НОРКА
АННА ОЛЕГОВНА

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОГНОЗ РАЗВИТИЯ
ОСЛОЖНЕНИЙ И ИСХОДОВ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ
РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ**

3.2.7 – аллергология и иммунология (3.2.7 – иммунология)

3.1.24 – неврология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук