

**Федеральное бюджетное учреждение науки**  
**САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ**  
**ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ**  
**ИМЕНИ ПАСТЕРА**

**Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и  
благополучия человека**

*На правах рукописи*

**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

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

**Научные руководители:**

*- Кузнецова Раиса Николаевна,*  
кандидат медицинских наук

*- Воробьев Сергей Владимирович,*  
доктор медицинских наук

Санкт-Петербург – 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	6
<b>ГЛАВА 1 - ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	15
1.1 – Современные принципы клинической классификации черепно-мозговой травмы	15
1.2 – Клинические аспекты и биомаркеры при черепно-мозговой травме	17
1.3 – Современные представления о роли иммунологических параметров в патогенезе черепно-мозговой травмы	21
1.3.1 – Роль врожденного иммунитета в патогенезе черепно-мозговой травмы	22
1.3.2 – Роль адаптивного иммунитета в патогенезе черепно-мозговой травмы	24
1.3.3 – Цитокины / хемокины в иммунопатогенезе черепно-мозговой травмы	26
<b>ГЛАВА 2 – МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	29
2.1 – Характеристика обследованных пациентов	29
2.2 – Методы обследования пациентов	32
2.2.1 – Клинико-неврологическое обследование	32
2.2.2 – Методы оценки когнитивных функций	32
2.2.3 – Методы оценки клинических исходов заболевания	33
2.2.4 – Методы лабораторной диагностики	34
2.2.5 – Получение цереброспинальной жидкости	34
2.2.6 – Микробиологическое исследование цереброспинальной жидкости	35
2.2.7 – Молекулярно-биологические исследования	35
2.2.8 – Определение концентрации белков	36

2.2.9 – Определение состояния гематоэнцефалического барьера	проницаемости	36
2.3 – Методы иммунологических исследований		37
2.3.1 – Определение основных субпопуляций Т-лимфоцитов и регуляторных Т-лимфоцитов в периферической крови		37
2.3.2 – Анализ основных субпопуляций «поляризованных» Т-хелперов в периферической крови		39
2.3.3 – Анализ основных субпопуляций В-лимфоцитов в периферической крови		41
2.3.4 – Определение концентрации цитокинов		42
2.4 – Методы статистической обработки полученных результатов		43
<b>ГЛАВА 3 - РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИКО-НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО, НЕЙРОПСИХОЛОГИЧЕСКОГО И ИНСТРУМЕНТАЛЬНОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ</b>		45
3.1 - Результаты клинико-неврологического обследования пациентов		45
3.2 – Результаты нейропсихологического обследования пациентов		51
3.3 – Результаты компьютерной томографии головного мозга		55
3.4 – Характеристика исходов заболевания		58
<b>ГЛАВА 4 – РЕЗУЛЬТАТЫ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ</b>		62
4.1 – Показатели субпопуляционного состава Т-лимфоцитов в периферической крови в зависимости от степени тяжести черепно-мозговой травмы		62
4.1.1 – Изменение содержания регуляторных Т-лимфоцитов в периферической крови у пациентов с травмой головного мозга		72
4.2 – Изменение субпопуляций В-лимфоцитов в периферической крови в зависимости от степени тяжести черепно-мозговой травмы		76
4.3 – Клинико-диагностическое значение определения отдельных субпопуляций лимфоцитов у пациентов с черепно-мозговой травмой		81

4.4 – Роль отдельных субпопуляций лимфоцитов в прогнозировании когнитивных нарушений и исходов черепно-мозговой травмы	85
<b>ГЛАВА 5 – СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ С ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ</b>	91
5.1 – Изменение содержания цитокинов в цереброспинальной жидкости пациентов в зависимости от степени тяжести черепно-мозговой травмы	91
5.2 – Клинико-диагностическое значение определения концентрации цитокинов у пациентов с черепно-мозговой травмой	95
<b>ГЛАВА 6 – РЕЗУЛЬТАТЫ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ СПЕЦИАЛЬНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	100
6.1 – Результаты исследования цереброспинальной жидкости на наличие герпетической инфекции у пациентов с черепно-мозговой травмой различной степени тяжести	100
6.2 – Результаты бактериологического исследования цереброспинальной жидкости	101
6.3 – Характеристика уровня основного белка миелина в цереброспинальной жидкости у пациентов с черепно-мозговой травмой различной степени тяжести	102
6.4 – Результаты определения состояния проницаемости гематоэнцефалического барьера	104
<b>ГЛАВА 7 - РАННЯЯ ДИАГНОСТИКИ НАРУШЕНИЙ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ, РАЗВИТИЯ ИНТРАКРАНИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ И НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ИСХОДА ЗАБОЛЕВАНИЯ</b>	106
7.1 – Прогнозирование риска развития когнитивных нарушений	106
7.2 – Прогнозирование риска развития интракраниальных инфекционно-воспалительных осложнений у пациентов с черепно-мозговой травмой	109
7.3 – Прогнозирование риска неблагоприятного исхода черепно-мозговой травмы	111

<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b>	119
<b>ВЫВОДЫ</b>	136
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ</b>	138
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b>	139
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b>	140
<b>ПРИЛОЖЕНИЯ (1-9)</b>	160
Приложение 1	160
Приложение 2	161
Приложение 3	162
Приложение 4	163
Приложение 5	164
Приложение 6	165
Приложение 7	166
Приложение 8	167
Приложение 9	168

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследования.** 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 [39, 44, 80]. При этом суммарный негативный эффект в медицинской, экономической и социальной сферах опережает таковой от сердечно-сосудистых заболеваний и онкологии [45, 80]. По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), среди всех травматических повреждений ЧМТ характеризуется высоким уровнем летального исхода и инвалидизации (30-77 %) [80], при этом гетерогенность ее вариантов создает трудности в оценке степени тяжести и прогнозировании раннего исхода заболевания [31, 62, 163].

Согласно современным представлениям, травма мозга характеризуется не только вариабельностью анатомических форм и биомеханикой повреждающих воздействий, но и различиями в степени развития нейровоспаления [36, 60, 62].

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<sup>+</sup> и цитотоксических CD8<sup>+</sup> Т-клеток), обладающих как протективным, так и деструктивным действием в отношении мозговой ткани [11, 19, 55, 59]. Управляющую роль в данных процессах играют цитокины – белки, продуцируемые резидентными клетками глии, опосредующие межклеточные взаимодействия при различных патологических состояниях [1, 14, 35]. Отдельную группу составляют хемокины, функция которых заключается в регуляции направленной клеточной миграции [73]. Вместе с этим вследствие нарушения барьерной функции гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) происходит рекрутирование из периферической крови в очаг воспаления клеток иммунной системы, которые являются источником провоспалительных цитокинов [92]. 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 [1, 5, 10, 13].

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, что невозможно достичь без постоянного совершенствования и внедрения новых методов диагностики [4, 8, 18, 25, 58].

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

### **Степень разработанности темы**

Несмотря на многолетнее изучение звеньев патогенеза травмы головного мозга, начиная с исследований А.И. Faden (1989), Л.Б. Лихтерман (1994), S.M. Knoblach (1998), D.J. Loane (2016), данные об особенностях клинических проявлений, осложнений, исходов заболевания носят противоречивый характер. В работах исследователей описаны основные пути патогенеза, включающие глутаматную эксайтотоксичность, митохондриальную дисфункцию, апоптоз, развитие оксидативного стресса как следствие образования активных форм кислорода [110]. Однако на данном этапе отсутствует единое мнение о предикторах течения и осложнениях черепно-мозговой травмы [73]. Не установлены патогенетические и прогностические аспекты клеточного и гуморального звеньев иммунной системы, цитокинового профиля в зависимости от тяжести ЧМТ [119].

Наряду с этим, прогнозирование отдаленного течения и исхода ЧМТ является сложной задачей ввиду разнородности данной патологии, диссоциации между отдаленными клиническими и функциональными исходами.

**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, 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 клинико-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, IL-18. Полученные диагностические маркеры содержания IL-6, sCD40L и CXCL9/MIG в ЦСЖ являются контрольными для оценки степени тяжести травмы.

Внедрение данных алгоритмов и способов диагностики в практику врачей-неврологов и нейрохирургов многопрофильных стационаров при ведении пациентов в остром периоде течения ЧМТ 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 клинико-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.

**Апробация работы.** Основные положения диссертации доложены и обсуждены на конференциях различного уровня: 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).

### **Степень достоверности**

Достоверность и обоснованность полученных результатов диссертационного исследования подтверждается достаточным объемом обследованных пациентов (n=110) и выполненными лабораторными исследованиями, а также подбором

адекватных, соответствующих задачам исследования современных методов статистической обработки полученных данных с применением программ Statistica v. 8.0 for Windows и GraphPad Prism 5.00 for Mac.

**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.

### **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).

### **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.

### **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.

## ГЛАВА 1 – ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### **1.1 – Современные принципы клинической классификации черепно-мозговой травмы**

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) представляет собой сочетанное повреждение черепа и головного мозга, развивающееся в результате воздействия общего травмирующего фактора в единые временные промежутки. Ее анатомическим субстратом являются мягкие ткани лица и головы, костные образования, составляющие череп и лицевой скелет, а также собственно структуры головного мозга и его оболочки [34, 62]. В качестве травматического элемента наиболее часто выступает механическая энергия [27, 32].

В основу классификации клинических форм травмы головы положены характер и степень повреждения головного мозга, поскольку в большинстве наблюдений именно от этих факторов зависят ее течение и исходы. В отечественной практике наиболее широкое распространение получила клиническая классификация ЧМТ, разработанная научно-исследовательским институтом нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. Она основывается на биомеханике, виде, типе, характере, форме и тяжести повреждения. Выделяют следующие основные клинические формы: сотрясение головного мозга, ушиб головного мозга легкой степени тяжести, ушиб головного мозга средней степени тяжести, ушиб головного мозга тяжелой степени тяжести, диффузное аксональное повреждение, сдавление мозга, сдавление головы [27].

Шкала комы Глазго (ШКГ), основанная на оценке уровня сознания, является основополагающей шкалой для классификации тяжести ЧМТ [36, 41, 155]. Данная шкала признана международной медицинской общественностью вследствие ее высокой надёжности и информативности для определения дальнейшей тактики лечения и возможного исхода заболевания. Согласно ШКГ по тяжести ЧМТ

разделяется на легкую, среднюю и тяжелую в зависимости от балльной оценки. Легкая ЧМТ – 12-15 баллов, среднетяжелая – 9-12 баллов, тяжелая – 3-8 баллов. В диссертации рассматривается только общий аспект оценки тяжести. На практике с учётом преморбидного состояния, характера травмы, возраста, сопутствующих повреждений, тяжесть травмы может оцениваться индивидуально.

Другие неврологические шкалы, основанные на градации тяжести комы (шкала комы Брюсселя, Грейди, Инсбурга, FOUR), используются значительно реже и не получили широкого распространения. Ряд шкал для оценки тяжести состояния, например, шкала AIS (Abbreviated Injury Scale) и шкала тяжести травм ISS (Injury Severity Score), учитывают выраженность экстракраниальных повреждений, влияющих на исход травмы.

Также в нашей стране достаточно часто используется классификация, разработанная Б.В. Гайдаром с соавторами [44]. Она предусматривает несколько градаций:

1. По тяжести: легкая – сотрясение и ушиб головного мозга легкой степени тяжести, средняя – ушиб средней степени тяжести и тяжелая – ушиб тяжелой степени тяжести, сдавление мозга.

2. По возможности развития инфицирования: открытая, закрытая и проникающая.

3. По параметрам воздействия травмирующих факторов: изолированная, сочетанная, предусматривающая совместное повреждение головного мозга с другими органами, и комбинированная, когда на травмированный мозг действует несколько патогенетических факторов, например, механический и электрический.

4. По характеру возникновения: первичная и вторичная на фоне падения, вызванного иным актуальным патологическим процессом, например, эпилептическим припадком;

5. По временным характеристикам (первичная, повторная);

6. По распространенности повреждения (очаговая, диффузная);

7. По механике возникновения (например, ударная);



8. По клиническим формам: сотрясение, ушиб головного мозга легкой, средней и тяжелой степеней. При этом ушиба тяжелой степени тяжести выделяют ряд дополнительных форм, в соответствии с превалирующим повреждением того или иного отдела головного мозга (диэнцефальная, экстрапирамидная, другие). Также в этой градации выделяют диффузное аксональное повреждение и сдавление головного мозга, при этом указывается, чем оно вызвано (субдуральной гематомой, переломом, внутримозговой гематомой и другими причинами);

9. По фазе течения ЧМТ: компенсация, субкомпенсация, декомпенсация и терминальная;

10. По периоду течения травмы: острый, промежуточный и отдаленный;

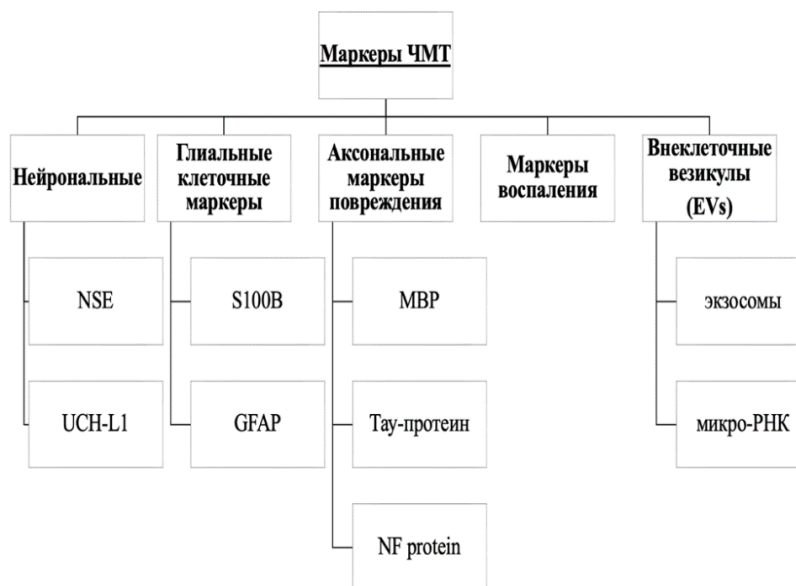
11. По наличию осложнений (интракраниальных гнойно-воспалительных и других);

12. По исходам травмы (восстановление, инвалидизация, вегетативное состояние, смерть). Необходимо отметить, что данная классификация находит свое применение в первую очередь в нейрохирургической практике, а также в судебной медицине.

## **1.2 – Клинические аспекты и биомаркеры при черепно-мозговой травме**

Ограничение возможностей традиционных методов обследования из-за их низкой специфичности и чувствительности способствовало поиску новых биомаркеров в диагностике и прогнозировании течения заболевания. В последние годы, с учётом гетерогенности патогенетических механизмов течения ЧМТ, изучаются новые прогностические биомаркеры повреждения нервной ткани [50, 85]. Рядом авторов отмечается, что поиск путей прогнозирования исходов заболевания состоит в улучшении технических средств диагностики травмы головы, в расшифровке механизмов развития патофизиологических и патохимических процессов как результата повреждения нервной ткани [77, 78, 105, 106]. Современные данные предполагают участие в патогенезе активации системы комплемента, образование активных форм кислорода, увеличение продукции глутамата/аспартата, матриксных металлопротеиназ 2 и 9 типов и других

нейротрансмиттеров, способствующих процессу повреждения нервной ткани [110, 133]. Гетерогенная природа ЧМТ ограничивает полное понимание биохимических процессов и патофизиологических изменений. Исследования последних десятилетий выявили достаточное количество молекул, которые могут отражать изменения, возникающие в результате травмы головы. Эти молекулы представляют собой потенциальные биомаркеры и отражают повреждение нейронов, глии, аксонов и процессы нейровоспаления. Кроме того, травма головного мозга рассматривается в качестве фактора риска развития ряда нейродегенеративных заболеваний, включая болезнь Паркинсона и Альцгеймера [30, 37, 54, 147], а также формирования поведенческих и эмоционально-волевых нарушений, влияющих на качество их жизни и включающих тревогу, агрессию, депрессию и изменения личности [16, 21, 24]. Эти обстоятельства определяют возможность оценки в качестве маркеров повреждения достаточно разнообразных метаболитов, отражающих различные звенья патогенеза (*рисунок 1*).



**Рисунок 1 – Биомаркеры черепно-мозговой травмы, отражающие основные звенья патогенеза**

*Примечание:* NSE – Нейронспецифическая энолаза, UCH-L1 – Убиквитин С-концевая гидролаза, GFAP – глиальный фибриллярный кислый белок, MBP – основной белок миелина, NF protein – белок нейрофибромина.

На сегодняшний день исследованы прогностические потенциалы следующих биомаркеров:

1. Нейронспецифическая энолаза (NSE). Представляет собой цитоплазматический фермент нейронов, участвующий в гликолитическом пути метаболизма нервных клеток. Концентрация NSE в сыворотке повышается в первые 12 часов после травмы головы и снижается в течение нескольких часов или дней [152];

2. Убиквитин С-концевая гидролаза-L1 (UCH-L1). Представляет собой нейрон-специфичный белок, обладающий ферментативной активностью. UCH-L1 гидролизует полимерные формы убиквитина и убиквитиновые конъюгаты до мономерных форм [166]. Результаты исследования Mondello S. и соавторов показали значительное повышение концентрации UCH-L1 в сыворотке и цереброспинальной жидкости у пациентов с ушибом головного мозга в течение 6-24 часов, при этом имела место корреляция со смертельным исходом [125].

3. S100B представляет собой кальций-связывающий белок, присутствующий в астроглиальных клетках [109]. Травма головного мозга и ишемические повреждения активируют астроглиальные клетки, которые выделяют белок S100B во внеклеточное пространство [143, 144]. Белок S100B проникает в ЦСЖ, а затем в кровь. Хотя S100B защищает нейроны от воспаления после ЧМТ, он усиливает фосфорилирование тау-белков, способствующих нейродегенерации [142]. Исследования последних десятилетий указывают, что повышенный уровень S100B связан с тяжестью травмы и указывает на неблагоприятный клинический исход [3, 141].

4. Глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP) - мономерный белок, являющийся частью цитоскелета клеток астроглии [84, 107]. GFAP поддерживает структуру нейронов и помогает в активации глиальных клеток [83]. Рядом исследователей характеризуется как белок «острой фазы», который имеет тенденцию к повышению в первые часы после травмы с быстрым возвращением к нормальным значениям [7, 86, 100].

5. Основной белок миелина (ОБМ) также является одним из основных белков центральной нервной системы (ЦНС) и является биомаркером состояния белого вещества [126]. При ЧМТ возможно повреждение аксонов и выброс МВР в кровь.

Обнаружен его повышенный уровень на 1-3 сутки после травмы [9, 10, 76, 132]. Повышенная концентрация ОБМ в сыворотке может сохраняться в течение 2 недель от момента травмы, что указывает на неблагоприятный исход, часто сопровождающийся внутримозжечковым кровоизлиянием [82, 110]. Исследования последних лет отмечают связь между возрастанием уровня ОБМ и повышенным риском смертельного исхода [142].

6. Тау-белок представляет собой белок, ассоциированный с микротрубочками (MAP-tau), экспрессирующийся в основном в нейронах для стабилизации аксонов [103, 147, 162]. В норме тау-белок подвергается фосфорилированию. При этом его аномальное фосфорилирование возможно при нейродегенеративной патологии, вследствие чего он накапливается и образует нейрофибриллярные клубки. При тяжёлой травме выявлено повышение данного биомаркера с постепенным снижением в течение 3-х суток, отмечена его корреляционная взаимосвязь с уровнем внутримозжечкового давления [57, 72].

ЧМТ представляет собой не единичное событие, а совокупность ряда патологических процессов. В настоящее время широко признано, что травма головного мозга является мультимодальным комплексным заболеванием [108, 118]. Структурные и функциональные изменения в результате травмы ведут к повреждениям нейронов, которые можно разделить на первичные и вторичные [114, 115]. Первичное повреждение является результатом внешнего воздействия, чаще всего механической природы (прямого контакта и /или сил инерции) [141]. Вторичные повреждения являются результатом каскадов метаболических, нейрохимических событий, следующих из первичных повреждений. Всестороннее понимание патофизиологических процессов ЧМТ необходимо для разработки нейропротекторных и терапевтических вмешательств [136, 173].

Комплексное исследование клинической картины, биомаркеров и результатов методов нейровизуализации помогают привести к правильному установлению тяжести и прогнозированию исхода [90, 119]. В то же время отсутствие диагностически значимых биомаркеров, уверенно коррелирующих с прогрессированием ЧМТ, приводит к недиагностированным или поздно

диагностируемым осложнениям [38]. Методы нейровизуализации, такие как компьютерная томография (КТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ), помогают оценить общую картину травмы, но это не всегда распространяется на случаи легкой ЧМТ [56, 116, 150, 173]. Кроме того, МРТ может быть недоступной в клинических условиях в связи с невозможностью ее выполнения для некоторых групп пациентов [131]. Исследование традиционных биомаркеров ЧМТ в сыворотке крови достаточно ограничено, что обусловлено их малыми концентрациями в исследуемых образцах. Большую роль при этом играет низкая их способность проникать в сыворотку крови вследствие наличия ГЭБ. Это предопределяет необходимость поиска новых эффективных биомаркеров оценки тяжести ЧМТ [140, 148].

### **1.3 – Современные представления о роли иммунологических параметров в патогенезе черепно-мозговой травмы**

Нейровоспаление является одним из основных компонентов патофизиологии ЧМТ и вносит свой вклад как в формирование вторичных повреждений, так и в механизмы восстановления. Иммунный ответ, возникающий на первичное структурное повреждение мозга, сопровождается высвобождением большого числа регуляторных пептидов, в том числе цитокинов. В разные фазы воспалительного процесса меняются типы клеточных взаимодействий и наблюдается переход от одних популяций клеток к другим [140, 153, 154].

Ключом к разработке эффективных методов лечения ЧМТ является лучшее понимание и определение точных механизмов, лежащих в основе первичной и вторичной патологии, связанной с повреждением нервной ткани в результате механического воздействия. Первичное повреждение возникает во время удара и приводит к прямому повреждению нервной ткани [145, 150, 156]. Очаговое внутричерепное кровоизлияние, эпидуральная и субдуральная гематома, ушиб головного мозга и диффузное аксональное повреждение являются примерами первичного повреждения [52, 90]. Вторичное повреждение следует за первичным и опосредовано несколькими путями, включающими глутаматную

эксайтотоксичность [6, 85, 113, 129]. В течение нескольких минут после травмы головного мозга высвобождаются ассоциированные с повреждением молекулярные паттерны (DAMP – от англ. damage associated molecular patterns). К ним относятся АТФ, белки теплового шока и HMGB1 (от англ. high-mobility group protein B1) [95, 97, 171, 175]. Молекулы связываются с TLR (от англ. Toll-like receptor), NLR (от англ. Nod-like-receptor) и пуринергическими рецепторами, инициируя немедленную активацию резидентных миелоидных клеток (например, микроглии) и сборку инфламмасом (NALP1). Данный процесс приводит к синтезу провоспалительных цитокинов IL-1b, IL-6, IL-18 и повышению экспрессии хемокиновых рецепторов. Одновременно происходит рекрутирование нейтрофилов, моноцитов, Т- и В-лимфоцитов в очаг воспаления [165, 175].

Таким образом, имеющиеся данные повышают интерес к роли иммунной системы в патогенезе ЧМТ. Некоторые исследователи предполагают, что иммуотропная терапия может значительно изменить клинический исход течения заболевания у пациентов с травмой головного мозга [20].

### **1.3.1 – Роль врожденного иммунитета в патогенезе черепно-мозговой травмы**

Иммунный ответ, инициируемый повреждением нервной ткани, вовлекает клетки врожденного иммунного ответа в виде активации клеток микроглии и астроглии с последующей усиленной продукцией цитокинов и хемокинов, а также рекрутированием моноцитов и нейтрофилов в зону повреждения [32, 79].

Гибнущие в условиях прямого повреждения нейроны высвобождают сигналы «опасности», которые получили название «ассоциированные с опасностью молекулярные паттерны» (DAMPs) или алармины [81, 97]. Сигналы опасности включают различные белки (HMGB1 – high mobility group box 1, белки теплового шока, S100B), аденозинтрифосфат (АТФ), ДНК, РНК, сульфат гепарина, окисленные липопротеиды низкой плотности,  $\beta$ -амилоид, гиалуронан и некоторые другие молекулы. DAMPs распознаются паттерн-распознающими рецепторами (англ. pattern-recognition receptors, PRR), что приводит к запуску каскада

сигнальных путей, приводящих к синтезу провоспалительных цитокинов и хемокинов [15, 175]. Нарушение ГЭБ под действием медиаторов воспаления способствует миграции циркулирующих иммунных клеток в нервную ткань [63, 146, 149].

Врожденная иммунная система служит первой линией защиты от вторжения патогенов и повреждений. В случае ЧМТ, когда первоначальная механическая травма вызывает прямое повреждение, именно микроглия и астроциты инициируют развитие нейровоспаления [74]. Клетки микроглии в физиологических условиях находятся в состоянии покоя за счёт взаимодействия соответствующего рецептора с его лигандом на нейронах (прежде всего CD200, CD172a, CD47 и фракталкиновый сигналинг CX3CL1-CX3CR1), тем самым поддерживая нейрогенез и функционирование нейронов [161]. Нарушение структуры CD200 наблюдается при многих заболеваниях, для которых характерна M1-поляризация микроглии [120, 141]. Различают три основных фенотипа микроглиальных клеток: M0, M1 и M2. Фенотип M0 представляет собой «состояние покоя». Фенотип M1 характеризуют как провоспалительный, так как для клеток характерно выделение фактора некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), интерлейкинов 1 $\beta$  и 6 (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6). Фенотип M2 считается противовоспалительным, поскольку при нем клетки выделяют ИЛ-10 (IL-10), трансформирующий фактор роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), а также инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1) и другие нейротрофические факторы, способствующие восстановлению ткани [68]. Переход из одного фенотипа в другой называют поляризацией микроглии [117, 171]. Предполагают, что в здоровой ткани мозга микроглия находится в состоянии M0, однако в случае появления DAMPs, происходит поляризация микроглии по фенотипу M1 – провоспалительному, а также миграция в нервную ткань макрофагов. По мере развития воспалительного ответа происходит альтернативная поляризация в фенотип M2, когда функции микроглии меняются с первичного иммунного ответа на выделение нейротрофических факторов и восстановление ткани, а затем возвращение в M0 [53, 74, 98, 118].

Исследования последних лет на моделях ЧМТ указывают на усиление продукции цитокинов и хемокинов не только в зоне повреждения, но и на периферии [99, 131, 148], что подтверждается данными корреляционной взаимосвязи с объемом повреждения и исходами заболевания. Такая компенсаторная реакция направлена на ограничение воспаления, однако в случае избыточного воздействия может приводить к развитию инфекционных осложнений [33, 43, 104, 119].

### **1.3.2 – Роль адаптивного иммунитета в патогенезе черепно-мозговой травмы**

Особое внимание в последние годы уделяется роли субпопуляций Т-хелперов, которые являются ключевым звеном клеточно-опосредованных реакций после ЧМТ. Согласно современным представлениям об иммунопатогенезе ЧМТ, субпопуляции Т-хелперов 1, 2 и 17 типа (Th1, Th2, Th17) являются ключевыми клетками, влияющими на течение заболевания путём синтеза провоспалительных цитокинов, усиления экспрессии хемокиновых рецепторов и продукции хемокинов [65].

Повреждение головного мозга сопровождается высвобождением нейрональных, глиальных и эндотелиальных клеток, которые способны различными путями (через кровь, ЦСЖ, арахноидальную оболочку обонятельного нерва) попадать в лимфоузлы и быть представленными на поверхности антигенпрезентирующих клеток Т-лимфоцитам. Образующаяся популяция антиген-специфичных фолликулярных Т-хелперов (Tfh) взаимодействует с В-лимфоцитами для обеспечения необходимых контактных сигналов и создания цитокинового окружения для дальнейшей пролиферации В-лимфоцитов в плазматические клетки с последующим синтезом специфических антител к антигенам ЦНС [67, 93].

Роль образующихся субпопуляций аутореактивных Т-лимфоцитов и аутоантител до сих пор не ясна. Мнения диаметрально разделены между «защитным» аутоиммунитетом за счёт синтеза нейротропных факторов



(нейротрофин-3, фактор роста нервов, нейротрофин), необходимых для активации нейрогенеза, нейропластичности, ангиогенеза, глиогенеза и синаптогенеза, и аутореактивностью, ведущей к нейродегенерации [17, 61, 88].

Еще одним свойством Т-лимфоцитов является их способность стимулировать выживание нейронов, влияя на фенотип миелоидных клеток в месте повреждения, обеспечивая поляризацию в М2-клетки через продукцию IL-4 и IL-13. В дальнейшем эти М2-клетки способны активировать нейропротекцию посредством продукции нейропротекторных молекул, таких как трансформирующий фактор роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF1) и IL-10 [71, 74]. С другой стороны, Т-хелперы 2 типа (Th2) играют роль в процессах обучения и памяти за счет ограничения активации менингеальных миелоидных клеток и способствуют экспрессии нейротрофического фактора [135, 167], а Т-хелперы 1 типа (Th1) влияют на когнитивные способности за счет продукции IFN $\gamma$ , который через ряд сигнальных путей увеличивает ГАМК-ергические сигналы в нейронах [75, 101]. Разнонаправленные эффекты клеток адаптивного иммунитета обусловлены факторами, включающими гетерогенность субпопуляций Т- и В-лимфоцитов и специфичность антигена [112].

В литературе последних лет описана неоднородность субпопуляций Т-хелперов 17 типа в силу их высокой пластичности. В работах разных исследователей приводятся данные о «неклассических» или «пластичных» субпопуляциях Th17 – Th1/Th17 или Th17.1, которые обладают характеристиками Т-хелперов 1 и 17 типа и рассматриваются в качестве «патогенной» популяции за счёт продукции CCL2, CCL4, CCL5, IL-22, тем самым способствуя поддержанию нейровоспаления [157, 159]. Также описана субпопуляция дважды-негативных Т-хелперов (DN Th17), обладающая повышенной экспрессией TNF $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-17A, IL17F, MIP-3 $\alpha$ /CCL20, и дважды-позитивных Т-хелперов (DP Th17). Данные субпопуляции различаются по спектру экспрессирующих рецепторов и продукции цитокинов, поэтому требуется детальное изучение их вклада в развитие и поддержание нейровоспаления после ЧМТ [69, 158].

### 1.3.3 – Цитокины / хемокины в иммунопатогенезе черепно-мозговой травмы

При развитии воспалительной реакции повреждение аксонов происходит за счёт прямого цитотоксического межклеточного взаимодействия или за счёт синтеза провоспалительных цитокинов и хемокинов. Уже на ранних стадиях развития в ответ на травму клетками микроглии синтезируются IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-12, IL-18, которые в дальнейшем могут индуцировать синтез астроцитами GM-CSF и CCL2, дополнительно стимулирующих активацию микроглии и блокирующих процессы ремиелинизации [1, 70, 154, 164].

Повышенный уровень многих цитокинов отмечен в плазме крови и в ЦСЖ, однако клинические результаты их определения часто противоречивы [124, 143]. Показано, что после ЧМТ высокие концентрации IL-6 в цереброспинальной жидкости демонстрируют прямую корреляцию со степенью тяжести и исходом заболевания [174]. IL-6 совместно с TGF $\beta$  стимулирует созревание Th17 клонов Т-лимфоцитов и подавляет дифференцировку Treg, тем самым усугубляя течение заболевания [61, 102].

IL-1 $\alpha$  относится к семейству IL-1, провоспалительным цитокинам, синтезируемым помимо клеток микроглии, активированными Т-хелперами. Повышенный уровень IL-1 $\alpha$  связан с увеличенным риском развития посттравматической эпилепсии, нейродегенеративных заболеваний и ухудшением исходов заболевания, что обусловлено развитием и дальнейшим поддержанием вазогенного и цитотоксического отёка мозга [136]. По данным некоторых исследователей, применение IL-1 RA у пациентов с ушибом головного мозга тяжёлой степени тяжести способствовало более благоприятному клиническому исходу по сравнению с пациентами группы плацебо. Данные результаты дают возможность для создания новой терапевтической точки [143].

Другим ключевым цитокином в развитии нейровоспаления является IL-18 (семейство IL-1), участвующий в индукции синтеза IFN- $\gamma$ . Экспериментальные результаты показали, что введение растворимого ингибитора IL-18-связывающего белка (IL-18BP) мышам с закрытой ЧМТ улучшало исход заболевания [101].

Важным также является изучение растворимого CD40L (sCD40L), цитокина семейства фактора некроза опухоли, обладающего прокоагулянтным и провоспалительным эффектом [66]. Высокая концентрация sCD40L в ЦСЖ выявлена у пациентов с летальным исходом [128, 130]. Тем самым открывается возможность использования таргетной терапии для улучшения исходов заболевания.

По данным исследований последних лет считается, что ЦНС больше не является иммунологически привилегированным органом, даже в здоровом организме Т-лимфоциты в незначительном количестве проникают через ГЭБ [96]. На начальных этапах после травмы головы происходит не только активация микроглии, но и образование пула субпопуляций Т-клеток, способных к синтезу ряда хемокинов, таких как CCL4/MIP-1 $\beta$ , CXCL1/GRO CXCL9/MIG CXCL10/IP-10, которые обнаруживаются в ЦСЖ пациентов с ЧМТ, указывая на их роль в поддержании патологического процесса [64, 108, 128].

CXCL1/GRO (*от англ. C-X-C motif chemokine ligand 1*) является хемоаттрактантом для Т-лимфоцитов, моноцитов и нейтрофилов. После связывания с его рецептором CXCR2 индуцируется сборка инфламмасом (NLRP3). CXCL9/MIG (*от англ. monokine induced by gamma-interferon*), CXCL10/IP-10 (*от англ. interferon-inducible 10 kDa protein*), и CXCL11/I-TAC (*от англ. inducible T cell- $\alpha$  chemoattractant*) относятся IFN- $\gamma$ -зависимым хемокинам [148, 161, 174]. Подтверждена их важная роль в поддержании нейровоспаления путём привлечения в очаг повреждения CXCR3-экспрессирующих Т-лимфоцитов, за счет чего усугубляется повреждение нервной ткани, подтверждаемое прямой корреляцией их содержания с исходами ЧМТ [168].

Таким образом, в настоящее время не вызывает сомнения роль различных цитокинов и хемокинов в развитии и поддержании нейровоспаления. С одной стороны, они активируют микроглию и обеспечивают хоуминг Т-лимфоцитов в очаг повреждения, с другой, нарушают барьерную функцию ГЭБ, поддерживают нейровоспаление, способствуя ухудшению клинических исходов заболевания. Однако необходимо более детальное исследование патогенетических механизмов,

их сопоставление с клиническим течением заболевания в зависимости от степени тяжести [35, 138, 157].

## ГЛАВА 2 – МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Все исследования выполнены в соответствии с требованиями Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных и медицинских исследований с участием человека» (с поправками 2008 г.) и нормативными документами «Правила клинической практики в Российской Федерации» (утверждённые Приказом Минздрава РФ № 226 от 19.06.2003 г.) и «Правила надлежащей клинической практики в Российской Федерации» (утверждённые Приказом Минздрава РФ №200н от 01.04.2016 г.). От всех пациентов получено добровольное информированное согласие перед включением в исследование.

### 2.1 – Характеристика обследованных пациентов

Нами было обследовано 152 пациента, поступивших по экстренным показаниям в нейрохирургическое отделение № 1 Санкт-Петербургского государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская больница № 26» с установленным фактом травмы головы, однако 42 пациента были исключены из исследования, так как не соответствовали критериям включения. В основную группу вошли 110 пациентов с ЧМТ различной степени тяжести в возрасте от 20 до 55 лет, из них женщины – 59 человек, мужчины – 51 человек.

Согласно международной классификации, все пациенты были разделены на 4 группы [27]: 1 группа – пациенты с сотрясением головного мозга (СТГ); 2 группа – с ушибом головного мозга лёгкой степени тяжести (УЛС); 3 группа – с ушибом головного мозга средней степени тяжести (УСС); 4 группа – с ушибом тяжелой степени тяжести (УТС). 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), которые были донорами отделения

переливания крови Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени акад. И.П. Павлова.

В день исследования дополнительно проводился осмотр с целью исключения острого воспалительного процесса.

Формирование основных групп для проведения исследования проводилось 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. Поступление 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 медицинской 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.

Общая характеристика обследованных групп пациентов представлена в *таблице 1*. Общий дизайн исследования представлен на *рисунке 2*.

**Таблица 1 – Общая характеристика групп пациентов**

Признак	Основная группа				Группа 5 (Контрольная группа)
	Группа 1 (СТГ)	Группа 2 (УЛС)	Группа 3 (УСС)	Группа 4 (УТС)	
Количество обследованных в группе	25 (22,9%)	30 (27,2%)	31 (28,1%)	24 (21,8%)	48 (100%)
Пол	Соотношение по полу, n (%)				
мужской	12 (48%)	16 (53,4%)	14 (45,1%)	15 (62,5%)	22 (46%)
женский	13 (52%)	14 (46,6%)	17 (54,9%)	9 (37,5%)	26 (54%)
	Количество лет (M±SD)				
Средний возраст	32,0±2,3	48,0±3,3	51,0±1,8	46,0±2,5	42,3±11,3

*Примечание:* СТГ – сотрясение головного мозга, УЛС – ушиб лёгкой степени тяжести, УСС – ушиб средней степени тяжести, УТС – ушиб тяжелой степени тяжести.



**Рисунок 2 – Общий дизайн исследования**

## **2.2 – Методы обследования пациентов**

### **2.2.1 – Клинико-неврологическое обследование**

В 1-е сутки от момента поступления всем пациентам проводилось комплексное клиническое и неврологическое обследование по стандартной методике [29, 46] с оценкой тяжести состояния по шкале комы Глазго (ШКГ) [169] (*Приложение 1*).

Особое внимание уделялось сбору жалоб и анамнеза (с детальной оценкой жалоб «когнитивного характера», таких как снижение концентрации и устойчивости внимания, нарушение памяти, снижение умственной работоспособности). Неврологическое обследование включало оценку уровня сознания, функций черепно-мозговых нервов, наличия нарушения двигательной сферы (парезов / параличей, состояние мышечного тонуса, а также рефлексов). Кроме того, проверялось состояние поверхностной и глубокой чувствительности, координация движений, состояние функций тазовых органов, менингеальные симптомы. Для уточнения наличия структурных повреждений, а также исключения объёмных образований, острых нарушений мозгового кровообращения выполнялась мультиспиральная КТ головного мозга (SIEMENS SOMATOM Definition).

### **2.2.2 – Методы оценки когнитивных функций**

Оценка высших корковых функций проводилась с использованием комплексного нейропсихологического обследования, включающего методики для оценки различных составляющих, таких как мышление, внимание, память, зрительно-пространственные функции, праксис, гнозис, речь [28]. Применяемый нами комплекс включал следующие тесты:

- краткая шкала оценки психического статуса (КШОПС, от англ. «Mini-Mental State Examination», MMSE): норма 28–30 баллов, 24–27 баллов – умеренные когнитивные нарушения (УКН), 20–23 – легкая деменция, 11–19 – умеренная деменция, менее 10 баллов – тяжелая деменция [122, 123] (*Приложение 2*);



- батарея лобных тестов (англ. «Frontal Assessment Battery» – FAB): 18 баллов – максимальное количество баллов, норма 17–18 баллов [160] (*Приложение 3*);
- монреальская шкала оценки когнитивных функций (от англ. Montreal Cognitive Assessment, MoCA): норма:  $\geq 26$  баллов [127] (*Приложение 4*);
- тест на ориентацию и амнезию Гальвестона: балл  $> 78$  свидетельствует об окончании посттравматической амнезии [111];
- тест 10 слов: для оценки кратковременной и отсроченной памяти, способности к обучению и истощаемости психических процессов [21, 128];
- тест рисования часов: 10 баллов – максимальное количество баллов; оценка зрительно-пространственной организации и регуляторных функций [28, 31];
- тест когнитивных функций медицинского центра Ранхо Лос Амигос: наименьшее и наибольшее значение – 1 и 10 баллов соответственно [89];

Необходимо отметить, что полное нейропсихологическое обследование, включавшее все отображённые тесты, было выполнено только у пациентов с сотрясением и ушибом головного мозга легкой степени тяжести. Такой диагностический подход был не применим к пострадавшим с ушибом головного мозга средней и тяжелой степеней тяжести на фоне изменения их общего состояния, и оценка состояния когнитивной сферы была проведена только с помощью теста на ориентацию и амнезию Гальвестона и теста когнитивных функций медицинского центра Ранхо Лос Амигос.

### **2.2.3 – Методы оценки клинических исходов заболевания**

Исходы заболевания оценивались с использованием расширенной шкалы исходов Глазго (GOSE) (*Приложение 7*) и модифицированной шкалы Рэнкина (mRS) (*Приложение 8*).

Использование указанных выше шкал способствовало стандартизации полученных в ходе исследования результатов.

Расширенная шкала исходов Глазго (Glasgow Outcome Scale Extended, GOSE) учитывает остаточные психоневрологические нарушения и социальную

активность пациентов, а модифицированная шкала Рэнкина позволяет оценить уровень независимости и трудоспособности пациентов.

Под неблагоприятным исходом мы понимали как смертельный исход, так и глубокую инвалидизацию, сопровождающуюся грубым нарушением функциональной активности, требующей помощи посторонних лиц.

#### **2.2.4 – Методы лабораторной диагностики**

Материалом для иммунологического исследования служили периферическая кровь и ЦСЖ.

Материалом для ПЦР-диагностики герпетической инфекции и микробиологического исследования служила только ЦСЖ.

Периферическую кровь для иммунологического исследования получали при венопункции в объеме 5 мл. Кровь собирали в сухую пробирку. В дальнейшем пробу центрифугировали при 1500 оборотов/мин в течение 10 минут. После чего переносили в несколько пластиковых стерильных пробирок однократного применения, замораживали при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  и сохраняли до проведения иммунологического исследования.

#### **2.2.5 – Получение цереброспинальной жидкости**

Все пациенты были проинформированы об участии в исследовании и о потенциальных рисках при выполнении пункции. Всего выполнено 110 люмбальных пункций в рамках стандартов и порядков оказания медицинской помощи пациентам с ЧМТ. Исследование выполнялось в асептических условиях процедурного кабинета Санкт-Петербургского государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская больница № 26». Процедура проводилась у пациентов в положении лежа на левом боку с максимально согнутыми и приведенными к груди ногами и приведенной к туловищу головой. После обработки кожи 70 % раствором спирта выполнялась местная анестезия раствором 1 % лидокаина в количестве 2,0-6,0 мл, после чего проводился прокол пункционной иглой в промежутке между остистыми отростками III-IV (реже – II-III) поясничных позвонков. Использовались только одноразовые стерильные иглы (диаметром G20,

длиной 88 мм). После проникновения в субарахноидальное пространство получали цереброспинальную жидкость, вытекающую под давлением 80-180 мм вод. ст. Для лабораторных исследований производился забор 3-6 мл ЦСЖ. После чего извлекалась игла и накладывалась асептическая повязка. В ходе проведения исследования у пациентов, подвергнутых процедуре люмбальной пункции, осложнений не выявлено [27].

#### **2.2.6 – Микробиологическое исследование цереброспинальной жидкости**

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), которая была предварительно вынута из холодильника, и далее хранили при 37°C в условиях термостата до доставки в лабораторию стационара. Исследование проводилось унифицированными методами согласно приказу Минздрава России № 535 от 22.04.1985. «Об унификации микробиологических методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».

#### **2.2.7 – Молекулярно-биологические исследования**

Для оценки риска развития воспалительных осложнений, включающих реактивацию латентной герпетической инфекции, пациентам выполнялось исследование цереброспинальной жидкости методом ПЦР с помощью реагентов «АмплиСенс». Принцип тестирования основывается на экстракции ДНК из образцов исследуемого материала совместно с экзогенным внутренним контрольным образцом (ВКО) и одновременной амплификации участков ДНК выявляемого микроорганизма. При экстракции ДНК из биологического материала, содержащего клетки (в данном случае из ЦСЖ), происходит амплификация участка ДНК β-глобинового гена человека (эндогенного внутреннего контроля). Амплификация участков ДНК проводится при помощи специфичных к этим участкам праймеров и фермента Taq-полимеразы. В составе реакционной смеси присутствуют флуоресцентно-меченые олигонуклеотиды, комплементарные участкам амплифицируемых ДНК-мишеней, что позволяет регистрировать

накопление специфического продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала с помощью амплификатора с системой детекции в режиме «реального времени». Результаты были представлены в виде качественных показателей.

### **2.2.8 – Определение концентрации белков**

Всем пациентам с ушибом головного мозга различной степени тяжести проводилась оценка концентрации основного белка миелина (ОБМ) в ЦСЖ методом иммуноферментного анализа (ИФА) в лаборатории аутоиммунных заболеваний.

Также всем пациентам, независимо от степени тяжести, проводили определение содержания альбумина в биологических жидкостях (сыворотке крови и ЦСЖ) колориметрическим методом с бромкрезоловым зеленым («Bio Test», Германия) на биохимическом фотометре Stat fax 1904 Plus (Фирма «Awareness Technolody INC»).

### **2.2.9 – Определение состояния проницаемости гематоэнцефалического барьера**

Для оценки функционального состояния гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) использовали показатели концентрации альбумина, так как он является белком крови, не синтезируемым интратекально и обладающим существенной молекулярной массой, поэтому может рассматриваться «маркером» нарушения проницаемости барьера [23]. В дальнейшем для эффективной оценки проницаемости ГЭБ и интерпретации полученных результатов определяли следующие интегральные показатели.

коэффициенты для альбумина Q(Alb):

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

где Alb ЦСЖ – концентрация альбумина в цереброспинальной жидкости;

Alb сыв. крови – концентрация альбумина в сыворотке крови.

Повышенные значения Q(Alb) указывают на повышенную проницаемость и нарушение защитной функции ГЭБ.

## **2.3 – Методы иммунологических исследований**

Оценка субпопуляционного состава лимфоцитов в цельной крови проводилась методом проточной цитофлуориметрии с использованием диагностического прибора 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).

Содержание цитокинов в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) проводилось методом мультплексного анализа. Были использованы коммерческие тест-системы «Milliplex MAP» («Millipore», США) с применением магнитных микросфер «Milliplex Mag», США, согласно инструкциям фирмы-производителя. Измерение и анализ данных проводили на приборе «Luminex MAGPIX» («Luminex», США).

### **2.3.1 – Определение основных субпопуляций Т-лимфоцитов и регуляторных Т-лимфоцитов в периферической крови**

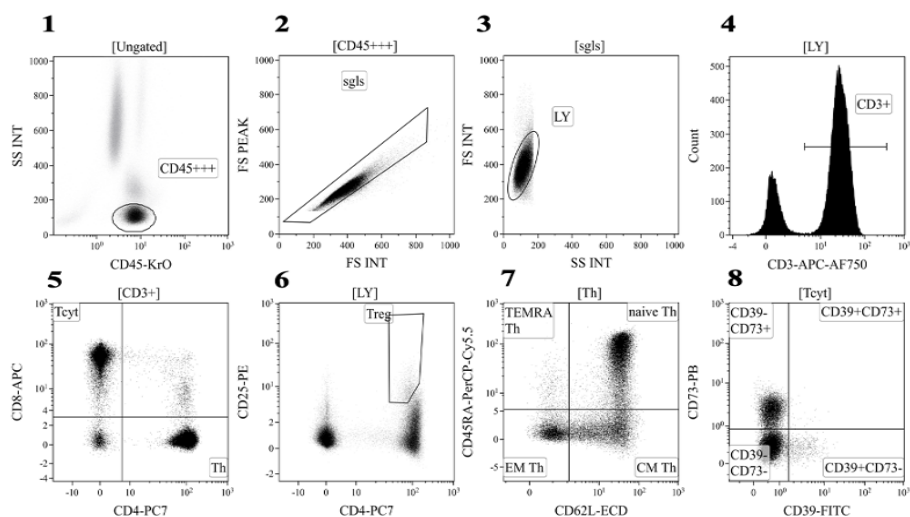
Учитывая многообразие клеток иммунной системы, их идентификация и оценка активности является первоочередным этапом при определении функции иммунитета. Метод основан на определении поверхностных дифференцированных антигенов (АГ) на клетках иммунной системы с помощью моноклональных антител (АТ). Суть метода заключается в связывании дифференцированных АГ лимфоцитов с моноклональными АТ и дальнейшим окрашиванием антиглобулиновыми АТ с измерением меченых клеток с помощью проточной цитофлуориметрии. Результаты содержания лимфоцитов представлены в виде относительного (% – процента содержания от общего числа лимфоцитов или исследуемой популяции лимфоцитов) и абсолютного числа лимфоцитов (кл/мкл, количество клеток в 1 мкл периферической крови). Для выявления основных субпопуляций Т-лимфоцитов и оценки уровня экспрессии ими CD39 и CD73 применялась панель моноклональных антител, список и основные характеристики которых приведены в *таблице 2*. К образцам периферической крови пациентов (100 мкл) вносили АТ из приведенного перечня (*таблица 2*) в соответствии с

рекомендациями производителя, после чего инкубировали 15 мин при комнатной температуре в защищенном от света месте. Удаление эритроцитов из образцов проводили по безотмывочной технологии с использованием лизирующего раствора VersaLyse, к 975 мкл которого *ex tempore* добавляли 25 мкл фиксирующего раствора IOtest 3 Fixative Solution.

**Таблица 2 – Набор моноклональных антител, применявшихся для анализа уровня дифференцировки Т-лимфоцитов и регуляторных Т-лимфоцитов периферической крови и анализа экспрессии ими экзонуклеаз CD39 и CD73**

№	Антиген	Флуорохром	Клон	Кат. №	Фирма-производитель
1.	CD39	FITC	A1	328206	BioLegend, Inc., USA
2.	CD25	PE	B1.49.9	A07774	Beckman Coulter, USA
3.	CD62L	ECD	DREG56	IM2713U	Beckman Coulter, USA
4.	CD45RA	PerCP/Cy5.5	HI100	304122	BioLegend, Inc., USA
5.	CD4	PC7	T4	737660	Beckman Coulter, USA
6.	CD8	APC	B9.11	A94680	Beckman Coulter, USA
7.	CD3	APC/Cy7	OKT3	317342	BioLegend, Inc., USA
8.	CD73	RacBlue	AD2	344012	BioLegend, Inc., USA
9.	CD45	KrO	J33	A96416	Beckman Coulter, USA

После разрушения эритроцитов образцы однократно отмывали избытком физиологического раствора при 330g в течение 7 минут, затем клеточный осадок ресуспендировали в физиологическом растворе с pH 7,2-7,4, содержащем 2 % параформальдегида (Sigma-Aldrich, США). Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре Navios™ (Beckman Coulter, США), оснащенном тремя диодными лазерами 405, 488 и 638 нм. В каждом образце анализировалось не менее 40000 CD3+ Т-лимфоцитов периферической крови. Для выявления основных популяций Т-лимфоцитов периферической крови применяли алгоритм (тактику «гейтирования») [42], который приведен на рисунке 3.



Гистограмма 1 – выделение популяции лимфоцитов периферической крови на основании экспрессии CD45 и «бокового светорассеяния», характеризующего сложность организации цитоплазмы клеток

Гистограмма 2 – удаление слившихся лимфоцитов из зоны анализа на основании пикового и интегрального сигналов прямого светорассеяния.

Гистограмма 3 – выявление популяции лимфоцитов на основании морфологических критериев (прямого и бокового светорассеяния, характеризующих относительные размер и структуру клеток).

Гистограмма 4 – выявление Т-лимфоцитов на основании экспрессии CD3 (в области «CD3+» располагаются Т-лимфоциты периферической крови, которые используются для дальнейшего анализа).

Гистограмма 5 – субпопуляционный анализ Т-лимфоцитов на основании экспрессии CD4 и CD8- в области «Th» располагаются Т-хелперы с фенотипом CD3+CD4+, а в области «Tcyt» – цитотоксические Т-лимфоциты с фенотипом CD3+CD8+.

Гистограмма 6 – на основании яркой экспрессии поверхностного CD25 и наличия на поверхности клеток CD4 выделяли регуляторные Т-клетки (Treg), фенотип которых можно было описать как CD4+CD25bright.

Гистограмма 7 – разделение регуляторных Т-лимфоцитов на основные субпопуляции по экспрессии CD45RA и CD62L.

Гистограмма 8 – каждую из выявленных субпопуляций Т-клеток анализировали при помощи двухпараметрических гистограмм по уровням CD39 и CD73

### Рисунок 3 – «Тактика гейтирования», применявшаяся для анализа основных субпопуляций Т-лимфоцитов и регуляторных Т-лимфоцитов периферической крови и анализа экспрессии ими экзонуклеаз CD39 и CD73

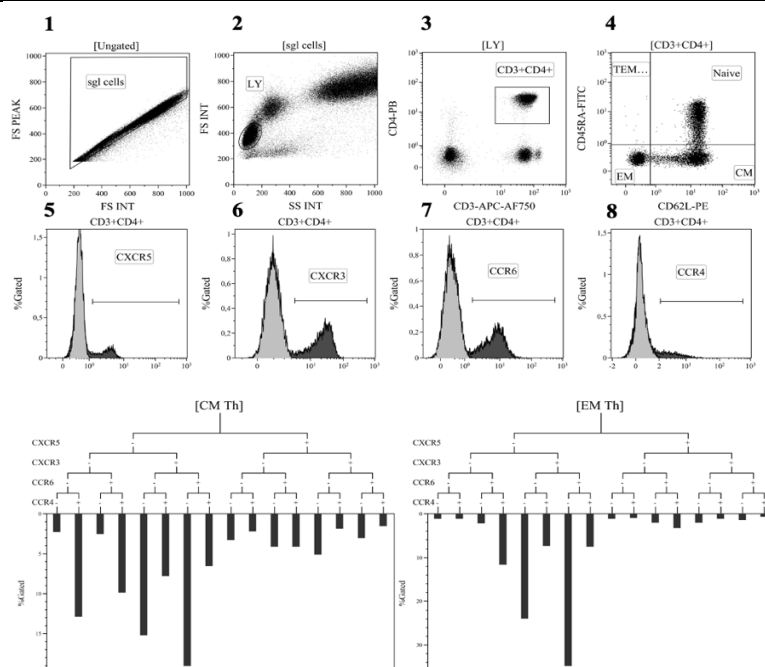
#### 2.3.2 – Анализ основных субпопуляций «поляризованных» Т-хелперов в периферической крови

Для выявления основных субпопуляций «поляризованных» Т-хелперов периферической крови применяли набор моноклональных антител (таблица 3). Антитела против CD3 и CD4 использовали для выявления общего пула CD3+CD4+ лимфоцитов. Затем выделяли субпопуляции «наивных» (n) Т-хелперов с фенотипом CD45RA+CD62L+. Th с фенотипами CD45RA–CD62L+ и CD45RA–CD62L соответствовали Т-хелперам центральной (CM) и эффекторной (EM) памяти, а «терминально-дифференцированные» CD45RA-позитивные эффекторные Т-хелперы (TEMRA) определялись как CD45RA+CD62- [22].

Для выявления основных субпопуляций «поляризованных» Th клеток анализировали особенности коэкспрессии хемокиновых рецепторов CCR4, CCR6, CXCR3 и CXCR5 при помощи иерархических дендрограмм (рисунок 4) [47].

**Таблица 3 – Набор моноклональных антител, применявшихся для анализа основных субпопуляций Т-хелперов периферической крови**

№	Антиген	Флуорохром	Клон	Кат. №	Фирма-производитель
1.	CD45RA	FITC	2H4	A07786	Beckman Coulter, USA
2.	CD62L	PE	DREG56	IM2214U	Beckman Coulter, USA
3.	CXCR5 (CD185)	PerCP/Cy5.5	J252D4	356910	BioLegend, Inc., USA
4.	CCR6 (CD196)	PC7	G034E3	353418	BioLegend, Inc., USA
5.	CXCR3 (CD183)	APC	G025H7	353712	BioLegend, Inc., USA
6.	CD3	APC/Cy7	OKT3	317342	BioLegend, Inc., USA
7.	CD4	РacBlue	OKT4	317429	BioLegend, Inc., USA
8.	CCR4 (CD194)	BV 510	L291H4	359416	BioLegend, Inc., USA



**Рисунок 4 – «Тактика гейтирования», применявшаяся для анализа основных субпопуляций «поляризованных» Т-хелперов периферической крови**

Главным маркером популяции Th2 клеток является CCR4, а CCR6 рассматривается как ключевой поверхностный антиген Th17, CXCR3 позволяет выявить Th1, тогда как CXCR5 специфически экспрессируется на фолликулярных Th (Tfh) клетках. Дальнейшие этапы подготовки проводились по методике, описанной в разделе 2.3.1.



Представленная на рисунке 4 «тактика гейтирования» заключается в следующем. Гистограмма 1 показывает удаление слипшихся клеток из зоны анализа на основании пикового и интегрального сигналов прямого светорассеяния. Гистограмма 2 демонстрирует выявление популяции лимфоцитов на основании морфологических критериев (прямого и бокового светорассеяния, характеризующих относительные размер и структуру клеток); область «LY» содержит лимфоциты. Гистограмма 3 отражает анализ экспрессии CD3 и CD4, выделение Т-хелперов (с фенотипом CD3+CD4+, область «CD3+CD4+») в рамках общего пула лимфоцитов периферической крови. Гистограмма 4 отражает анализ распределения Т-хелперов периферической крови на отдельные субпопуляции по экспрессии CD45RA и CD62L («naive» – «наивные» CD45RA+CD62L+ Т-хелперы; «CM» – Т-хелперы центральной памяти с фенотипом CD45RA–CD62L+; «EM» – Т-хелперы эффекторной памяти с фенотипом CD45RA–CD62L–; «TEMRA» – «терминально-дифференцированные» CD45RA-позитивные эффекторные Т-хелперы с фенотипом CD45RA+CD62L–). Гистограммы 5–8 являются вспомогательными гистограммами, при помощи которых в рамках общего пула Т-хелперов выявляются клетки, экспрессирующие CXCR5, CXCR3, CCR6 и CCR4, соответственно. Данные гистограммы применялись для построения приведенных ниже иерархических дендрограмм. Гистограммы 9 и 10 показывают примеры иерархических дендрограмм, применявшихся для анализа коэкспрессии хемокиновых рецепторов (выделения основных субпопуляций «поляризованных» Т-хелперов) Т-хелперами центральной и эффекторной памяти.

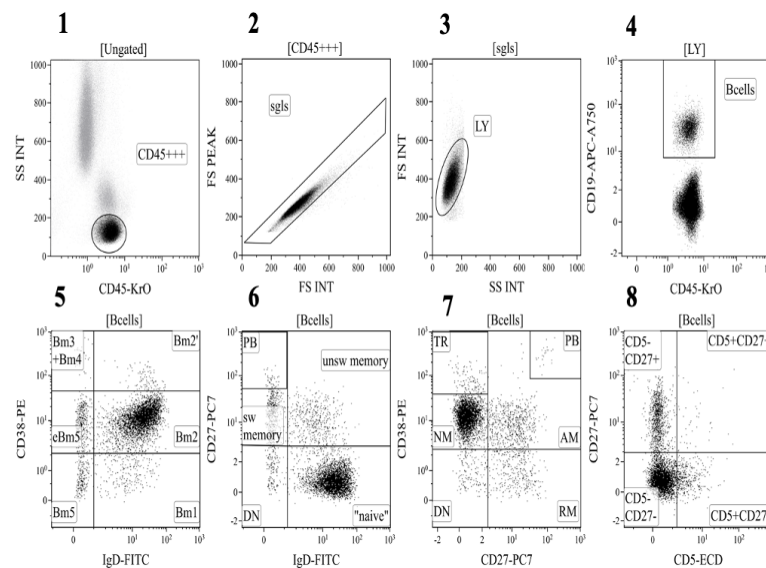
### **2.3.3 – Анализ основных субпопуляций В-лимфоцитов в периферической крови**

Для выявления популяции В-лимфоцитов периферической крови использовали антитела против CD45 и CD19, тогда как для разделения общего пула В-лимфоцитов на отдельные субпопуляции использовали антитела против поверхностного IgD, CD38, CD27 и CD5. Общая характеристика антител, применявшихся для анализа циркулирующих в крови В-лимфоцитов, приведена в *таблице 4*. При подготовке образцов к цитометрическому учету 100 мкл цельной

крови окрашивали смесью указанных выше антител в соответствии с рекомендациями производителей. Удаление эритроцитов и дальнейшая подготовка образцов проводилась по методике, описанной в разделе 2.3.1. В каждом образце анализировалось не менее 5000 CD19+ В-лимфоцитов периферической крови. «Тактика гейтирования» выявления основных субпопуляций В-лимфоцитов была описана ранее [2, 44], а также приведена на *рисунке 5*.

**Таблица 4 – Набор моноклональных антител, применявшихся для анализа основных субпопуляций В-лимфоцитов периферической крови**

№	Антиген	Флуорохром	Клон	Кат. №	Фирма-производитель
1.	IgD	AF488	IA6-2	348216	BioLegend, Inc., USA
2.	CD38	PE	LS198-4-3	A07779	Beckman Coulter, USA
3.	CD5	ECD	BL1a	A33096	Beckman Coulter, USA
4.	CD27	PC7	1A4CD27	B49205	Beckman Coulter, USA
5.	CD19	APC/Cy7	H1B19	302218	BioLegend, Inc., USA
6.	CD45	KrO	J33	A96416	Beckman Coulter, USA



**Рисунок 5 – «Тактика гейтирования», применявшаяся при исследовании основных субпопуляций В-лимфоцитов периферической крови**

### 2.3.4 – Определение концентрации цитокинов

Проводился анализ концентраций следующих цитокинов и хемокинов (пг/мл) в ЦСЖ пациентов с ЧМТ различной степени тяжести:

1. Интерлейкины и провоспалительные цитокины: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , 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- $\alpha$ 2, IFN- $\gamma$ , TNF $\alpha$ , TNF $\beta$ /Lymphotoxin- $\alpha$ (LTA).

2. Противовоспалительные цитокины: IL-1RA, IL-10.

3. Ростовые факторы: EGF, FGF-2/FGF-basic, Flt3 Ligand, G-CSF, GM-CSF, PDGF-AA, PDGF-AB/BB, TGF $\alpha$ , VEGF-A.

4. Другие растворимые факторы: sCD40L.

5. Хемокины: – CC-хемокины: CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 $\alpha$ , CCL4/MIP-1 $\beta$ , CCL5/RANTES, CCL7/MCP-3, CCL11/Eotaxin, CCL17/TARC, CCL20/MIP-3 $\alpha$ , CCL22/MDC; – CXС-хемокины: CXCL1/GRO, CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CXCL11/I-TAC, CXCL13/BCA-1; – CX3С-хемокины: CX3CL1/Fractalkine.

Последовательность определения уровня цитокинов в ЦСЖ представлена в *приложении 7*.

#### **2.4 – Методы статистической обработки полученных результатов**

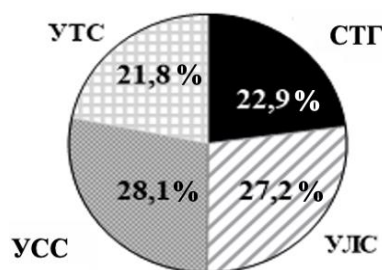
Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакетов программ Statistica 8.0 (StatSoft, США) и GraphPad Prism 5.00 for Windows (GraphPad Prism Software Inc., США). Использовали стандартные непараметрические методы статистической обработки полученных данных. Количественные данные приводили в виде медианы (Me) и интерквартильного диапазона ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ ). Для сравнения парных количественных значений полученных выборок использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Статистически достоверными различия показателей в группах рассматривались при  $p < 0,05$ . Для выявления корреляционных связей между двумя количественными параметрами использовали непараметрический метод ранговой корреляции по Спирмену с вычислением коэффициента ранговой корреляции. Для определения информативности выявляемого показателя, сравнения двух различных параметров и выбора значения оптимальной точки (критерия) разделения проводили анализ кривых операционной характеристики (receiver- operating-characteristic curve-ROC) и вычисляли площади под характеристической кривой операционной

характеристики (ППК). Экспертная шкала значений ППК диагностических показателей отображает качество диагностической модели. При интервале ППК 0,9-1,0 отмечается отличное, при 0,8-0,9 – очень хорошее, при 0,7- 0,8 – хорошее, при 0,6-0,7 – среднее, при 0,5-0,6 – неудовлетворительное качество модели.

### **ГЛАВА 3 – РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИКО-НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО, НЕЙРОПСИХОЛОГИЧЕСКОГО И ИНСТРУМЕНТАЛЬНОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ**

#### **3.1 – Результаты клинико-неврологического обследования пациентов**

Нами было обследовано 152 пациента, поступивших по экстренным показаниям в нейрохирургическое отделение № 1 Санкт-Петербургского государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская больница № 26» с установленным фактом травмы головы. По результатам исследования исключено 42 пациента (27,6 %), поступивших в стационар, которые не соответствовали критериям включения. Из них у 16 больных (10,5 %) были выявлены объёмные образования головного мозга, 10 пациентов (6,5 %) отказались от дальнейшей госпитализации и обследования, у 14 (9,2 %) диагностированы сопутствующие соматические или инфекционные заболевания, описанные в критериях исключения. Таким образом, из 152 пациентов с травмами головы, в исследование было включено 110 пострадавших, соответствующих критериям включения. Комплексная оценка жалоб, анамнеза, исследования неврологического статуса, а также данных КТ позволили установить, что среди поступивших преобладали пациенты с легкой ЧМТ (сотрясением и ушибом головного мозга легкой степени тяжести). На их общую долю приходилось 50,1 % пострадавших. У 28,1 % установлена ЧМТ средней степени тяжести, у 21,8 % – тяжелой степени тяжести. Распределение пострадавших представлено на *рисунке 6* и в *таблице 5*.



**Рисунок 6 – Распределение пациентов по нозологическим формам**

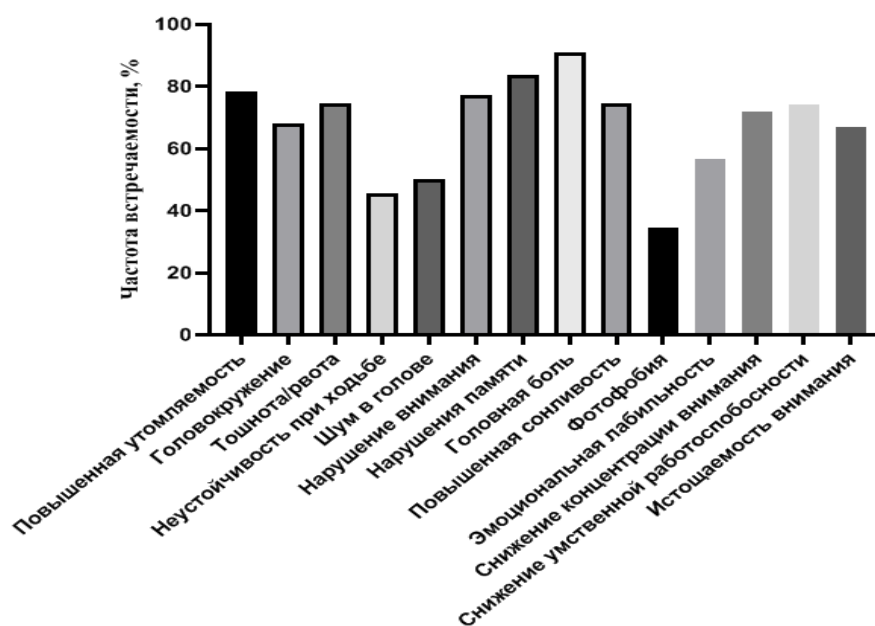
*Примечание:* СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести.

**Таблица 5 – Распределение пациентов с черепно-мозговой травмой по степени тяжести**

Степень тяжести	Абсолютное число пациентов	Относительное число пациентов (%)	Средний возраст пациентов (M±SD)
Группа 1 (СТГ)	25	22,9	32,0±2,3
Группа 2 (УЛС)	30	27,2	48,0±3,3
Группа 3 (УСС)	31	28,1	51,0±1,8
Группа 4 (УТС)	24	21,8	46,0±2,5

*Примечание:* СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести.

Проанализирована структура жалоб, отражающих полученную травму головного мозга (рисунок 7).



**Рисунок 7 – Частота встречаемости жалоб у пациентов с ЧМТ различной степени тяжести (в % от общего числа пациентов)**

Необходимо отметить, что у пациентов с ушибом средней и тяжёлой степеней тяжести анализ жалоб был затруднен из-за тяжести состояния. У пострадавших с легкой ЧМТ (сотрясением и ушибом головного мозга легкой степени тяжести) наиболее часто встречаемыми жалобами были: головная боль (85,8 % пациентов), нарушение памяти (81,9 % пациентов). На головокружение несистемного характера указывали 64,7 % пострадавших, а на повышенную утомляемость в процессе выполнения разного рода задач – 79,6 % больных. Несколько реже пациентов беспокоила неустойчивость при ходьбе – 43,2 %, фотофобия – 38,7 %.

Обнаруженная неврологическая симптоматика у больных в группах была достаточно полиморфной, что отражает различия в топической локализации очагов повреждения мозговой ткани. В 1-й группе (СТГ) у 88 % поступивших была выявлена общемозговая симптоматика, включающая в себя головную боль, однократную рвоту, повышенную сонливость, шум в ушах. Проведение неврологического осмотра у пациентов позволило установить изменение функции черепных нервов в виде ослабления реакции зрачков на свет и ухудшения аккомодации (20,0 % пациентов). Симптомы орального автоматизма определены в единичных случаях (8 % пациентов). У 68,0 % пациентов было отмечено истощение или отсутствие поверхностных брюшных рефлексов. В 40,0 % случаев были выявлены асимметрия, гипорефлексия или гиперрефлексии глубоких рефлексов. Двухсторонние патологические кистевые рефлексы (Россолимо, Вартенберга) и патологические стопные рефлексы (Бабинского) были зарегистрированы в 36,0 % и 12,0 % случаев соответственно. При этом в 1-й группе (СТГ) симптомы поражения мозжечка наблюдались в 70,8% случаев. Они проявлялись в виде наличия горизонтального нистагма, неустойчивости в позе Ромберга, шаткости, мозжечкового тремора, нечеткости выполнения координаторных проб (пальценосовой и пяточно-коленной).

Во 2-й группе (УЛС) в 86,7 % случаев была выявлена общемозговая симптоматика, включающая в себя головную боль, однократную рвоту и повышенную сонливость, утомляемость. У 23,3 % пациентов было отмечено

изменение функции черепных нервов, которое проявлялось в виде снижения реакции зрачков на аккомодацию и конвергенцию. Симптомы орального автоматизма (хоботковый рефлекс Бехтерева) обнаружены у 16,7 % пациентов. При исследовании поверхностных брюшных рефлексов установлено их изменение в 76,7 % случаев в виде анизорефлексии, вялости, быстрой истощаемости; изменение глубоких рефлексов в виде гиперрефлексии/гипорефлексии установлено в 56,7 % случаев. Патологические кистевые симптомы обнаружены в 50 % наблюдений. Наиболее часто определялся рефлекс Россолимо (78,5 % больных). Также были выявлены патологические стопные рефлекс у 16,7 % больных (симптом Бабинского, нижний симптом Россолимо). Нарушение функции мозжечка было установлено у 80,0% от общего количества осмотренных пациентов. Оно проявлялось горизонтальным нистагмом, интенционным тремором при выполнении координатных проб, нарушением выполнения пяточно-коленной и пальценосовой проб, было выявлено у 80,0 % от общего количества осмотренных пациентов. В 2,7 % случаев была выявлена менингеальная симптоматика в виде ригидности затылочных мышц и симптома Кернига.

У больных в 3-й группе (УСС) обнаружено нарушение функции черепных нервов (11,2 % пациентов), которое проявлялось диплопией и сходящимся косоглазием при взгляде вниз (признак поражения блокового нерва), а также снижением фотореакции (41,5 %), конвергенции (19,3 %) и аккомодации (12,9 %). У большей части пациентов выявлено истощение поверхностных брюшных рефлексов (86,7 %). Установлено изменение мышечного тонуса по типу диффузной мышечной гипотонии (12,0 %), в ряде случаев выявлена легкая мышечная гипертония (7,3 %). Симптомы орального автоматизма определены у 22,5 % пострадавших. Патологические кистевые рефлекс (верхний симптом Россолимо и симптом Гофмана), а также патологические стопные рефлекс (рефлекс Бабинского) обнаружены у 74,9 % и 38,7 % пациентов соответственно. Чувствительных нарушений выявлено не было. У 83,3 % выявлена стволовая симптоматика, включающая в себя умеренно выраженные спонтанный нистагм и парез взора вверх, незначительно выраженную анизокорию. Менингеальные



симптомы были выявлены у 77,4 % пациентов в виде ригидности затылочных мышц и симптома Кернига.

У пациентов 4-й группы (УТС), в связи с тяжестью состояния, провести полную оценку неврологического статуса не всегда представлялось возможным. В то же время при обследовании ослабление фотореакции и конвергенции глазных яблок удалось установить у 37,5 %, а в единичных случаях (5 %) были определены признаки поражения лицевого (признаки прозопареза) и блокового нерва (сходящееся косоглазие и диплопия при взгляде вниз). Среди симптомов орального автоматизма наиболее часто обнаруживался рефлекс Маринеску-Радовичи и хоботковый рефлекс Бехтерева (87 %). Изменение мышечного тонуса наблюдалось у 37,5 % пациентов (в 25,0 % отмечалось повышение тонуса по пирамидному типу, в 12,5 % – снижение). Патологические кистевые симптомы обнаружены в 83,4 % (рефлексы Гофмана, Россолимо, Вартенберга, Жуковского и Бехтерева), патологические стопные знаки – в 70,8 % (определялся рефлекс Бабинского, симптом Россолимо, Оппенгейма). Признаки поражения экстрапирамидной системы наблюдались в единичных случаях и обнаружены у 8,3% пациентов. У 83,4% пострадавших определялась клиника поражения мозжечка в виде неустойчивости в позе Ромберга, нистагм, мозжечковый тремор и трудности выполнения пальценосовой пробы. Менингеальные (оболочечные) симптомы проявлялись ригидностью затылочных мышц и симптомом Кернига (87,5 %). Стволовая симптоматика установлена у 91,7% пациентов и проявлялась плавающими движениями глазных яблок, парезом взора вверх и отсутствием окулоцефалического рефлекса, анизокорией.

Основные неврологические симптомы, выявленные у пациентов, представлены в *таблице 6*.

**Таблица 6 – Частота выявления основных неврологических симптомов у пациентов с травмой головы различной степени тяжести**

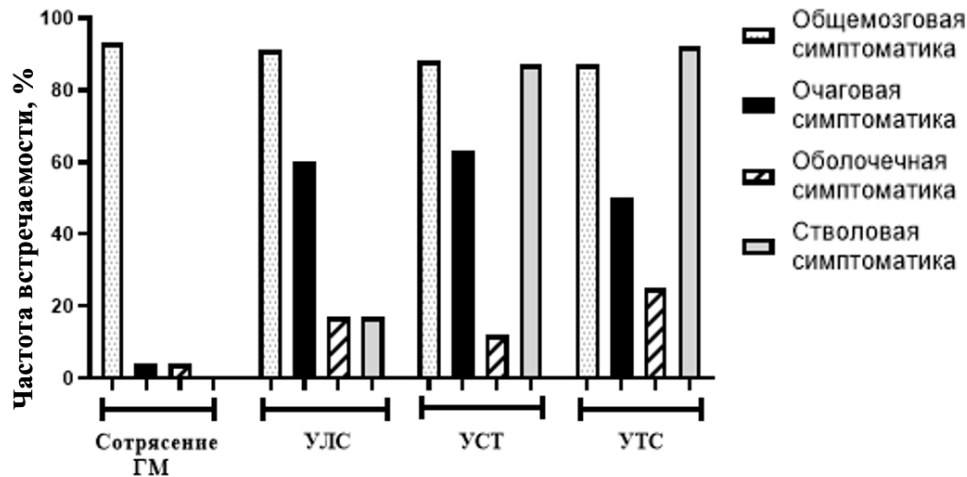
Симптом	Группа 1 (СТГ)		Группа 2 (УЛС)		Группа 3 (УСС)		Группа 4 (УТС)	
	n=25		n=30		n=31		n=24	
	Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%
Изменение поверхностных брюшных рефлексов	17	68,0	23	76,7	26	86,7	20	83,4
Изменения глубоких рефлексов	10	40,0	17	56,7	22	71	16	66,7
Изменение тонуса	2	8,0	6	20,0	6	19,3	9	37,5
Симптомы орального автоматизма	2	8,0	5	16,7	7	22,5	9	37,5
Наличие патологических кистевых рефлексов	9	36,0	15	50,0	23	74,9	20	83,4
Наличие патологических стопных рефлексов	3	12,0	5	16,7	12	38,7	17	70,8
Нарушение иннервации черепных нервов	5	20,0	7	23,3	10	32,3	9	37,5
Симптомы поражения мозжечка	17	70,8	24	80,0	25	80,6	20	83,4
Общемозговая симптоматика	22	88,0	26	86,7	27	87,0	20	83,4
Стволовая симптоматика	-	-	-	-	25	83,3	22	91,7
Менингеальная симптоматика	-	-	3	10,0	24	77,4	21	87,5

*Примечание:* СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести.

Таким образом, проведенное клинико-неврологическое обследование позволило установить, что у пациентов, перенесших легкую ЧМТ, преобладали мозжечковые нарушения. Поражения других отделов головного мозга встречались реже и были выражены незначительно. В то же время по мере утяжеления травмы отмечалось появление более тяжелой и разнообразной симптоматики. Так, в частности, у пациентов с ушибом головного мозга средней и тяжелой степени тяжести была обнаружена неврологическая картина с формированием хорошо очерченных синдромов очаговых нарушений, что обусловлено топической локализацией очага поражения.

Кроме того, для пациентов с сотрясением головного мозга стволовая и очаговая симптоматика были не характерны, но по мере увеличения тяжести состояния обратило на себя внимание их появление и увеличение частоты

встречаемости, что отражает более обширное повреждение головного мозга. Распределение частоты встречаемости общемозговой, очаговой, оболочечной и стволовой симптоматики в зависимости от степени тяжести пациента представлено на *рисунке 8*.



**Рисунок 8 – Частота выявления общемозговой, очаговой, оболочечной и стволовой симптоматики в зависимости от степени тяжести черепно-мозговой травмы**

*Примечание:* Сотрясение ГМ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести.

### 3.2 – Результаты нейропсихологического обследования пациентов

Для оценки когнитивной сферы было проведено комплексное нейропсихологическое исследование с использованием оценочных шкал, позволявших определить профиль нарушений высших корковых функций. При этом полное обследование, включавшее в себя MMSE, MoCA, FAB, 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 легкой степени тяжести (n=30). У пациентов с ушибом средней (n=31) и тяжелой 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 (The Rancho Los Amigos Scale, RLAS; Rancho Los Amigos).

Установлено, что по результатам теста оценки лобной дисфункции, в 1-й группе (СТГ) общий балл ( $14,7 \pm 1,3$ ) несколько выше, чем во 2-й группе (УЛС) ( $13,8 \pm 2,2$ ). Но данные различия были статистически не достоверны ( $p > 0,05$ ). Необходимо отметить, что в обеих группах преобладали пациенты, у которых показатели соответствовали нормальным значениям или не выходили за рамки УКН. Общее распределение пациентов по шкале тестов лобной дисфункции в зависимости от полученных результатов указано в *таблице 7*.

**Таблица 7 – Результаты тестирования по шкале лобной дисфункции у пациентов с сотрясением и ушибом головного мозга**

Батарея тестов лобной дисфункции (количество баллов)	Группа 1 (СТГ)	Группа 2 (УЛС)
	n=25	n=30
18-17	14 (56%)	9 (30%)
16-14	10 (40%)	12 (40%)
13-12	1 (4%)	8 (26,7%)
11 и меньше	0 (0,0%)	1 (3,3%)
Средний балл (M±SD)	$14,7 \pm 1,3$	$13,8 \pm 2,2$

*Примечание:* СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести.

Согласно результатам тестирования по шкале КШОПС (краткая шкала оценки психического статуса), 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 нормальным референсным значениям. В то же время во 2-й группе (УЛС) преобладали больные, у которых значения теста соответствовали УКН. Сводные данные приведены в *таблице 8*.

**Таблица 8 – Результаты тестирования по краткой шкале оценки психического статуса**

КШОПС	Группа 1 (СТГ)	Группа 2 (УЛС)
	n=25	n=30
28-30	16 (64%)	6 (20%)
24-27	8 (32%)	18 (60%)
20-23	1 (4%)	5 (20%)
Средний балл (M±SD)	$28,4 \pm 1,7^*$	$25,5 \pm 1,8$

*Примечание:* СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; \* –  $p < 0,05$ .

Обследование по шкале МоСА 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 – УКН. Общие данные представлены в *таблице 9*.

**Таблица 9 – Результаты тестирования по монреальской шкале оценки когнитивных функций**

МоСА	Группа 1 (СТГ)	Группа 2 (УЛС)
	n=25	n=30
26-30	18 (72%)	10 (30%)
23-25	5 (20%)	11 (36,7%)
20-22	2 (8%)	6 (20%)
Менее 20	0	3 (13,3)
Средний балл (M±SD)	$27,7 \pm 2,1^*$	$24,4 \pm 2,7$

*Примечание:* МоСА – Montreal Cognitive Assessment (Монреальская шкала оценки когнитивных функций); СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; \* –  $p < 0,05$ .

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) –  $7,7 \pm 1,3$  ( $p < 0,05$ ).

Тест десяти слов оказался менее информативен, поскольку полученные данные в группах статистически достоверно не отличались. Общие данные представлены в *таблице 10*.

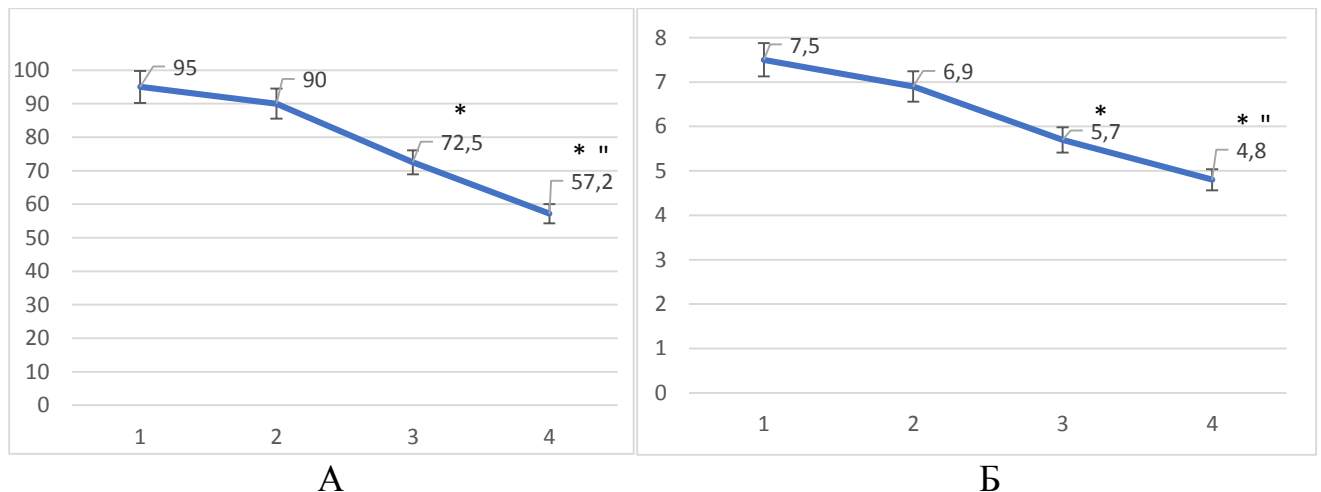
**Таблица 10 – Результаты выполнения теста рисования часов и теста десяти слов**

Тест	Группа 1 (СТГ)	Группа 2 (УЛС)
	n=25	n=30
	M±SD	
Тест рисования часов, баллы	$9,1 \pm 0,9^*$	$7,7 \pm 1,3$
Тест десяти слов, слова: непосредственное воспроизведение отсроченное воспроизведение	$6,8 \pm 1,3$	$6,2 \pm 1,1$
	$7,1 \pm 0,8$	$6,6 \pm 0,9$

*Примечание:* СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; \* –  $p < 0,05$ .

Особенности проведения и структура теста на ориентацию и амнезию Гальвестона, а также теста когнитивных функций медицинского центра Ранхо Лос

Амигос позволяют выполнять их при любой степени тяжести повреждения головного мозга. Вследствие этого нами с помощью данных оценочных шкал были обследованы пациенты всех групп. Тест на ориентацию и амнезию Гальвестона продемонстрировал следующие результаты: у пациентов 1-й группы (СТГ) среднее значение соответствовало  $95,0 \pm 4,3$  баллам, у пациентов 2-й группы (УЛС) –  $90,0 \pm 7,4$  баллам ( $p > 0,05$ ). Для пациентов 3-й группы (УСС) было определено существенно более низкое значение –  $72,5 \pm 6,6$  балла. Наименьшие показатели наблюдались у пациентов 4-й группы (УТС) –  $57,2 \pm 8,3$  балла. Различия были достоверны как между данными группами ( $p < 0,01$ ), так и по сравнению с пациентами первой и второй групп ( $p < 0,001$ ). Показатели обследования по тесту когнитивных функций медицинского центра Ранхо Лос Амигос для пациентов 1-й группы (СТГ) составили  $7,5 \pm 0,6$  балла, а для пациентов 2-й группы (УЛС) –  $6,9 \pm 0,7$  балла ( $p > 0,05$ ). У пострадавших 3-й группы (УСС) результат достигал  $5,7 \pm 0,8$  балла. Для больных 4-й группы (УТС) он был равен  $4,8 \pm 1,1$  балла. Данные в этих группах статистически достоверно различались между собой ( $p < 0,05$ ), а также с группами пациентов, перенесших легкую ЧМТ ( $p < 0,01$ ). Результаты тестирования представлены на *рисунке 9*.



**Рисунок 9 – Результаты обследования по тесту на ориентацию и амнезию Гальвестона (А) и по тесту когнитивных функций медицинского центра Ранхо Лос Амигос (Б)**

*Примечание:* Ось ординат – количество баллов, ось абсцисс – номер группы пациентов: 1 – сотрясение головного мозга; 2 – ушиб легкой степени тяжести; 3 – ушиб средней степени тяжести; 4 – ушиб тяжелой степени тяжести; \* – достоверные различия между группой 1 и иными группами, " – достоверные различия между группами 3 и 4.

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. У ряда пострадавших наблюдались элементы ретроградной и конградной амнезии. Необходимо отметить, что степень выраженности наблюдающихся нарушений прогрессивно возрастала по мере увеличения тяжести травмы мозга. Кроме того, у некоторых больных с ушибом головного мозга средней и тяжелой степеней тяжести наблюдались операционные нарушения в виде поражения речи, апраксий, агнозий. При этом с учетом острого периода и тяжести общего состояния достоверно судить о их формировании не всегда представлялось возможным.

### **3.3 – Результаты компьютерной томографии головного мозга**

Первичную оценку состояния пациентов проводили при поступлении в отделение нейрохирургии с использованием методов нейровизуализации. Всего было выполнено 110 КТ-исследований головного мозга у пациентов в остром периоде ЧМТ различной степени тяжести. У пациентов 1-й группы (СТГ) структурных изменений обнаружено не было. У пациентов 2-й группы (УЛС) в 10 случаях (33,3 %) наблюдались переломы костей лицевого черепа и в 3 случаях (10,0 %) субарахноидальные кровоизлияния. У пострадавших 3-й (УСС) и 4-й (УТС) групп во всех случаях наблюдались структурные изменения. В их общей структуре превалировало субарахноидальное кровоизлияние – 61,2 % от всех случаев ушибов (наиболее часто в правой затылочной доле – 15,3%). Несколько реже встречались эпи- и субдуральные гематомы – у 51,9 % пострадавших (анатомически превалировала также область правой затылочной доли – 11,8 %). Существенно реже встречались переломы костей основания черепа или костей

лицевого черепа – у 17,6 % пострадавших. Также редко (только у пациентов с УТС) были зафиксированы внутримозговые гематомы – в 10,7 %. Очаги контузии были определены у 21,3 % пострадавших (только при УТС) и представляли собой гиподенсные участки вещества головного мозга с наличием гиперденсных включений в ряде случаев. Отсутствие очагов контузии у некоторых пациентов с ушибом головного мозга может объясняться наличием определенных сложностей визуализации участка ушиба в ранние сроки при проведении рутинной КТ без контрастирования (менее 2-3 часов от факта травмы) без выраженного кровоизлияния в вещество мозга. При этом наиболее часто очаги ушиба определялись в лобных долях – у 7,1 % в левой и у 5,9 % – в правой лобной доле. Реже очаги ушиба были обнаружены в левой теменной доле – у 4,7 % пациентов с ушибом головного мозга.

Общие данные КТ-исследований представлены в *таблице 11*.



**Таблица 11 – Результаты компьютерной томографии головного мозга у пациентов с ушибом головного мозга (n=85)**

Структурные изменения	Локализация, доли																Частота Наблюдений %
	слева								справа								
	Лобная		Затылочная		Височная		Теменная		Лобная		Затылочная		Височная		Теменная		
	п	%	п	%	п	%	п	%	п	%	п	%	п	%	п	%	
Гематома (эпи/субдуральная)	8	9,4	6	7,1	6	7,1	4	4,7	7	8,2	10	11,8	2	2,4	1	1,2	51,9
Суб-арахноидальное кровоизлияние	10	11,8	7	8,2	1	1,2	3	3,5	12	14,1	13	15,3	0		9	10,6	64,7
Внутричерепная гематома	2	2,4	2	2,4	0		1	1,2	3	3,5	0		0		1	1,2	10,7
Перелом основания черепа, костей лицевого черепа																	17,6
Очаги контузии	6	7,1	1	1,2	0		4	4,7	5	5,9	0		2	2,4	0		21,3

### 3.4 – Характеристика исходов заболевания

По окончании госпитализации (14 дней) для определения завершения посттравматической амнезии проводилась повторная оценка состояния пациентов по шкале теста на ориентацию и амнезию Гальвестона. При этом было установлено, что у пациентов с легкой ЧМТ (сотрясением и ушибом головного мозга легкой степени тяжести) наблюдалось полное восстановление. Однако с увеличением тяжести повреждения головного мозга эти процессы были замедлены, что говорит о более длительных сроках восстановления памяти и ориентации. Так, у пострадавших в 3-й группе (УСС) показатель теста составил  $91,3 \pm 7,2$  балла, а у пациентов в 4-й группе (УТС) –  $81,0 \pm 7,0$  балл.

Также для оценки исходов заболевания были использованы модифицированная шкала Рэнкина и расширенная шкала исходов Глазго. При оценке исходов заболевания по модифицированной шкале Рэнкина (mRS) установлено, что без симптомов заболевания (0 mRS) был выписан 51 пациент, без существенных нарушений жизнедеятельности (mRS 1) – 33 пациента, с легким нарушением жизнедеятельности (mRS 2) – 16 больных, с умеренным нарушением жизнедеятельности (mRS 3) – 4 пациента, с выраженным нарушением жизнедеятельности (mRS 4) – 2 пациента, с грубым нарушением жизнедеятельности (mRS 5) – 1 пациент. В 3 случаях зафиксирован летальный исход (mRS 6). Общие сведения представлены на рисунке 10 и в таблице 12.

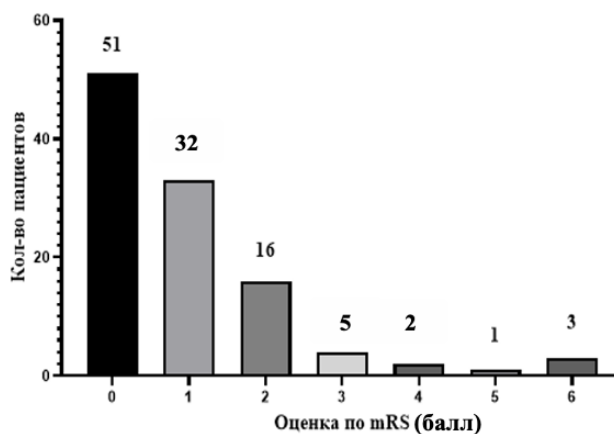


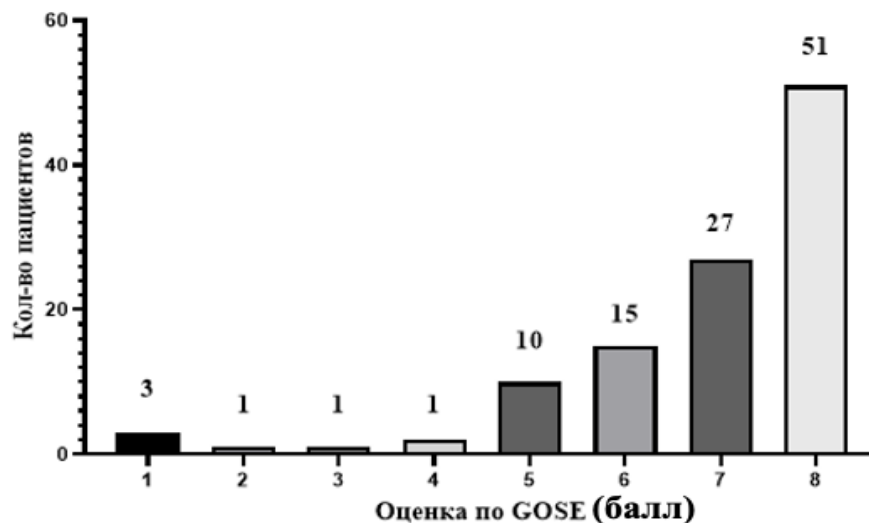
Рисунок 10 – Исходы заболевания по модифицированной шкале Рэнкина (mRS)

**Таблица 12 – Оценка исходов заболевания по модифицированной шкале Рэнкина**

Тяжесть повреждения головного мозга	Оценка в баллах						
	0	1	2	3	4	5	6
Группа 1 (СТГ)	25	-	-	-	-	-	-
Группа 2 (УЛС)	26	5	-	-	-	-	-
Группа 3 (УСС)	-	26	2	1	1	-	-
Группа 4 (УТС)	-	-	14	4	2	1	3

*Примечание:* Данные представлены в виде абсолютного количества пациентов; СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести.

Согласно расширенной шкале исходов Глазго (GOSE), были выписаны: с полным восстановлением (8 баллов) – 51 пациент, с хорошим восстановлением (7 баллов) – 27 пострадавших, с лёгкой несамостоятельностью (6 баллов) – 15 пациентов, с умеренной несамостоятельностью (5 баллов) – 10 пациентов, с тяжёлой несамостоятельностью (4 балла) – 1 пациент. Был выявлен глубокий двигательный дефицит в виде пара/тетраплегии и/или бульбарных нарушений (1 пациент – 3 балла) и с вегетативным состоянием (2 балла) – 1 пациент. Летальный исход зафиксирован у 3 пациентов (1 балл). Результаты представлены на рисунке 11 и в таблице 13.



**Рисунок 11– Исходы заболевания по расширенной шкале исходов Глазго (GOSE)**

**Таблица 13 – Оценка исходов заболевания по расширенной шкале исходов Глазго**

Тяжесть повреждения головного мозга	Оценка в баллах							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Группа 1 (СТГ)	-	-	-	-	-	-	-	25
Группа 2 (УЛС)	-	-	-	-	-	-	5	25
Группа 3 (УСС)	-	-	-	-	1	6	23	1
Группа 4 (УТС)	3	1	1	1	9	9	-	-

*Примечание:* Данные представлены в виде абсолютного количества пациентов; СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести.

### Резюме

Таким образом, для пациентов с легкой ЧМТ (сотрясением и ушибом головного мозга легкой степени тяжести) характерным явилось достаточно полное восстановление нарушенных функций нервной системы, что отражается в восстановлении их социальной и бытовой независимости (51 пациент). В то же время у пострадавших с более тяжелой травмой далеко не во всех случаях наблюдался подобный исход. У пациентов 3-й группы (УСС) максимальные результаты по примененным нами шкалам, свидетельствующие о выздоровлении, были получены у 1-го пациента, а у пострадавших в 4-й группе (УТС) таких случаев не наблюдалось.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ, ИЗЛОЖЕННЫМ В 3 ГЛАВЕ

*Научные публикации в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в МБД – WoS, Scopus, PubMed:*

1. 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).

2. Комплексная оценка клиничко-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).

*Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК:*

3. 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).

## ГЛАВА 4 – РЕЗУЛЬТАТЫ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ

### 4.1 – Показатели субпопуляционного состава Т-лимфоцитов в периферической крови в зависимости от степени тяжести черепно-мозговой травмы

В исследованиях последних десятилетий доказана ключевая роль Т-лимфоцитов как ключевой субпопуляции клеток, участвующих в развитии нейровоспаления в ответ на повреждение головного мозга, в том числе и травматическое [65, 157]. Согласно современным представлениям, в ответ на травму развиваются клеточно-опосредованные реакции, которые являются ключевыми в иммунопатогенезе травматической болезни и определяют дальнейшее течения заболевания.

Результаты нашего исследования согласуются с результатами большинства работ, демонстрирующих Т-лимфопению в ответ на травматическое повреждение нервной ткани, как на экспериментальных моделях *in vivo*, так и в клинических исследованиях [65, 168]. По результатам нашего исследования установлено снижение относительного и абсолютного содержания CD3+Т-лимфоцитов у всех пациентов с ушибом головного мозга ( $p < 0,05$ ). Схожие изменения установлены при анализе CD3+CD4+ Т-лимфоцитов (таблица 14).

**Таблица 14 – Содержание CD3+CD4+ Т-лимфоцитов у пациентов с черепно-мозговой травмой**

Популяция		Группа 1 (СТГ)	Группа 2 (УЛС)	Группа 3 (УСС)	Группа 4 (УТС)	Группа 5 (КГ)	Р
CD3+ CD4+ Т-лимфоциты	%	41,62 (38,0-45,3)	48,62 (42,0-52,7)	41,64 (1,3-51,5)	35,18 (0,91-50,0)	40,74 (1,88-49,4)	p2-5=0,024 p3-5=0,038 p4-5=0,012
	кЛ/мкЛ	652 (451-700)	514 (211-623)	724 (351-853)	806 (728-1000)	604 (258,2-819)	p4-5=0,021

*Примечание:* СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести.

В последующем проводилась оценка ко-экспрессии двух поверхностных антигенов CD45RA и CD62L, репертуар которых изменяется по мере созревания Th и приобретения ими эффекторных функций, что позволяет выявить субпопуляции «наивных» Th (CD45RA<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>), а также оценить уровень «зрелых» или «поляризованных» субпопуляций Th – клеток центральной (CM) и эффекторной памяти (EM) (с фенотипами CD45RA<sup>-</sup>CD62L<sup>+</sup> и CD45RA<sup>-</sup>CD62L<sup>-</sup>, соответственно). Также определение экспрессии поверхностных антигенов позволяет выделить при обследовании количество «терминально-дифференцированных» CD45RA<sup>+</sup>эффекторных клеток (TEMRA, CD45RA<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup>). Проведено сравнение относительного и абсолютного содержания Th между всеми обследованными группами пациентов, а также с группой практически здоровых лиц.

Проведенное нами исследование позволило выявить значимое снижение абсолютного содержания «наивных» Th у пациентов 2-й (УЛС), 3-й (УСС) и 4-й группах (УТС) по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).

Обратные изменения обнаружены в рамках субпопуляции клеток способных к миграции в очаг воспаления (Th EM). Так изучение полученных данных также позволило установить значимое повышение Th EM у пациентов 3-й (УСС) и 4-й группах (УТС) по сравнению с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ). При анализе Th CM, преимущественно локализирующихся во вторичных лимфоидных органах, достоверных изменений как в рамках абсолютных, так и относительных значений, обнаружено не было.

Также нами был установлен достоверно повышенный уровень Т-хелперов TEMRA-фенотипа в рамках относительных значений у всех пациентов с ушибом головного мозга в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,005$ ) (таблица 15).

**Таблица 15 – Содержание основных субпопуляций Т-хелперов на различных стадиях дифференцировки у пациентов с черепно-мозговой травмой, Me (Q25; Q75)**

Популяция	Фенотип		СТГ (Группа 1)	УЛС (Группа 2)	УСС (Группа 3)	УТС (Группа 4)	Контроль (Группа 5)	Значимые различия (p)
«Наивные»	CD45RA+ CD62L+	%	13,1 (10,2-16,5)	11,4 (6,9-15,0)	8,2 (5,4-18,9)	13,3 (7,2-15,7)	13,8 (10,7-19,8)	p3-5 = 0,03
		кЛ/мкЛ	233,6 (160,6-340,4)	142,1 (50,7-290,5)	99,3 (41,54-167,4)	110,2 (60,4-189,5)	248,9 (175,7-369,7)	p1-3 = 0,001 p1-4 = 0,007 p2-5 = 0,024 p3-5 = 0,0001 p4-5 = 0,0005
СМ	CD45RA– CD62L+	%	20,9 (18,2-25,0)	18,36 (0,26-26,4)	14,7 (0,18-21,7)	18,6 (0,26-26,2)	17,5 (15,8-21,0)	p1-3 = 0,030
		кЛ/мкЛ	390,7 (281,7-545,0)	351,5 (162,1-468,3)	289,8 (139,7-528,7)	265,7 (133,9-392,2)	308,7 (264,9-373,4)	p1-5 = 0,038
ЕМ	CD45RA– CD62L–	%	10,2 (6,7-13,3)	14,0 (8,8-43,8)	26,7 (14,8-48,5)	16,8 (10,9-53,4)	12,0 (8,7-15,5)	p1-2 = 0,02 p1-3 <0,0001 p1-4 = 0,014 p3-5 <0,0001 p4-5 = 0,018
		кЛ/мкЛ	174,0 (111,8-263,5)	158,8 (88,7-241,4)	213,3 (125,6-203,0)	130,0 (41,4-241,8)	206,0 (171,6-250,5)	p3-5 = 0,012 p4-5 = 0,046
TEMRA	CD45RA+ CD62L–	%	0,2 (0,1-0,9)	0,7 (0,18-7,2)	2,3 (0,41-4,7)	1,8 (0,41-9,9)	0,2 (0,1-0,4)	p1-2=0,038 p1-3=0,003 p1-4 = 0,002 p2-5=0,0037 p3-5 <0,0001 p4-5 = 0,0002
		кЛ/мкЛ	3,9 (2,1-14,1)	3,1 (1,7-11,1)	5,1 (2,5-42,6)	9,1 (1,3-13,2)	4,2 (2,0-9,1)	

*Примечание:* % – процент содержания от общего числа лимфоцитов; СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести; СМ – центральной памяти; ЕМ – эффекторной памяти; TEMRA – терминально-дифференцированные; p1-2, p1-3, p1-4, p1-5, p2-3, p2-4, p2-5, p3-4, p3-5, p4-5 – достоверные различия между соответствующими группами.



Был проведён анализ особенностей экспрессии хемокиновых рецепторов CCR4, CCR6, CXCR3 и CXCR5 Th клетками у пациентов с ЧМТ. Оценка четырех основных субпопуляций «поляризованных» Т-хелперов периферической крови: Th1 (фенотип CXCR5<sup>-</sup>CXCR3<sup>+</sup>CCR6<sup>-</sup>CCR4<sup>-</sup>), Th2 (фенотип CXCR5<sup>-</sup>CXCR3<sup>-</sup>CCR6<sup>-</sup>CCR4<sup>+</sup>), общего пула Th17 с фенотипом CXCR5<sup>-</sup>CCR6<sup>+</sup>, а также общего пула фолликулярных Т-хелперов (Tfh), несущих на своей поверхности CXCR5, в рамках популяции клеток центральной памяти (*таблица 16*) и эффекторной памяти (*таблица 17*).

Среди «поляризованных» субпопуляций Т-хелперов центральной памяти (Th CM) выявлен достоверно сниженный уровень Th1, обладающих фенотипом CXCR5<sup>-</sup>CXCR3<sup>+</sup>CCR6<sup>-</sup>CCR4<sup>-</sup> у всех пациентов с ЧМТ ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой, однако в рамках абсолютных значений достоверные изменения обнаружены только у пациентов с ушибом головного мозга (2, 3, 4 группы). При этом достоверно повышенный относительный уровень Th2 был установлен только в 4-й группе (УТС) ( $p = 0,038$ ). Анализ CCR6- экспрессирующих Th17 в образцах периферической крови показал достоверно повышенный уровень относительных и абсолютных значений у всех больных с ЧМТ в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,01$ ). В популяции Tfh достоверные изменения обнаружены только в 4-й группе (УТС) по сравнению с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ).

Исходя из данных, приведенных в *таблице 17*, анализ «поляризованных» Т-хелперов среди Т-хелперов эффекторной памяти Th EM выявил достоверно пониженное количество Th1 с фенотипом CXCR5<sup>-</sup>CXCR3<sup>+</sup>CCR6<sup>-</sup>CCR4<sup>+</sup> у всех пациентов с ЧМТ как в рамках относительных, так и абсолютных значений ( $p < 0,01$ ). Анализ Th2 с фенотипом CXCR5<sup>-</sup>CXCR3<sup>-</sup>CCR6<sup>-</sup>CCR4<sup>+</sup> показал повышенный уровень относительных и абсолютных значений у пациентов 2-й группы ( $p < 0,05$ ), 3-й группы ( $p < 0,01$ ) и 4-й группы ( $p < 0,01$ ) в сравнении с контрольной группой.

**Таблица 16 – Содержание основных субпопуляций «поляризованных» Т-хелперов в рамках общего пула Т-хелперов центральной памяти у пациентов с черепно-мозговой травмой, Me (Q25; Q75)**

Популяция Т-хелперов	Фенотип		Группа 1 (СТГ)	Группа 2 (УЛС)	Группа 3 (УСС)	Группа 4 (УТС)	Группа 5 (Контроль)	Значимые различия (p)
Th1	CXCR5-CXCR3+ CCR6-CCR4+	%	11,4 (7,2-14,0)	9,1 (7,9-12,8)	10,7 (7,1-13,7)	7,6 (5,7-11,6)	13,5 (11,4-16,0)	p1-5 = 0,0438 p2-5 = 0,0006 p3-5 = 0,0103 p4-5 = 0,0001
		кЛ/мкЛ	58,3 (24,4-72,6)	24,2 (14,2-47,7)	40,3 (15,0-56,9)	22,5 (10,6-56,0)	80,6 (35,3-103,5)	p2-5 = 0,0085 p3-5 = 0,006 p4-5 = 0,0016
Th2	CXCR5-CXCR3- CCR6-CCR4+	%	10,0 (7,0-11,5)	11,0 (9-16,8)	13,1 (8,3-17,3)	13,8 (11,0-21,3)	10,8 (8,59-14,5)	p1-4 = 0,0048 p4-5 = 0,038
		кЛ/мкЛ	27,0 (14,0-49,6)	17,2 (13,0-42,5)	15,6 (10,0-32,2)	14,0 (4,2-47,0)	32,6 (22,2-47,8)	
Th17	CXCR5-CCR6+	%	45,0 (34,8-48,4)	47,0 (39,3-52,7)	43,1 (35,3-51,1)	43,3 (39,5-50,5)	34,3 (31,1-42,3)	p1-5 = 0,0014 p2-5 < 0,0001 p3-5 = 0,0041 p4-5 = 0,0003
		кЛ/мкЛ	169,4 (125,1-289,0)	149,0 (90,3-218,0)	138,0 (60,0-270,6)	123,4 (94,2-198,0)	113,3 (74,3-143,5)	p1-5 = 0,0031 p2-5 = 0,052 p3-5 = 0,043 p4-5 = 0,05
Tfh	CXCR5+	%	19,7 (17,1-25,0)	16,7 (12,0-20,0)	14,1 (11,4-20,5)	15,5 (12,4-18,8)	18,2 (15,6-22,0)	p1-2 = 0,041 p1-4 = 0,022 p4-5 = 0,026
		кЛ/мкЛ	6,6 (3,9-12,3)	4,9 (2,1-6,0)	3,6 (1,7-7,0)	2,6 (1,5-5,2)	4,4 (3,1-5,6)	p1-2 = 0,048 p1-4 = 0,02 p4-5 = 0,041

*Примечание:* % – процент содержания от общего числа Т-хелперов центральной памяти; СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести; p1-2, p1-3, p1-4, p1-5, p2-3, p2-4, p2-5, p3-4, p3-5, p4-5 – различия между соответствующими группами.

**Таблица 17 – Содержание основных субпопуляций «поляризованных» Т-хелперов в рамках общего пула Т-хелперов эффекторной памяти у пациентов с черепно-мозговой травмой**

Популяция Т-хелперов	Фенотип		Группа 1 (СТГ)	Группа 2 (УЛС)	Группа 3 (УСС)	Группа 4 (УТС)	Группа 5 (КГ)	Значимые различия (p)
Th1	CXCR5- CXCR3+ CCR6- CCR4+	%	13,1 (10,3- 16,9)	13,4 (8,5- 16,8)	12,2 (9,8- 19,3)	47,1 (39,1- 57,2)	22,0 (16,1- 31,9)	p1-5=0,0001 p2-5=0,0005 p3-5= 0,0001 p4-5= 0,0011
		кЛ/м кЛ	0,2 (0,1-0,4)	0,3 (0,26- 0,46)	0,27 (0,2- 0,7)	0,4 (0,15- 0,8)	2,1 (1,2- 2,8)	p1-5=0,02 p2-5= 0,034 p3-5= 0,0153 p4-5= 0,016
Th2	CXCR5- CXCR3- CCR6- CCR4+	%	1,6 (1,1-2,3)	2,0 (1,5-3,1)	3,1 (1,6- 7,3)	4,5 (2,0-8,2)	1,3 (0,9- 2,0)	p1-3= 0,0057 p1-4= 0,0004 p2-4= 0,017 p2-5= 0,008 p3-5= 0,0002 p4-5< 0,0001
		кЛ/м кЛ	2,9 (1,4-4,4)	2,7 (1,3-6,3)	5,0 (2,3- 11,0)	6,1 (3,1- 13,6)	2,6 (2,0- 4,6)	p2-5 = 0,042 p3-5 = 0,002 p4-5 = 0,01
Th17	CXCR5- CCR6+	%	61,5 (54,2- 68,0)	65,4 (53,9- 73,0)	59,6 (47,3- 66,7)	60,3 (46,0- 62,71)	34,3 (31,1- 42,3)	p1-5= 0,0004 p2-5= 0,0002 p3-5 = 0,013 p4-5 = 0,02
		кЛ/м кЛ	97,4 (59,8- 156,2)	91,3 (56,7- 120,2)	84,5 (51,8- 127,3)	88,2 (54,3- 126,6)	77,8 (56,6- 112,3)	p1-5 =0,05 p3-4 = 0,002 p3-5= 0,0001 p4-5 = 0,03
Tfh	CXCR5+	%	10,0 (5,9- 12,4)	6,9 (4,1-8,9)	7,8 (5,0- 9,6)	6,5 (5,17- 7,8)	9,2 (6,0- 12,9)	p4-5= 0,0166
		кЛ/м кЛ	10,0 (6,4- 11,8)	5,5 (4,2-7,5)	6,5 (3,8- 8,5)	6,6 (5,5- 11,3)	9,2 (6,0- 12,9)	p1-2 = 0,004 p2-5 = 0,02 p3-5 = 0,042 p4-5 = 0,03

*Примечание:* % – процент содержания от общего пула Т-хелперов эффекторной памяти (ЕМ); СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести; КГ – контрольная группа; p1-2, p1-3, p1-4, p1-5, p2-3, p2-4, p2-5, p3-4, p3-5, p4-5 – различия между соответствующими группами.

При проведении исследований выявлено достоверно повышенное содержание относительного количества CCR6-экспрессирующих Th17 у всех пациентов с ЧМТ по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,5$ ). В популяции Tfh достоверные изменения относительно контрольной группы определены только у пациентов в 4-й группе (УТС) ( $p = 0,0166$ ), при этом в рамках абсолютных значений

пониженный уровень был выявлен у пациентов во 2-й (УЛС), 3-й (УСС) и 4-й группах (УТС) ( $p < 0,05$ ) в сравнении с показателями в группы контроля.

В рамках общего пула CCR6+ Th CM и EM были выделены четыре основные субпопуляции Th17, которые различались как по паттернам экспрессии хемокиновых рецепторов CXCR3 и CCR4, так и по спектру функциональных активностей. В настоящее время выделяют «классические» Th17 с фенотипом CCR4+CXCR3-, CCR4+CXCR3+ Th17, обозначаемые как «дважды-позитивные» или DP Th17, «не классические» CCR4-CXCR3+ или Th17.1 и «дважды-негативные» CCR4-CXCR3- или DN Th17 лимфоциты. Нами был проведён детальный анализ циркулирующих Th17 в рамках Т-хелперов центральной и эффекторной памяти (*таблица 18*) и отдельных субпопуляций, циркулирующих Th17, различающихся по уровню экспрессии CCR4 и CXCR3 в зависимости от степени тяжести.

Проведенный анализ позволил установить динамические изменения в субпопуляции Th17, среди всех CCR6+ Th CM и EM у пациентов с ЧМТ различной степени тяжести.

В рамках пула CCR6+ Th CM был выявлен повышенный уровень относительного содержания DN Th17 у пациентов во 2-й (УЛС) ( $p = 0,0147$ ) и 3-й группах (УСС) ( $p = 0,0036$ ). Достоверно повышенное содержание «классических» Th17 ( $p = 0,01$ ) было выявлено только в группе, имеющей обширные повреждения (УТС), а в популяции «не классических» Th 17 (популяции клеток, ответственных за продукцию интерферона гамма (IFN $\gamma$ ) и интерлейкина-17A (IL-17A)) выявлены обратные изменения в виде их пониженного уровня ( $p = 0,0084$ ). Содержание DP Th17 (популяция клеток, обладающая высокой миграционной способностью в периферические ткани и органы, обусловленной высокой экспрессией хемокиновых рецепторов и адгезионных молекул) установлен достоверно повышенный их уровень у пациентов во 2-й (УЛС) ( $p = 0,0063$ ) и в 3-й группах (УСС) ( $p = 0,0123$ ).

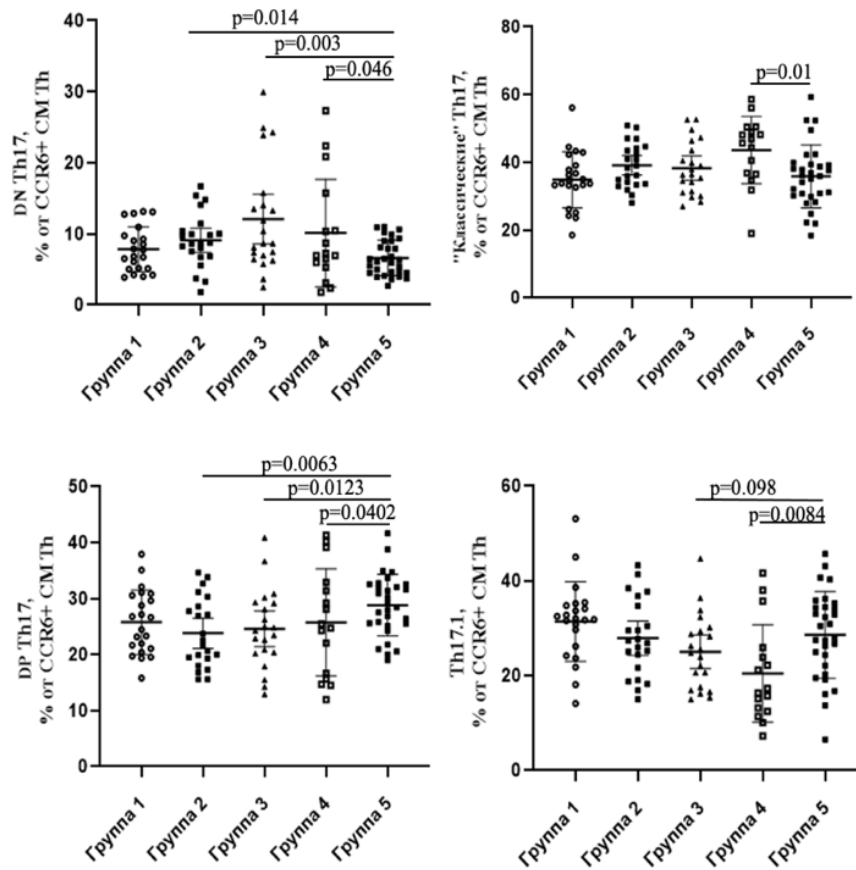
**Таблица 18 – Изменения в субпопуляционном составе Th17 периферической крови в рамках пула Т-хелперов центральной и эффекторной памяти у пациентов с черепно-мозговой травмой, Me (Q25; Q75)**

Популяция Th17	Фенотип	Группа 1 (СТГ)	Группа 2 (УЛС)	Группа 3 (УСС)	Группа 4 (УТС)	Группа 5 (КГ)	Значимые различия (p)
<b>% CM CCR6+ Th17:</b>							
DN Th17	CCR4– CXCR3–	7,3 (5,1-10,0)	8,7 (6,8-17,6)	8,6 (6,6-14,9)	7,8 (5,2-10,0)	6,2 (4,5-9,0)	p3-5=0,0036 p4-5=0,0147
class Th17	CCR4+ CXCR3–	34,0 (31,0-40,0)	38,6 (33,6-44,2)	36,4 (31,2-45,0)	46,0 (36,6-50,0)	36,0 (30,0-40,0)	p1-4=0,0031 p3-4 = 0,043 p4-5=0,0105
Th17.1	CCR4– CXCR3+	32,0 (25,7-34,9)	27,1 (21,0-35,2)	24,8 (17,2-29,7)	16,8 (12,6-25,4)	29,2 (21,6-34,6)	p1-3=0,0087 p1-4 = 0,025 p2-4=0,0085 p4-5=0,0084
DP Th17	CCR4+ CXCR3+	25,6 (20,9-30,6)	22,0 (19,0-32,0)	24,3 (20,3-29,2)	24,1 (15,9-27,5)	28,8 (25,4-32,5)	p3-5 =0,012 p4-5 =0,006
<b>% EM CCR6+ Th17:</b>							
DN Th17	CCR4– CXCR3–	4,3 (3,0-6,2)	5,1 (3,2-8,5)	5,5 (3,3-7,6)	5,3 (3,0-8,7)	2,6 (1,5-4,3)	p1-5 =0,0166 p2-5 = 0,036 p3-5=0,0009 p4-5=0,0161
class Th17	CCR4+ CXCR3–	22,5 (19,6-29,5)	26,5 (23,4-34,9)	30,7 (21,4-39,6)	32,8 (24,6-42,5)	23,2 (17,3-32,2)	p1-4 = 0,016 p3-5 = 0,037 p4-5=0,0148
Th17.1	CCR4– CXCR3+	47,3 (39,3-53,0)	42,2 (33,6-50,4)	35,5 (30,5-49,8)	34,8 (20,2-50,0)	46,0 (40,6-53,7)	p1-4 = 0,02 p4-5 =0,015
DP Th17	CCR4+ CXCR3+	22,4 (17,6-29,6)	20,2 (15,3-30,8)	23,5 (18,5-26,5)	21,5 (14,8-32,3)	25,3 (20,6-28,6)	

*Примечание:* % – процент содержания от общего пула Т-хелперов центральной и эффекторной памяти; СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести; КГ – контрольная группа; p1-2, p1-3, p1-4, p1-5, p2-3, p2-4, p2-5, p3-4, p3-5, p4-5 – различия между соответствующими группами.

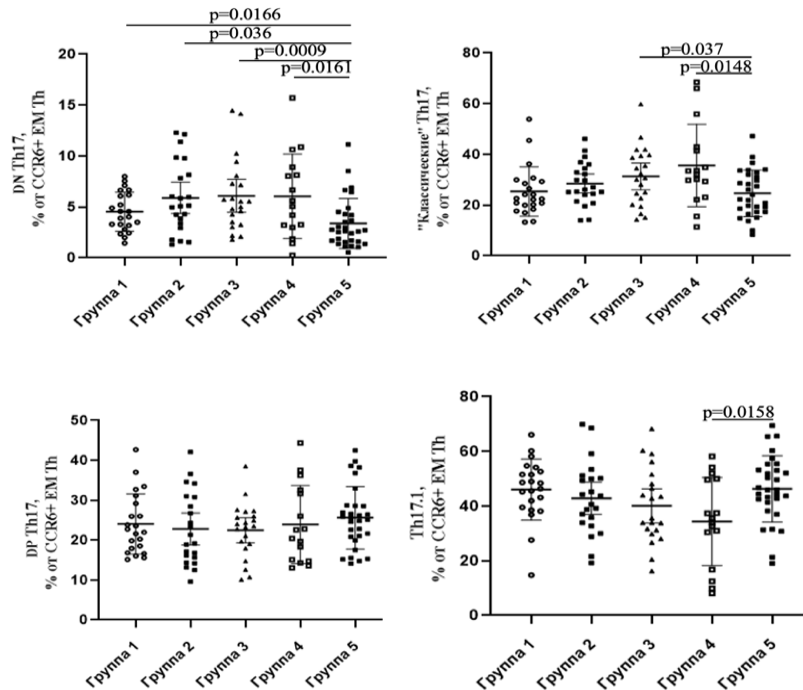
При оценке изменений в субпопуляциях Th17 в рамках CCR6+ Th EM выявлено повышенное количество DN Th17 у пациентов всех групп (p<0,05). Установлено значимое повышение количества «классических» Th17 у пациентов во 2-й группе (УЛС) и 3-й группе (УТС) в сравнении с контрольной группой (p<0,05). Содержание «не классических» Th17 (Th17.1) было достоверно снижено только у пациентов в 4-й группе (УТС) (p=0,0158). Анализ DP Th17 не выявил достоверно значимых изменений.

Результаты сравнения содержания указанных популяций в рамках пулов CCR6+ CM и EM представлены на *рисунках 12 и 13*.



**Рисунок 12 – Распределение Th17 по субпопуляциям клеток в пределах общего пула CCR6+ Th центральной памяти (Th CM) с фенотипом CD45RA–CD62L+ у пациентов с черепно-мозговой травмой**

*Примечание:* Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона (Me(Q25-Q75)); Группа 1 – сотрясение головного мозга; Группа 2 – ушиб легкой степени тяжести; Группа 3 – ушиб средней степени тяжести; Группа 4 – ушиб тяжелой степени тяжести; Группа 5 – контрольная группа.



**Рисунок 13 – Распределение Th17 по основным субпопуляциям клеток в пределах общего пула CCR6+ Th эффекторной памяти (Th EM) с фенотипом CD45RA–CD62L+ у пациентов с ЧМТ различной степени тяжести**

*Примечание:* Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона (Ме (Q25- Q75)). Группа 1 – сотрясение головного мозга; Группа 2 – ушиб легкой степени тяжести; Группа 3 – ушиб средней степени тяжести; Группа 4 – ушиб тяжелой степени тяжести; Группа 5 – контрольная группа.

Оценка «поляризованных» Т-хелперов среди Th памяти позволила выявить достоверно пониженное содержание относительного количества Th1 у всех пациентов с ЧМТ в сравнении с группой контроля ( $p < 0,05$ ). Относительное количество Th2 имело достоверно повышенное содержание относительно группы контроля только в 4-й группе (УТС) ( $p = 0,0073$ ). Также было выявлено статистически значимо повышенное содержание относительного количества CCR6- экспрессирующих Th17 среди пула Th памяти у всех групп пациентов в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,05$ ). В популяции CXCR5- экспрессирующих Tfh достоверные изменения по отношению к контрольной группе обнаружены не были ( $p > 0,05$ ). При этом в рамках абсолютных значений отмечалось достоверно сниженный уровень Th1 в 3-й (УСС) и 4-й группах (УТС) относительно контрольной группы ( $p < 0,05$ ). В рамках пула CCR6- экспрессирующих Th17 достоверно повышенный уровень был обнаружен у всех пациентов с ЧМТ ( $p < 0,05$ ). Анализ Th2 и CXCR5-экспрессирующих Tfh не выявил достоверных изменений ( $p > 0,05$ ) относительно контрольной группы.

Результаты сравнения содержания указанных популяций в рамках общего пула Т-хелперов памяти представлены в *таблице 19*.

**Таблица 19 – Содержание основных субпопуляций «поляризованных» Т-хелперов в рамках общего пула Т-хелперов памяти у пациентов с черепно-мозговой травмой**

Популяция Т-хелперов	Фенотип		Группа 1 (СТГ)	Группа 2 (УЛС)	Группа 3 (УСС)	Группа 4 (УТС)	Группа 5 (КГ)	(p)
Th1	CXCR5-CXCR3+ CCR6- CCR4+	%	12,2 (8,3-15,2)	10,1 (7,9-14,4)	11,2 (8,6-16,2)	10,1 (7,1-13,5)	16,0 (12,2-20,0)	p1-5 = 0,0034 p2-5 = 0,0003 p3-5 = 0,0005 p4-5 = 0,0002
		кЛ/мКЛ	0,23 (0,15-1,16)	0,8 (0,15-1,2)	0,6 (0,15-2,9)	1,0 (0,06-1,8)	2,4 (0,2-3,8)	p3-5 = 0,046 p4-5 = 0,005
Th2	CXCR5-CXCR3- CCR6- CCR4+	%	7,6 (5,3-8,6)	8,3 (6,5-13,4)	11,1 (6,3-12,9)	11,2 (9,6-17,0)	8,5 (6,4-11,0)	p1-3 = 0,0392 p1-4 < 0,0001 p2-4 = 0,041 p4-5 = 0,0073
		кЛ/мКЛ	0,3 (0,25-1,9)	0,5 (0,17-1,5)	0,8 (0,2-5,0)	0,6 (0,2-2,2)	0,6 (0,4-1,7)	
Общий пул Th17	CXCR5- CCR6+	%	49,0 (45,0-56,2)	51,7 (44,2-60,0)	45,2 (41,5-54,8)	47 (42,52-53,4)	36,5 (34,0-45,6)	p1-5 = 0,03 p2-5 < 0,0001 p3-5 = 0,0041 p4-5 = 0,0005
		кЛ/мКЛ	2,2 (1,7-5,7)	2,7 (1,9-5,4)	2,9 (1,6-5,2)	3,7 (2,3-5,8)	1,8 (0,7-3,6)	p1-5 = 0,014 p2-5 = 0,012 p3-5 = 0,016 p4-5 = 0,032
Общий пул Tfh	CXCR5+	%	16,7 (13,9-20,0)	12,5 (10,5-15,1)	11,9 (9,8-17,1)	12,7 (9,4-16,3)	15,5 (12,4-18,9)	p1-2 = 0,008 p1-4 = 0,027 p2-5 = 0,005
		кЛ/мКЛ	0,5 (0,3-3,60)	0,4 (0,7- 1,7)	0,2 (0,1-1,4)	0,9 (0,25-2,0)	0,6 (0,4-1,5)	

*Примечание:* % – процент содержания от общего пула Т-хелперов памяти (Th memory); СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести; КГ – контрольная группа; p1-2, p1-3, p1-4, p1-5, p2-3, p2-4, p2-5, p3-4, p3-5, p4-5 – различия между соответствующими группами.

#### **4.1.1 – Изменение содержания регуляторных Т-лимфоцитов в периферической крови у пациентов с травмой головного мозга**

На следующем этапе исследования Т-лимфоцитов у пациентов с черепно-мозговой травмой (ЧМТ) различной степени тяжести проводился анализ Т-регуляторных лимфоцитов (Treg), представляющих собой основную популяцию клеток периферической крови, способных подавлять развитие воспалительных



реакций. Первым поверхностным антигеном, который применялся для исследования, был CD25- трансмембранный белок I типа, являющийся  $\alpha$ -цепью IL-2 – ключевого цитокина, отвечающего за пролиферацию Т-лимфоцитов при формировании клона антиген-специфических клеток.

По результатам исследования относительного содержания Treg в рамках общего лимфоцитарного пула, имеющих фенотип CD3+CD4+CD25bright, в периферической крови выявлен пониженный уровень: с 3,3 % (2,8-3,8) до 2,8 % (2,5-3,3) у пациентов в 3-й (УСС) и до 2,6 % (2,0-3,3) в 4-й группе (УТС), что логично согласуется с концепцией о перераспределении и последующей миграции клеток эффекторов в очаг воспаления.

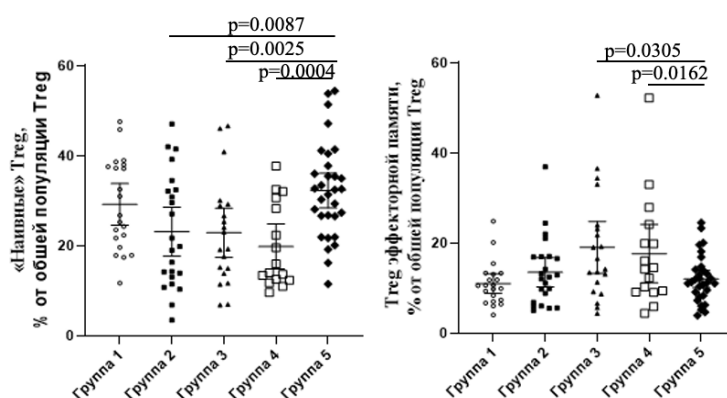
Необходимо отметить, что популяция Treg неоднородна, поэтому в рамках исследования был проведён анализ распределения Treg по субпопуляциям, выявленным на основании экспрессии CD45RO и CD62L.

При оценке субпопуляций регуляторных Т-лимфоцитов в рамках CD45RO и CD62L были установлены значимые изменения только у пациентов с ушибом головного мозга. Это свидетельствует о том, что именно степень тяжести травмы обуславливает активацию Treg. Проведенный анализ показал достоверно пониженный уровень относительного количества «наивных» Treg во 2-й группе (УЛС) ( $p=0,008$ ), в 3-й группе (УСС) ( $p=0,002$ ) и в 4-й группе (УТС) ( $p=0,0004$ ). Схожие изменения были выявлены в рамках абсолютных значений в виде пониженного уровня у всех пациентов с ушибом головного мозга ( $p<0,05$ ). При этом Treg «эффекторной памяти» имели достоверно повышенный относительный уровень в 3-й (УСС) ( $p=0,003$ ) и 4-й группах (УТС) ( $p=0,016$ ). Абсолютное содержание также было повышено в 3-й (УСС) ( $p=0,013$ ) и 4-й группах (УТС) ( $p=0,033$ ). Достоверных изменений абсолютного и относительного количества Treg «центральной памяти» обнаружено не было ( $p>0,05$ ) ни в одной из обследованных групп. Результаты приведены в *таблице 20* и на *рисунке 14*.

**Таблица 20 – Содержание субпопуляций регуляторных Т-лимфоцитов, различающихся по экспрессии CD45RO и CD62L, у пациентов с черепно-мозговой травмой, Me (Q25; Q75)**

Популяция Treg	Фенотип		Группа 1 (СТГ)	Группа 2 (УЛС)	Группа 3 (УСС)	Группа 4 (УТС)	Группа 5 (КГ)	p
«Наивные» Treg	CD45RO- CD62L+	%	26,7 (20,7-37,8)	19,8 (13,0-32,4)	21,1 (14,0-29,0)	14,9 (12,4-30,0)	32,4 (26,6-37,8)	p1-4 = 0,005 p2-5 = 0,008 p3-5 = 0,002 p4-5 = 0,0004
		кЛ/ мл	13,6 (3,6-22,4)	4,8 (2,8-16,5)	8,6 (3,8-15,4)	7,9 (3,8-13,6)	19,0 (12,8-25,5)	p1-2 = 0,024 p2-5 = 0,001 p3-5 = 0,007 p4-5 = 0,001
Treg центральной памяти	CD45RO + CD62L+	%	57,9 (53,8-65,0)	61,1 (49,0-76,0)	63,3 (37,0-74,0)	61,7 (53,0-73,4)	55,5 (48,0-59,6)	
		кЛ/ мл	29,0 (21,5-33,2)	23,1 (15,3-38,1)	17,2 (12,8-36,7)	21,3 (11,5-42,1)	29,0 (24,8-45,0)	
Treg эффекторной памяти	CD45RO + CD62L-	%	57,9 (53,8-65,0)	61,1 (49,0-76,0)	63,3 (63,0-81,6)	61,7 (53,5-73,4)	55,5 (47,7-59,6)	p1-3 = 0,015 p3-5 = 0,03 p4-5 = 0,016
		кЛ/ мл	4,8 (2,5-15,5)	3,8 (2,8-11,9)	5,4 (2,4-6,4)	4,2 (2,8-7,4)	8,8 (4,4-9,2)	p3-5 = 0,013 p4-5 = 0,033

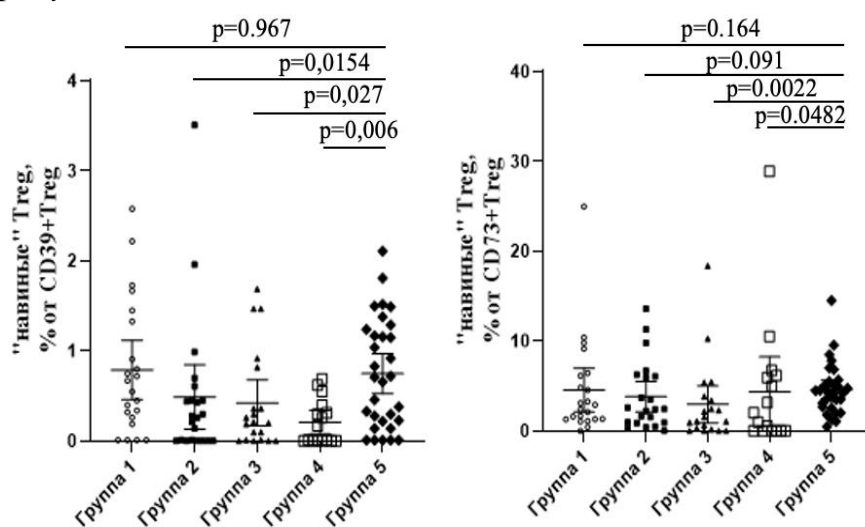
*Примечание:* % – процент содержания от общей популяции регуляторных Т-лимфоцитов; СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести; КГ – контрольная группа. ; p1-2, p1-3, p1-4, p1-5, p2-3, p2-4, p2-5, p3-4, p3-5, p4-5 – различия между соответствующими группами.



**Рисунок 14 – Относительное содержание популяций «наивных» регуляторных Т-лимфоцитов и регуляторных Т-лимфоцитов эффекторной памяти у пациентов с черепно-мозговой травмой**

*Примечание:* Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона (Me (Q25- Q75)); Группа 1– сотрясение головного мозга; Группа 2 – ушиб легкой степени тяжести; Группа 3 – ушиб средней степени тяжести; Группа 4 – ушиб тяжелой степени тяжести; Группа 5 – контрольная группа.

Не менее важным является анализ, основанный на уровне экспрессии CD39 и CD73 (2 основные нуклеотидазы, осуществляющие расщепление АТФ до АДФ, пирофосвата и АМФ, а также аденозина и фосфата, соответственно). Так, были проанализированы субпопуляции Treg, ко-экспрессирующие CD39 или CD73 на мембранах. Среди «наивных» Treg был выявлен повышенный уровень CD39-позитивных лимфоцитов во 2-й (УЛС), 3-й (УСС) и 4-й группах (УТС) ( $p < 0,05$ ). Относительно «наивных» Treg, экспрессирующих CD73, было установлено их повышенное содержание в 3-й (УСС) ( $p = 0,022$ ) и 4-й группе (УТС) ( $p = 0,048$ ) (таблица 21, рисунок 15).



**Рисунок 15 – Относительное содержание CD39- и CD73-позитивных «наивных» регуляторных Т-лимфоцитов у пациентов с черепно-мозговой травмой**

*Примечание:* Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона (Me(Q25-Q75)); Группа 1 – сотрясение головного мозга; Группа 2 – ушиб легкой степени тяжести; Группа 3 – ушиб средней степени тяжести; Группа 4 – ушиб тяжелой степени тяжести; Группа 5 – контрольная группа.

Повышенный уровень CD39-позитивных лимфоцитов у пациентов с ушибом головного различной степени тяжести связан с механизмами иммуносупрессии за счёт их способности к миграции в воспаленную ткань и последующим синтезом противовоспалительного аденозина, оказывающего супрессивное действие на клетки врожденного (в т.ч. активированной микроглии) и адаптивного иммунитета, что важно для ограничения процессов, направленных на вторичное повреждение ткани.

**Таблица 21 – Содержание CD39- и CD73-позитивных регуляторных Т-лимфоцитов на разных стадиях дифференцировки у пациентов с черепно-мозговой травмой, Me (Q25; Q75)**

Популяция Treg	Фенотип		Группа 1 (СТГ)	Группа 2 (УЛС)	Группа 3 (УСС)	Группа 4 (УТС)	Группа 5 (КГ)	p
<b>CD39-позитивные регуляторные Т-лимфоциты</b>								
«Наивные» Treg	CD45RO- CD62L+	%	0,6 (0,2-1,3)	0,2 (0,02-0,4)	0,2 (0,01-0,7)	0,09 (0,01-0,3)	0,7 (0,2-1,2)	p1-3 = 0,027 p1-4 = 0,0433 p2-5 = 0,015 p3-5 = 0,027 p4-5 = 0,0006
Treg центральной памяти	CD45RO+ CD62L+	%	1,7 (0,3-1,7)	1,6 (0,8-1,6)	1,0 (0,3-1,9)	0,7 (0,5-2,3)	1,9 (0,5-2,7)	
Treg эффекторной памяти	CD45RO+ CD62L-	%	57,9 (53,8-65,0)	61,1 (49,0-76,0)	63,3 (63,0-81,6)	61,7 (53,5-73,4)	55,5 (47,7-59,6)	
<b>CD73-позитивные регуляторные Т-лимфоциты</b>								
«Наивные» Treg	CD45RO- CD62L+	%	2,6 (1,3-6,2)	2,4 (0,9-6,1)	1,3 (0,2-3,7)	1,5 (0,002-5,1)	4,2 (2,6-5,5)	p3-5 = 0,002 p4-5 = 0,048
Treg центральной памяти	CD45RO+ CD62L+	%	1,7 (0,8-3,6)	2,2 (0,9-3,0)	2,0 (0,7-4,7)	3,4 (1,1-5,6)	2,3 (1,4-3,9)	
Treg эффекторной памяти	CD45RO+ CD62L-	%	3,9 (1,6-6,8)	3,4 (1,3-4,7)	2,3 (0,6-5,3)	1,8 (0,9-5,4)	2,5 (1,6-4,2)	

*Примечание:* % – процент содержания среди субпопуляций регуляторных Т-лимфоцитов: «наивные» Treg (CD45RO-CD62L+), Treg центральной памяти (CD45RO+CD62L+) и Treg эффекторной памяти (CD45RO+CD62L-); СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести; КГ – контрольная группа.

#### **4.2 – Изменение субпопуляций В-лимфоцитов в периферической крови в зависимости от степени тяжести черепно-мозговой травмы**

Для количественной оценки общей популяции В-клеток на начальном этапе был проведён анализ лимфоцитов, экспрессирующих CD19 (мембранный гликопротеин, выделяющийся на всех В-лимфоцитах), у пациентов с ЧМТ различной степени тяжести. При проведении исследований было обнаружено

достоверно значимое изменение относительного количества только в 3-й группе (УСС) ( $p=0,0113$ ) и 4-й группе (УТС) ( $p=0,0133$ ) в виде сниженных показателей.

В образцах периферической крови для более детального анализа В-клеток, прошедших антиген-зависимый этап дифференцировки в периферических лимфоидных органах, был проведен анализ отдельных субпопуляций В-лимфоцитов по уровням коэкспрессии поверхностного IgD и CD27. Окраска антителами против IgD и CD38 позволила выделить следующие субпопуляции В-клеток: «наивные» Vm1 клетки с фенотипом IgD+CD38- (клетки, покинувшие красный костный мозг и готовые к антиген-зависимой стадии развития); «активированные наивные» Vm2 клетки с фенотипом IgD+CD38+ (клетки, покидающие кровотоки и мигрирующие в В-зависимые зоны лимфоидных органов); Vm2'- клетки-предшественники с фенотипом IgD+CD38++ (клетки, перемещающиеся вглубь фолликула); общую субпопуляцию, включающую в себя центробласты и центроциты – так называемые «Vm3+Vm4» клетки с фенотипом IgD-CD38+++ (Vm3-клетки зародышевого центра, которые подвергаясь соматическим гипермутациям в Ig-вариабельных участках генов, трансформируются в Vm4, экспрессирующие высокоафинные антитела); клетки ранней памяти eVm5 (IgD-CD38+); покоящиеся клетки памяти Vm5 (IgD-CD38-).

Оценка субпопуляции CD19+ В-лимфоцитов показала, что у пациентов 1-й группы (СТГ) наблюдалось повышение доли «наивных» Vm1 клеток ( $p=0,011$ ) и достоверное снижение пула «Vm3+Vm4» клеток ( $p=0,0429$ ), в остальных субпопуляциях достоверных изменений обнаружено не было, однако достоверные изменения в рамках абсолютных значений установлены только в субпопуляции «наивных» Vm1 клеток в виде их сниженного уровня в сравнении с группой контроля.

Аналогичные данные в рамках относительных значений были получены у пациентов во 2-й группе (УЛС), у которых отмечено повышенное число «наивных» Vm1 клеток ( $p=0,048$ ) с пониженным содержанием «активированных наивных» Vm2 клеток ( $p=0,0066$ ), «Vm3+Vm4» клеток ( $p=0,006$ ). Абсолютное содержание

достоверно отличалось для «активированных наивных»  $Vm2$  клеток ( $p=0,024$ ) и « $Vm3+Vm4$ » клеток ( $p=0,005$ ) клеток.

В 3-й группе (УСС) отмечался пониженный уровень относительного количества В-клеток памяти, как «активированных наивных»  $Vm2$  клеток ( $p=0,0019$ ), так и « $Vm2'$ » клеток ( $p=0,0002$ ), а также « $Vm3+Vm4$ » клеток ( $p<0,0001$ ). Схожие изменения установлены в рамках абсолютных значений в виде пониженного уровня «активированных наивных»  $Vm2$  клеток ( $p=0,006$ ), « $Vm2'$ » клеток ( $p=0,0002$ ) и « $Vm3+Vm4$ » клеток ( $p=0,002$ ).

В 4-й группе (УТС) была обнаружена тенденция в виде сниженного числа как клеток-предшественников герминального центра  $Vm2'$  клеток ( $p=0,007$ ), так и «активированных наивных»  $Vm2$  клеток ( $p=0,013$ ), « $Vm3+Vm4$ » клеток ( $p=0,017$ ) и покоящихся клеток памяти  $Vm5$  ( $p=0,015$ ) (таблица 22). Абсолютное содержание клеток-предшественников герминального центра  $Vm2'$  клеток ( $p=0,006$ ), «активированных наивных»  $Vm2$  клеток ( $p=0,022$ ), « $Vm3+Vm4$ » клеток ( $p<0,0001$ ) и покоящихся клеток памяти  $Vm5$  ( $p=0,016$ ) достоверно снижалось относительно группы контроля.

**Таблица 22 – Содержание субпопуляций В-лимфоцитов, выявленных с использованием “Vm1-Vm5” классификации у пациентов с ЧМТ различной степени тяжести, Me (Q25; Q75)**

Популяция	Фенотип		Группа 1 (СТГ)	Группа 2 (УЛС)	Группа 3 (УСС)	Группа 4 (УТС)	Группа 5 (КГ)	p
Vm1	IgD+ CD38-	%	2,0 (1,2-2,9)	2,1 (1,1-2,7)	0,9 (0,6-1,9)	1,1 (0,7-1,6)	1,3 (0,9-1,9)	p1-3 = 0,011 p1-4 = 0,013 p1-5 = 0,011 p2-3 = 0,023 p2-4 = 0,049 p2-5 = 0,048
		кЛ/ мл	32,9 (21,7-40,5)	13,0 (9,7-37,2)	15,9 (4,5-21,9)	8,4 (9,3-25,0)	14,0 (12,3-26,8)	p1-3 = 0,0008 p1-4 = 0,009 p1-5 = 0,001
Vm2	IgD+CD 38+	%	5,8 (4,1-9,4)	4,6 (3,1-7,5)	3,7 (0,8-6,0)	3,3 (1,6-8,2)	7,2 (5,7-9,2)	p2-5 = 0,0066 p3-5 = 0,0019 p4-5 = 0,013
		кЛ/ мл	91,4 (57,4-135,8)	47,9 (28,0-93,9)	36,1 (12,0-114,9)	21,0 (6,7-74,2)	112,5 (69,7-131,1)	p2-5 = 0,024 p3-4 = 0,0336 p3-5 = 0,006 p4-5 = 0,022
Vm2'	IgD+ CD38+ +	%	0,5 (0,2-1,5)	0,52 (1,1-1,5)	0,41 (0,02-0,1)	0,4 (0,04-1,06)	1,1 (0,6-1,6)	p1-3 = 0,046 p3-5 = 0,0002 p4-5 = 0,007
		кЛ/ мл	10,0 (3,6-19,0)	2,9 (3,4-15,8)	2,9 (0,9-3,5)	2,5 (0,84-7,4)	16,6 (7,4-22,9)	p1-3 = 0,037 p1-4 = 0,009 p3-5 = 0,0002 p4-5 = 0,006
Vm3+V m4	IgD- CD38+ ++	%	0,08 (0,05-0,2)	0,1 (0,05-0,16)	0,03 (0,004-0,09)	0,07 (0,02-0,1)	0,15 (0,1-0,2)	p1-3 = 0,003 p1-5 = 0,042 p2-3 = 0,027 p2-5 = 0,006 p3-5 < 0,0001 p4-5 = 0,017
		кЛ/ мл	1,4 (1,0-3,0)	1,0 (0,4-1,9)	0,7 (0,3-1,4)	0,6 (0,4-1,1)	2,1 (1,6-2,8)	p1-3 = 0,047 p2-5 = 0,005 p3-5 = 0,002 p4-5 < 0,0001
eVm5	IgD- CD38 +	%	1,2 (0,7-1,9)	1,0 (0,6-1,4)	0,9 (0,4-1,4)	0,5 (0,4-1,2)	1,0 (0,8-1,4)	p1-4 = 0,014 p4-5 = 0,015
		кЛ/ мл	18,0 (12,3-25,7)	9,9 (3,7-20,8)	9,6 (7,2-19,0)	6,0 (3,6-12,3)	13,8 (10,4-21,6)	p1-4 = 0,006 p3-5 = 0,001 p4-5 = 0,016

*Примечание:* % – процент содержания от общей популяции CD19+ лимфоцитов. СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести; КГ – контрольная группа.

На следующем этапе было выделено несколько субпопуляций В-клеток памяти (таблица 23).

**Таблица 23 – Содержание отдельных субпопуляций В-лимфоцитов, выявленных с использованием классификации, основанной на анализе ко-экспрессии IgD и CD27, у пациентов с черепно-мозговой травмой, Me (Q25; Q75)**

Популяция	Фенотип		Группа 1 (СТГ)	Группа 2 (УЛС)	Группа 3 (УСС)	Группа 4 (УТС)	Группа 5 (КГ)	Значимые различия (p)
«naive»	IgD+ CD27-	%	6,9 (4,5-12,5)	5,5 (3,6-9,3)	4,7 (1,1-7,0)	3,7 (1,8-8,7)	8,0 (6,6-11,0)	p2-5 = 0,02 p3-5 = 0,002 p4-5 = 0,015
		кЛ/мл	119,4 (61,1-162,4)	52,6 (32,7-110,6)	42,9 (16,1-94,4)	28,2 (13,4-105,4)	127,1 (72,1-150,9)	p1-4 = 0,029 p2-5 = 0,02 p3-5 = 0,007 p4-5 = 0,014
«unswitched»	IgD+ CD27+	%	1,7 (1,1-2,7)	1,4 (0,8-2,4)	0,9 (0,3-1,4)	0,8 (0,5-1,6)	1,4 (0,9-1,6)	p1-3 = 0,002 p1-4 = 0,006 p1-5 = 0,038 p2-3 = 0,036 p3-5 = 0,015 p4-5 = 0,034
		кЛ/мл	23,2 (17,1-30,4)	15,0 (8,8-24,3)	13,3 (3,5-18,8)	7,4 (5,4-25,3)	17,7 (12,4-24,4)	p1-5 = 0,043
«class-switched»	IgD- CD27+	%	1,9 (1,2-3,0)	1,8 (1,3-2,4)	1,5 (0,8-2,6)	1,2 (0,6-2,5)	1,8 (1,3-2,3)	
		кЛ/мл	25,4 (19,1-35,0)	19,8 (14,1-28,1)	16,5 (13,7-25,1)	15,4 (12,3-26,9)	23,8 (14,6-32,0)	p1-4 = 0,002 p3-4 = 0,003

*Примечание:* % – процент содержания от общей популяции CD19+ лимфоцитов; «naive» – «наивные» В-клетки памяти, «unswitched» – В-клетки памяти с «не переключенным» классом синтезируемых антител, «class-switched» – В-клетки памяти с переключенным классом синтезируемых антител; СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести; КГ – контрольная группа.

Окраска антителами против поверхностных молекул IgD и CD27 позволила отделить группу «наивных» клеток с фенотипом IgD+CD27- от трех разновидностей клеток памяти – клетки памяти с «непереключенным» классом синтезируемых антител («unswitched» IgD+CD27+), клетки памяти с переключенным классом синтезируемых антител («class-switched» memory cells, IgD-CD27+) и так называемые «дважды-негативные» клетки памяти (IgD-CD27-), а также циркулирующие клетки-предшественники плазматических клеток с фенотипом IgD-CD27++.

Нами было установлено достоверно сниженное абсолютное и относительное содержание «наивных» В-клеток во всех группах с ушибом головного мозга

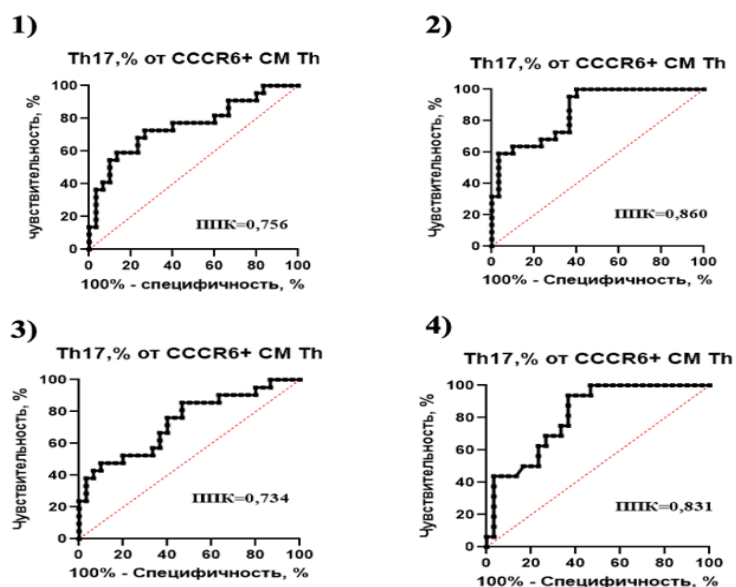


( $p < 0,05$ ). В субпопуляции В-клеток, «непереключивших» синтез антител, была выявлена тенденция к их повышенному уровню в 1-й группе (СТГ) ( $p = 0,038$ ), однако, в 3-й (УСС) ( $p = 0,015$ ) и 4-й группах (УТС) ( $p = 0,034$ ) выявлен достоверно пониженный их уровень. Однако абсолютное содержание было снижено только в 1-й группе (СТГ) ( $p = 0,043$ ).

Анализ пула В-клеток, «переключивших» синтез антител, не показал достоверных изменений в содержании ни в одной из групп пациентов с ЧМТ относительно группы контроля как в рамках абсолютных, так и относительных значений.

#### 4.3 – Клинико-диагностическое значение определения отдельных субпопуляций лимфоцитов у пациентов с черепно-мозговой травмой

Для определения информативности относительного содержания Th17 в периферической крови у пациентов с ЧМТ различной степени тяжести был проведен анализ кривых операционной характеристики (ROC-анализ) и построены характеристические ROC-кривые, а также вычислены ППК (рисунок 16).

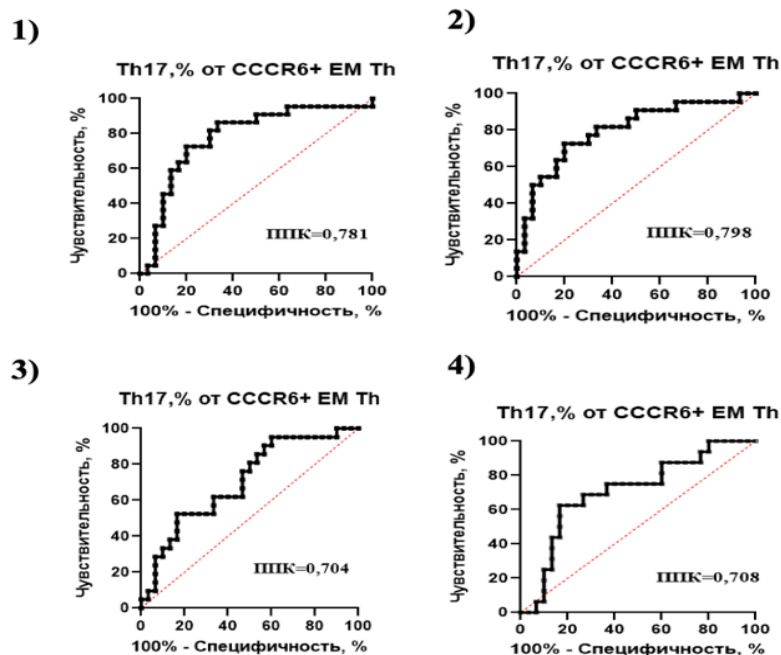


**Рисунок 16 – ROC-кривые, характеризующие показатели чувствительности и специфичности определения относительного содержания Th17 среди CCR6+ Th центральной памяти у пациентов с черепно-мозговой травмой**

*Примечание:* 1 – сотрясение головного мозга; 2 – ушиб легкой степени тяжести; 3 – ушиб средней степени тяжести; 4 – ушиб тяжелой степени тяжести.

Основные характеристики для Th17 среди общего пула СМ Th в образцах крови больных были следующие: у пациентов в 1-й группе (СТГ) чувствительность составила 77 %; специфичность 62 %; ППК=0,756; критерий > 35,35 % при  $p=0,0014$ ; у пациентов во 2-й группе (УЛС) чувствительность составила – 73 %; специфичность – 70 %; ППК=0,860; критерий > 40,8 % при  $p<0,0001$ ; у пациентов в 3-й группе (УСС) чувствительность составила 67 %; специфичность – 64 %; ППК=0,734; критерий > 36,6 % при  $p=0,0041$ ; у пациентов в 4-й группе (УТС) чувствительность составила 75 %; специфичность – 67 %; ППК=0,831; критерий > 40 % при  $p=0,0003$ .

Оценка значимости изменений уровня Th17 EM в периферической крови больных показала параметры, отображенные на *рисунке 17*.



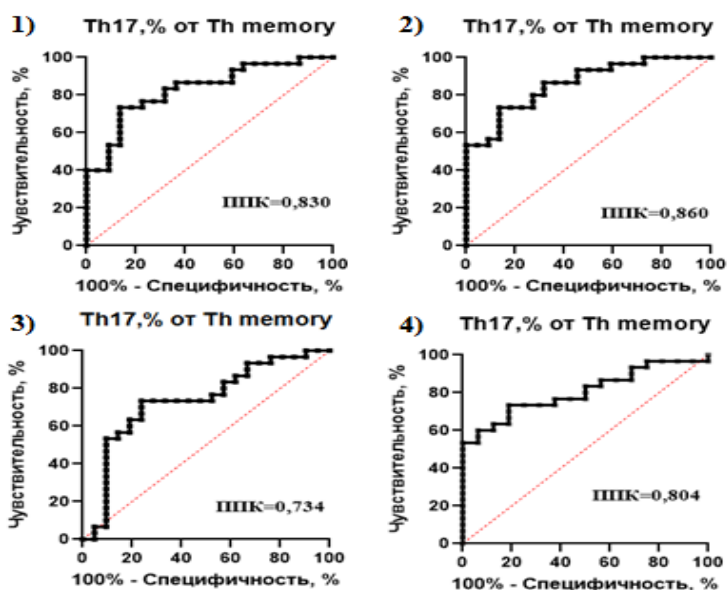
**Рисунок 17 – ROC-кривые, характеризующие показатели чувствительности и специфичности определения относительного содержания Th17 среди CCR6+ Th эффекторной памяти**

*Примечание:* 1 – сотрясение головного мозга; 2 – ушиб легкой степени тяжести; 3 – ушиб средней степени тяжести; 4 – ушиб тяжелой степени тяжести.

При этом у пациентов в 1-й группе (СТГ) чувствительность составила 82 %; специфичность – 70 %; ППК=0,781; критерий >54 % при  $p=0,0004$ ; у пациентов во 2-й группе (УЛС) чувствительность составила 77 %; специфичность – 70 %;

ППК=0,798; критерий  $> 54,4\%$  при  $p < 0,0002$ ; у пациентов в 3-й группе (УСС) чувствительность составила  $72\%$ ; специфичность –  $54\%$ ; ППК=0,704; критерий  $> 48,5\%$  при  $p = 0,013$ ; у пациентов в 4-й группе (УТС) чувствительность составила  $75\%$ ; специфичность –  $64\%$ ; ППК=0,708; критерий  $> 50,3\%$  при  $p = 0,0206$ .

Параметры для Th17 среди Th памяти (рисунок 18) в образцах периферической крови больных были следующие: у пациентов в 1-й группе (СТГ) чувствительность составила  $77\%$ ; специфичность –  $77\%$ ; ППК=0,830; критерий  $< 45,32\%$  при  $p < 0,0001$ ; у пациентов во 2-й группе (УЛС) чувствительность составила  $80\%$ ; специфичность –  $73\%$ ; ППК=0,860; критерий,  $< 47\%$  при  $p < 0,0001$ ; у пациентов в 3-й группе (УСС) чувствительность составила  $74\%$ ; специфичность –  $76\%$ ; ППК=0,734; критерий  $< 42\%$ ;  $p = 0,041$ ; у пациентов в 4-й группе (УТС) чувствительность составила  $74\%$ ; специфичность –  $81\%$ ; ППК=0,804; критерий  $< 41\%$ ;  $p = 0,0005$ .

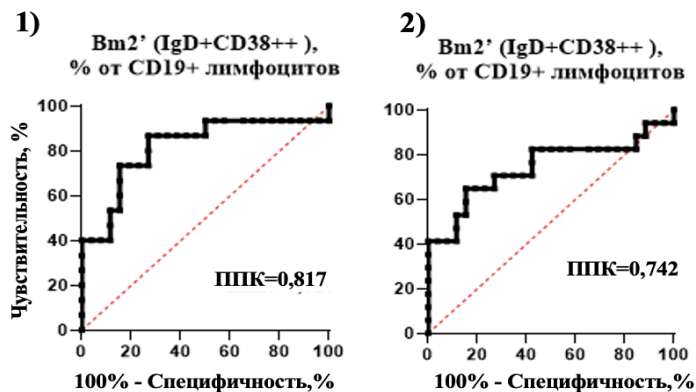


**Рисунок 18 – ROC-кривые, характеризующие показатели чувствительности и специфичности определения относительного содержания Th17 среди Th памяти**

*Примечание:* 1 – сотрясение головного мозга; 2 – ушиб легкой степени тяжести; 3 – ушиб средней степени тяжести; 4 – ушиб тяжелой степени тяжести.

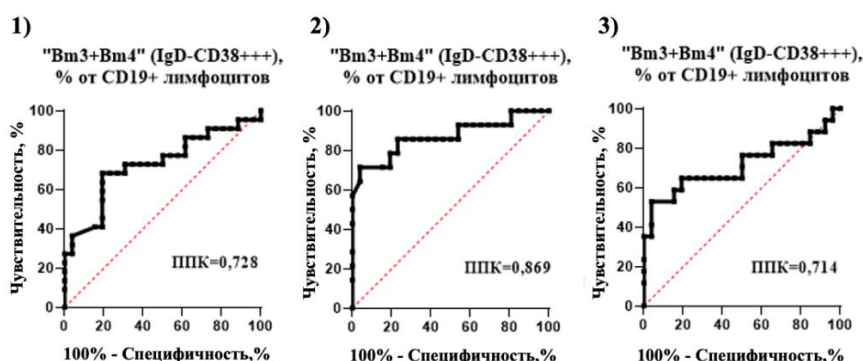
При оценке информативности отдельных субпопуляций лимфоцитов В-лимфоцитов в периферической крови больных установлено (рисунок 19), что в рамках  $Vm2'$  клеток с фенотипом  $IgD+CD38^{++}$  у пациентов в 3-й группе (УСС)

чувствительность составила 86 %; специфичность – 73 %; ППК=0,817; критерий  $< 0,749$  % при  $p=0,0002$ ; в 4-й группе (УТС) чувствительность составила 71 %; специфичность – 70 %; ППК=0,742; критерий  $< 0,858$  % при  $p=0,007$ .



**Рисунок 19 – ROC-кривые, характеризующие показатели чувствительности и специфичности определения относительного содержания  $Bm2'$  клеток (IgD+CD38++) у пациентов с ушибом средней и тяжёлой степени тяжести**  
Примечание: 1 – ушиб средней степени тяжести; 2 – ушиб тяжёлой степени тяжести.

Для « $Bm3+Bm4$ » клеток с фенотипом IgD-CD38+++ параметры были следующие (рисунок 20): у пациентов во 2-й группе (УЛС) чувствительность – 73 %; специфичность – 70 %; ППК=0,728; критерий  $< 0,130$  % при  $p=0,0062$ ; в 3-й группе (УСС) чувствительность составила 86 %; специфичность – 77 %; ППК=0,869; критерий  $< 0,117$  % при  $p<0,0001$ ; для пациентов 4-й группы (УТС) чувствительность – 71 %; специфичность – 54 %; ППК=0,714; критерий  $< 0,123$  % при  $p=0,0174$ .



**Рисунок 20 – ROC-кривые, характеризующие показатели чувствительности и специфичности определения относительного содержания « $Bm3+Bm4$ » (IgD-CD38+++)**

Примечание: 1 – ушиб легкой степени тяжести; 2 – ушиб средней степени тяжести; 3 – ушиб тяжёлой степени тяжести.

#### 4.4 – Роль отдельных субпопуляций лимфоцитов в прогнозировании когнитивных нарушений и исходов черепно-мозговой травмы

Выполнен анализ корреляционных взаимоотношений для оценки влияния изменений в субпопуляционном составе лимфоцитов на исход ЧМТ у пациентов и уровень когнитивных нарушений между основными субпопуляциями Т- и В-лимфоцитов в образцах периферической крови и результатами основных нейропсихологических тестов (MMSE, FAB, MoCA, Тест Галвестона) (таблица 24).

**Таблица 24 – Результаты корреляционного анализа уровней субпопуляционного состава Т- и В-лимфоцитов у пациентов с травмой головного мозга легкой степени тяжести и результатами выполнения нейропсихологических тестов**

Показатель		MMSE	FAB
Th17, % от Th CM	r	0,488	-0,455
	p	0,004	0,018
Vm1, кл/мкл	r	-0,510	
	p	0,0004	
unswitched IgD+CD27+ В-лимфоциты, кл/мкл	r		0,415
	p		0,045

*Примечание:* r – коэффициент корреляции Спирмена.

По результатам анализа установлена отрицательная корреляционная зависимость между относительным содержанием Th17 CM и результатами выполнения теста FAB ( $r=-0,455$ ;  $p=0,0018$ ) и положительная корреляционная взаимосвязь с результатами выполнения теста MMSE ( $r=0,488$ ;  $p=0,0047$ ).

Анализ гуморального звена иммунной системы показал, что между содержанием Vm1 клеток с фенотипом IgD+CD38- и показателями выполнения теста MMSE существует отрицательная корреляционная связь. Кроме этого, между показателями теста FAB и относительным содержанием клеток памяти с «непереключенным» классом синтезируемых антител («unswitched» IgD+CD27+) установлена положительная корреляционная связь.

Также актуальным остается вопрос о взаимосвязи изменений в субпопуляциях Т- и В-лимфоцитов и исходов ЧМТ, оценённых по стандартным

методикам с использованием оценочных шкал, в связи с чем проведён анализ взаимозависимости этих показателей (*таблица 25*).

**Таблица 25 – Результаты корреляционного анализа уровней субпопуляционного состава Т- и В- лимфоцитов у пациентов с черепно-мозговой травмой различной степени тяжести и исходами заболевания**

Показатель		Расширенная GOSE	mRS
Th EM, кл/мкл	г		-0,41
	р		0,033
Th2 EM, кл/мкл	г	0,473	
	р	0,022	
eVm5, кл/мкл	г	0,431	
	р	0,03	

*Примечание:* г – коэффициент корреляции Спирмена.

По результатам анализа были определены следующие корреляционные взаимосвязи:

– установлена достоверная положительная взаимосвязь между исходами по расширенной шкале ком Глазго и абсолютным содержанием Th2 EM и покоящимися клетками памяти Vm5;

– обнаружена отрицательная зависимость между исходами заболевания по модифицированной шкале Рэнкина (mRS) и абсолютным уровнем Th EM.

## Резюме

Таким образом, в остром периоде (в 1-е сутки после получения травмы) установлена CD3+ и CD3+CD4+ Т-лимфопения у пациентов с ушибом головного мозга, что указывают на повышенный риск присоединения гнойно-воспалительных осложнений. Сходные изменения обнаружены в популяции «наивных» Т-хелперов, популяции клеток способной распознавать большое количество новых антигенов, что необходимо для развития эффективного иммунного ответа при контакте с патогенами. Поэтому развитие анергии в рамках субпопуляции «наивных» Т-хелперов может свидетельствовать о развитии иммунологической недостаточности Т-клеточных ответов у пациентов, имеющих обширные повреждения головного мозга.

Результаты нашей работы указывают, что при ЧМТ различной степени тяжести происходило активное формирование пула «пластичных» Th17, как в рамках центральной, так и эффекторной памяти. Среди всех субпопуляций Th17 было выявлено понижение DP Th17 и «неклассических» Th17 у всех пациентов с ушибом головного мозга, однако по мере увелечения степени тяжести (4-я группа (УТС)) наблюдались изменения в виде повышения DN Th17 и «классических» Th17. Выявленные изменения свидетельствуют о том, что степень тяжести обуславливает формирование пула «пластичных» Th17, обладающих повышенной способностью к миграции во вторичные лимфоидные ткани и нервную ткань, а также к синтезу IFN- $\gamma$ , IL-12, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-23, как закономерному процессу в ответ на повреждение нервной ткани.

При этом необходимо отметить, что важным механизмом, определяющим исход заболевания, является популяция Treg, участвующая в индукции иммунологической толерантности. Баланс между противовоспалительными Treg и провоспалительными Th17 определяет дальнейшее поддержание или ограничение нейровоспаления. Установленные изменения в виде снижения пула «наивных» T регуляторных лимфоцитов с фенотипом CD3+CD4+CD25<sup>bright</sup>CD39<sup>+</sup> Treg, способных к продукции широкого спектра цитокинов, специфичных для Th1, Th2, Th17 свидетельствует о нарушении равновесия в иммунорегуляторных процессах. Возможно, что у пациентов с ушибом головного мозга имеет место нарушение формирования Treg как результат обширности повреждения ткани головного мозга.

В результате оценки гуморальных механизмов нейровоспаления были установлены достоверные изменения в виде пониженного уровня IgD/CD38 B-лимфоцитов у пациентов с ушибом головного мозга, что свидетельствует об истощении B-клеточного звена иммунной системы в ответ на утяжеление степени тяжести травмы.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ, ИЗЛОЖЕННЫМ В 4 ГЛАВЕ

*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, М.К.Серебрякова, 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 клинко-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: нейропсихологические 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 клиничко-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>.

## ГЛАВА 5 – СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ С ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

### 5.1 – Изменение содержания цитокинов в цереброспинальной жидкости пациентов в зависимости от степени тяжести черепно-мозговой травмы

В рамках исследования больных с травмой головного мозга различной степени тяжести по показаниям проводилась спинномозговая пункция. Сравнительный анализ был проведен с образцами цереброспинальной жидкости пациентов в 1-й группе (СТГ), что было связано с отсутствием у них структурных изменений, с одной стороны, а также с трудностями забора ЦСЖ у практически здоровых лиц как группы, не имеющей показаний для проведения данной медицинской манипуляции.

Изучение полученных данных позволило выявить, что увеличение степени тяжести травмы сопровождается нарастанием концентрации провоспалительных цитокинов в ЦСЖ в 1-е сутки после травмы (*таблица 26*).

Уровень IL-1 $\alpha$  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 группах (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 $\alpha$  достоверно превышала значения группы сравнения (1-я группа, СТГ) только 4 группе (УТС) (почти в 12 раз).

Концентрации цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-9, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-12 (p40), IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17A /CTLA8, IFN- $\alpha$ 2, IFN- $\alpha$ 2, TNF $\beta$ /Lymphotoxin- $\alpha$  (LTA) в группах оказались за пределами уровня детекции прибора.

Установлено, что 4-я группа (УТС) сопровождается 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.

Анализ ростовых факторов в ЦСЖ пациентов 2-й (УЛС), 3-й (УСС) и 4-й (УТС) группах 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).

Концентрации EGF, FGF-2/FGF-basic, TGF $\alpha$ , VEGF-A были за пределами уровня детекции прибора.

**Таблица 26 – Уровень цитокинов в цереброспинальной жидкости у пациентов с черепно-мозговой травмой различной степени тяжести**

Цитокины	Концентрация в ЦСЖ, пг/мл				p
	Группа 1 (СТГ)	Группа 2 (УЛС)	Группа 3 (УСС)	Группа 4 (УТС)	
<b>Интерлейкины и другие провоспалительные цитокины</b>					
IL-1 $\alpha$	9,3 (3,9-16,5)	15,7 (5,2-18,2)	51,3 (29,1-63,6)	73,9 (29,6-1747,0)	p <sub>1-3</sub> <0,0001 p <sub>1-4</sub> =0,0009
IL-6	2,5 (1,1-3,7)	19,59 (8,4-46,5)	103,6 (27,4-138,7)	2225,0 (872,3-3739)	p <sub>1-2</sub> = 0,011 p <sub>1-3</sub> <0,0001 p <sub>1-4</sub> <0,0001
IL-7	5,9 (3,4-7,2)	2,8 (1,63-4,0)	3,0 (1,9-5,5)	5,6 (1,7-11,7)	
IL-9	8,1 (7,0-9,5)	7,0 (5,0-8,9)	10,8 (8,1-11,3)	13,5 (3,5-14,6)	
IL-15	1,1 (0,8-1,4)	4,5 (0,2-9,7)	3,2 (0,2-10,2)	10,6 (3,88-46,42)	
IL-18	1,9 (0,6-6,6)	8,7 (6,3-12,6)	63,4 (19,6-65,2)	67,1 (39,8-142,5)	p <sub>1-2</sub> = 0,035 p <sub>1-3</sub> = 0,010 p <sub>1-4</sub> = 0,008
IL-27	247,7 (147,7-360,8)	446,7 (124,5-517,8)	418,5 (185,0-557,7)	470,6 (247,8-618,8)	
TNF $\alpha$	10,8 (0,4-15,6)	17,1 (6,0-21,8)	12,4 (8,4-56,4)	131,6 (22,5-3143,0)	p <sub>1-4</sub> = 0,025
<b>Противовоспалительные цитокины</b>					
IL-1 RA	3,4 (0,3- 4,1)	28,4 (19,6-37,6)	18,6 (2,3-46,0)	74,3 (70,0-1092,0)	p <sub>1-2</sub> = 0,035 p <sub>1-4</sub> = 0,025
IL-10	8,9 (3,2-19,2)	14,7 (5,2-14,7)	7,6 (5,3-30,4)	108,5 (27,3-1655,)	p <sub>1-4</sub> = 0,001
<b>Ростовые факторы</b>					
Flt3 Ligand	2,6 (0,6-4,9)	3,9 (1,0-8,7)	3,7 (1,3-8,7)	7,7 (4,1-28,3)	p <sub>1-4</sub> = 0,024
GM-CSF	20,5 (16,3-25,3)	3,5 (2,1-9,8)	29,0 (9,8-53,5)	27,0 (17,7-57,5)	
G-CSF	10,6 (6,0-21,0)	80,0 (17,1-201,6)	62,2 (27,8-252,2)	304,2 (60,2-936,0)	p <sub>1-3</sub> = 0,009 p <sub>1-4</sub> = 0,006
PDGF-AA	26,0 (9,4-47,6)	25,4 (6,1-132,5)	61,3 (26,3-114,0)	66,1 (26,3-89,9)	p <sub>1-3</sub> = 0,042 p <sub>1-4</sub> = 0,044
PDGF-AB/BB	137,2 (75,1-141,8)	100,5 (75,1-141,8)	141,8 (75,1-330,1)	110,1 (91,1-170,5)	
<b>Другие растворимые факторы</b>					
sCD40L	5,4 (3,8-29,4)	50,2 (22,1-72,7)	68,0 (17,7-110,1)	103,0 (55,8-145,5)	p <sub>1-2</sub> = 0,040 p <sub>1-3</sub> = 0,002 p <sub>1-4</sub> =0,0008

*Примечание:* СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести.

По результатам оценки концентрации хемокинов в ЦСЖ была установлена тенденция к повышению с увеличением степени тяжести пациентов (таблица 27). Обращает на себя факт повышения CXCL9/MIG у всех пациентов с травмой головного мозга ( $p < 0,05$ ) в отличие от таковых в концентрациях CCL4/MIP-1 $\beta$ , CXCL1/GRO, CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, значимое повышение которых установлено только в 4-й группе (УТС).

Так, согласно полученным данным, в 4-й группе пациентов (УТС) уровень CCL2/MCP-1 был повышен почти в 3 раза, CCL4/MIP-1 $\beta$  – 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).

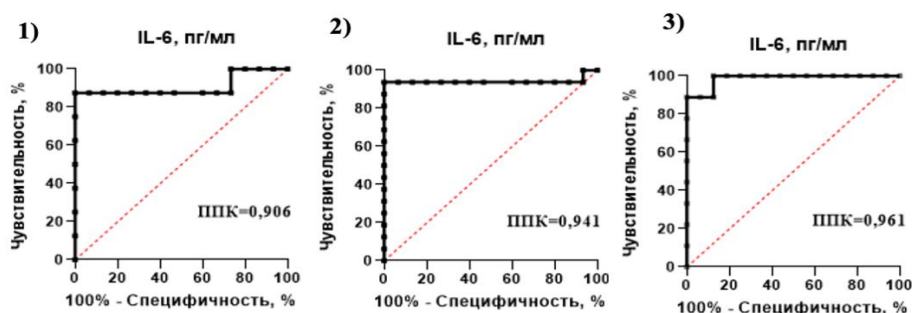
**Таблица 27 – Уровень цитокинов/хемокинов в цереброспинальной жидкости у пациентов с черепно-мозговой травмой различной степени тяжести**

Хемокины	Концентрация в ЦСЖ, пг/мл				p
	Группа 1 (СТГ)	Группа 2 (УЛС)	Группа 3 (УСС)	Группа 4 (УТС)	
СС-хемокины					
CCL2/MCP-1	1306,0 (1027,0-1594,0)	1714,0 (1349,0-6325,0)	1694,0 (767,0-4624,0)	3618,0 (994,6-19088,0)	p1-4 = 0,010
CCL3/MIP-1 $\alpha$	33,27 (29,4-38,5)	35,0 (28,1-43,0)	34,4 (29,4-38,0)	35,0 (29,0-49,7)	
CCL4/MIP-1 $\beta$	4,6 (3,8-6,3)	5,8 (3,8-12,8)	7,7 (4,2-13,4)	49,0 (5,7-1557,0)	p1-4 = 0,0084
CCL22/MDC	9,3 (7-12,4)	11,7 (8,82-12)	10,2 (6,3-32,5)	11,6 (6,5-21,5)	
СХС-хемокины					
CXCL1/GRO	5,43 (11,9-2,11)	20,3 (10,7-31,1)	32,2 (2,28-181,3)	55,8 (38,0-532,0)	p1-4 = 0,0013
CXCL8/IL-8	44,2 (18,7-64,8)	154,0 (18,2-227,5)	59,0 (39,6-316,4)	154,5 (85,0-1875,0)	p1-4 = 0,0007
CXCL9/MIG	18,4 (8,2-53,3)	96,8 (25,3-514,5)	117,5 (38,3-212,4)	164,5 (122,6-1108,0)	p1-2 = 0,037 p1-3 = 0,002 p1-4 = 0,0001
CXCL10/IP-10	393,1 (272,3-592,0)	679 (248,0-1125,0)	911,4 (382,7-1366,0)	1172,0 (495,4-4000,0)	p1-3 = 0,017 p1-4 = 0,040

*Примечание:* СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести.

## 5.2 – Клинико-диагностическое значение определения концентрации цитокинов у пациентов с черепно-мозговой травмой

Для определения информативности найденных изменений был проведен ROC анализ цитокинов у пациентов с ушибом легкой, средней и тяжёлой степени тяжести. Показатели анализа информативности изменений уровня ИЛ-6 представлены на рисунке 21.

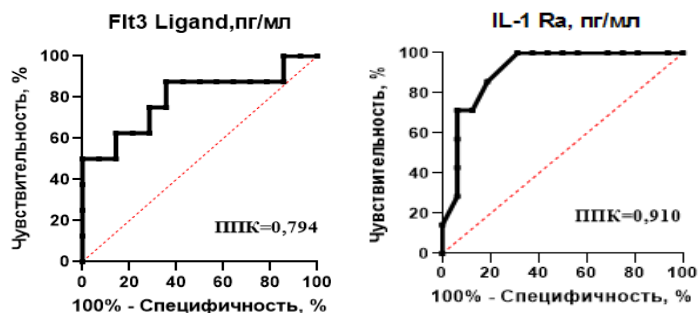


**Рисунок 21 – ROC-кривые, характеризующие показатели чувствительности и специфичности определения ИЛ-6 в цереброспинальной жидкости у пациентов с черепно-мозговой травмой**

*Примечание:* 1 – ушиб легкой степени тяжести; 2 – ушиб средней степени тяжести; 3 – ушиб тяжёлой степени тяжести.

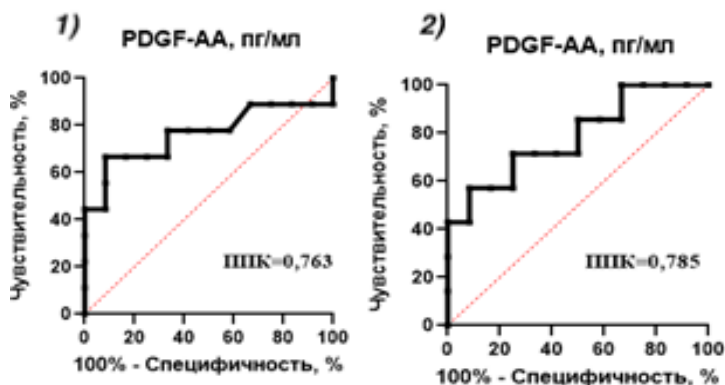
Среди них: чувствительность – 87,5 %; специфичность – 100%; ППК=0,906; критерий >11,4 пг/мл при  $p=0,0117$  для 2-й группы (УЛС); чувствительность – 94 %; специфичность – 100 %; ППК=0,941; критерий > 17,33 пг/мл при  $p < 0,0001$  для 3-й группы (УСС); чувствительность – 100 %; специфичность – 87,5 %; ППК=0,961; критерий > 241 пг/мл при  $p < 0,0001$  для 4-й группы (УТС).

В 4-й группе пациентов (УТС) информативность для провоспалительного цитокина Flt3 Ligand и противовоспалительного цитокина IL-1RA (рисунок 22) составила: чувствительность – 75 %; специфичность – 71 %; ППК=0,794 для Flt3 Ligand; критерий > 4,3 пг/мл;  $p = 0,024$ ; чувствительность – 86 %; специфичность – 82 %; ППК=0,910; критерий >23,4 пг/мл;  $p = 0,0251$  для IL-1RA.



**Рисунок 22 – ROC-кривые, характеризующие показатели чувствительности и специфичности определения Flt3 Ligand и IL-1RA в цереброспинальной жидкости пациентов с ушибом тяжёлой степени тяжести**

Информативность для ростового фактора PDGF-AA (рисунок 23) составила: чувствительность – 78 %; специфичность – 67 %; ППК=0,763; критерий >30,77 пг/мл при  $p=0,0427$  для 3-й группы (УСС); чувствительность – 72 %; специфичность – 75 %; ППК=0,785; критерий > 29 пг/мл при  $p= 0,0022$  для 4-й группы (УТС).

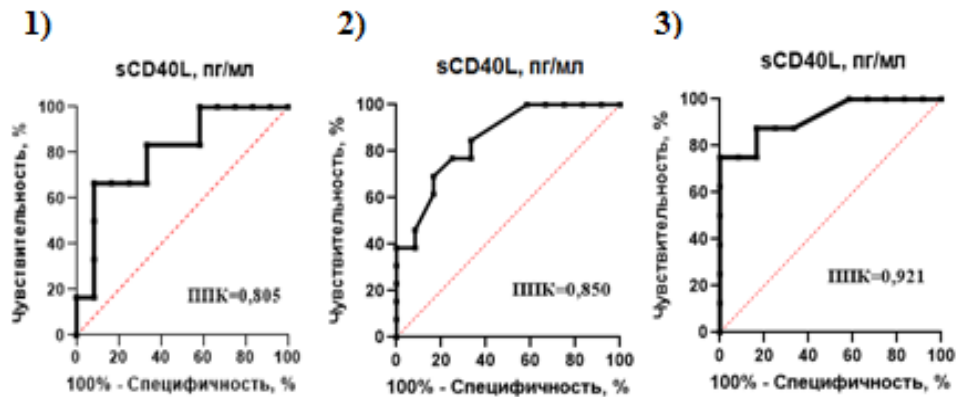


**Рисунок 23 – ROC-кривые, характеризующие показатели чувствительности и специфичности определения ростового фактора PDGF-AA в цереброспинальной жидкости у пациентов с черепно-мозговой травмой**  
Примечание: 1 – ушиб средней степени тяжести; 2 – ушиб тяжёлой степени тяжести.

Информативность для цитокина sCD40L (рисунок 24) составила: чувствительность – 83 %; специфичность – 67 %; ППК=0,805; критерий >16,6 пг/мл при  $p=0,0409$  для пациентов 2-й группы (УЛС); чувствительность – 77 %; специфичность – 75 %; ППК=0,850; критерий > 29 пг/мл при  $p= 0,0019$  для



пациентов 3-й группы (УСТ); чувствительность – 87,5 %; специфичность – 84 %; ППК=0,921; критерий  $> 37,8$  пг/мл при  $p=0,0008$  для пациентов 4-й группы (УТС).

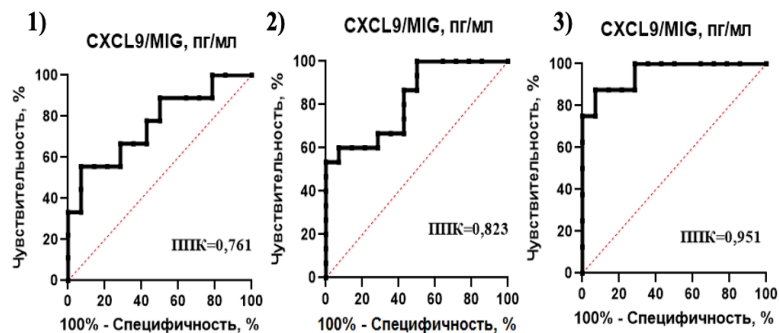


**Рисунок 24 – ROC-кривые, характеризующие показатели чувствительности и специфичности определения sCD40L в цереброспинальной жидкости у пациентов с черепно-мозговой травмой**

*Примечание:* 1 – ушиб легкой степени тяжести; 2 – ушиб средней степени тяжести; 3 – ушиб тяжелой степени тяжести.

Также был проведён анализ диагностической значимости хемокинов в ЦСЖ у пациентов с ушибом головного мозга различной степени тяжести.

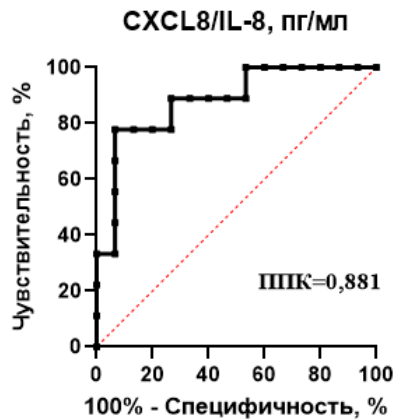
Для CXCL9/MIG были определены следующие результаты (*рисунок 25*): чувствительность – 78 %; специфичность – 67 %; ППК=0,761; критерий  $>27$  пг/мл при  $p=0,0371$  во 2-й группе (УЛС); чувствительность – 67 %; специфичность – 64 %; ППК=0,850; критерий  $> 43,1$  пг/мл при  $p=0,0371$  в 3-й группе (УСС); чувствительность – 87 %; специфичность – 93 %; ППК=0,951; критерий  $>86,22$  пг/мл при  $p=0,0001$  в 4-й группе (УТС).



**Рисунок 25 – ROC-кривые, характеризующие показатели чувствительности и специфичности определения хемокина CXCL9/MIG в цереброспинальной жидкости у пациентов с черепно-мозговой травмой**

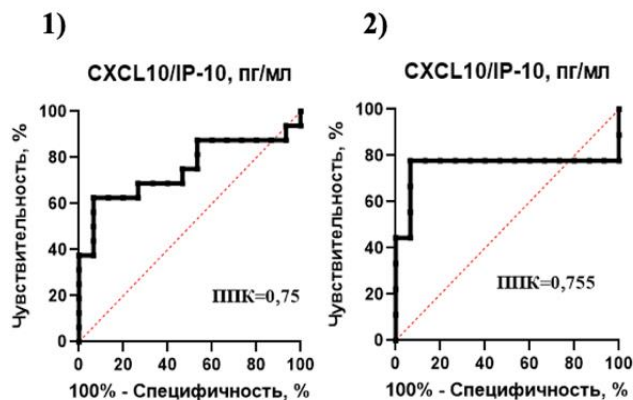
*Примечание:* 1 – ушиб легкой степени тяжести; 2 – ушиб средней степени тяжести; 3 – ушиб тяжелой степени тяжести.

Для хемокина CXCL8/IL-8 (рисунок 26) информативность составила: чувствительность – 88 %; специфичность – 73 %; ППК=0,881; критерий >59,43 пг/мл при  $p=0,0007$  для пациентов 4-й группы (УТС).



**Рисунок 26 – ROC-кривая показателей чувствительности и специфичности определения хемокина CXCL8/IL-8 в цереброспинальной жидкости пациентов с ушибом тяжелой степени тяжести**

Для хемокина CXCL10/IP-10 (рисунок 27) в 3-й группе (УСС) информативность составила: чувствительность – 75 %; специфичность – 54 %; ППК=0,75; критерий >394,8 пг/мл при  $p=0,0171$ ; в 4-й группе (УТС) чувствительность – 78 %; специфичность – 87 %; ППК=0,755; критерий >717,6 пг/мл при  $p=0,0404$ .



**Рисунок 27 – ROC-кривые показателей чувствительности и специфичности определения ростового фактора CXCL10/IP-10 в цереброспинальной жидкости у пациентов с черепно-мозговой травмой**

*Примечание:* 1 – ушиб средней степени тяжести; 2 – ушиб тяжелой степени тяжести.

Кроме определения абсолютных величин уровня цитокинов в ЦСЖ и их диагностической значимости, мы проанализировали их взаимосвязь с результатами шкал, оценивающих исходы заболевания.

Сопоставление IL-6 с данными по расширенной шкале ком Глазго позволил установить обратную корреляционную зависимость ( $r=-0,531$ ;  $p<0,001$ ), при этом концентрация sCD40L имела прямую корреляционную связь с исходами по расширенной шкале Рэнкина ( $r=0,401$ ;  $p=0,020$ ).

### Резюме

Анализ содержания цитокинов и хемокинов в ЦСЖ позволил установить тенденцию к нарастанию уровня провоспалительных цитокинов с увеличением степени тяжести, что является маркером развития нейровоспаления. Результаты были подтверждены установленными корреляционными взаимосвязями с исходами заболевания и степенью демиелинизации.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ, ИЗЛОЖЕННЫМ В 5 ГЛАВЕ

#### *Научные публикации в изданиях, рецензируемых ВАК:*

1. 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-2).

#### *Публикации в других изданиях:*

2. 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>.

## ГЛАВА 6 – РЕЗУЛЬТАТЫ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 6.1 – Результаты исследования цереброспинальной жидкости на наличие герпетической инфекции у пациентов с черепно-мозговой травмой различной степени тяжести

Был проведён анализ ЦСЖ на наличие ДНК вирусов простого герпеса 1 и 2 типа (HSV I/II), вируса герпеса 7 типа (HHV 7) и Varicella Zoster вируса (VZV).

По результатам исследования ДНК, вирус был обнаружен у пациентов, имеющих обширное повреждение головного мозга, при этом у 2-х пациентов с неблагоприятным (летальным) исходом в 4-й группе (УТС) была обнаружена ДНК вирусов HSV I/II и вируса HHV 7 (*таблица 28*).

**Таблица 28 – Результаты качественного анализа наличия ДНК герпес-вирусов в цереброспинальной жидкости у пациентов с черепно-мозговой травмой различной степени тяжести (количество случаев)**

ДНК вирусов	Группа 1 (СТГ)	Группа 2 (УЛС)	Группа 3 (УСС)	Группа 4 (УТС)
HSV I/II	0	0	2	2
HHV 7	0	0	1	1
VZV	0	0	0	0

*Примечание:* Данные представлены в виде абсолютного количества пациентов; СТГ – сотрясение головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести.

С учётом того, что у части больных был выявлен неблагоприятный исход течения заболевания, нами был проведён сравнительный анализ между результатами наличия ДНК герпес-вирусов и концентрацией цитокинов в ЦСЖ, что позволило выявить положительную корреляционную зависимость с провоспалительным цитокином IL-6 (значение коэффициента Спирмена составило  $r=0,557$  при  $p=0,002$ ), с хемокином CXCL9/MIG (показатели составили  $r=0,414$  при  $p=0,003$ , а также с хемокином CXCL10/IP-10 ( $r=0,416$  при  $p=0,002$ ). Это даёт нам

основание предположить взаимосвязь между персистенцией или заносом вируса герпеса при ЧМТ и исходом заболевания. Данное предположение требует дополнительных исследований, в том числе выделения ДНК герпес-вирусов у большего количества пациентов, получивших ЧМТ.

## **6.2 – Результаты бактериологического исследования цереброспинальной жидкости**

Исследование ЦСЖ является одним из этапов диагностики бактериальных менингитов. Проведенные исследования позволили предположить нарастание степени тяжести течения заболевания при наслоении Гр- бактериальной флоры, что часто является прогностически неблагоприятным признаком [131, 133]. У пациентов в 3-й (УСС) и 4-й (УТС) группах наблюдалась картина присоединения интракраниальных гнойно-воспалительных осложнений, однако по результатам исследования ЦСЖ в лаборатории при больнице не было обнаружено патогена, поэтому было проведено повторное бактериологическое исследование ЦСЖ. Результаты микроскопического исследования и посева на соответствующих питательных средах представлены в *таблице 29*.

**Таблица 29 – Результаты бактериологического исследования цереброспинальной жидкости у пациентов с черепно-мозговой травмой**

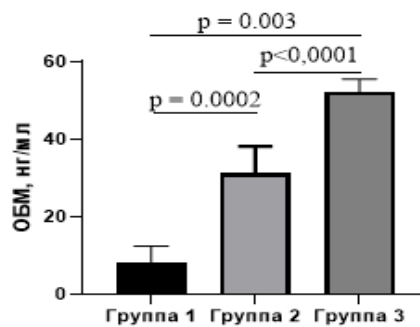
Микробиологическая флора	Группа 3 (УСС)	Группа 4 (УТС)
Выявленные методом микроскопии	5 (4 Гр+ кокки; 1 Гр- палочки)	3 (Гр- палочки)
Выявленные методом посева на питательную среду	2 (Staphylococcus aureus)	1 (Acinetobacter spp.)

*Примечание:* Данные представлены в виде абсолютного количества пациентов; Количество микроорганизмов во всех пробах не превышало  $1 \cdot 10^3$ ; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести.

### 6.3 – Характеристика уровня основного белка миелина в цереброспинальной жидкости у пациентов с черепно-мозговой травмой различной степени тяжести

Для оценки степени демиелинизации был проведён анализ уровня основного белка миелина (ОБМ) в ЦСЖ у пациентов с ушибом головного мозга лёгкой, средней и тяжёлой степеней тяжести. 1-я группа (СТГ) была исключена в связи с отсутствием структурных повреждений, способных привести к появлению нейроспецифических белков в ЦСЖ.

С возрастанием тяжести пациентов наблюдается нарастание концентрации ОБМ в ЦСЖ. Статистически значимые отклонения от нормы ( $>1,0$  нг/мл) обнаружены у больных всех групп. У пациентов во 2-й группе (УЛС) – 6,72 нг/мл (5,0-9,7), в 3-й группе (УСС) – 30,9 нг/мл (23,8-37,7) и 51,8 нг/мл (48,6-55,4)– в 4-й группе (УТС) (рисунок 28).



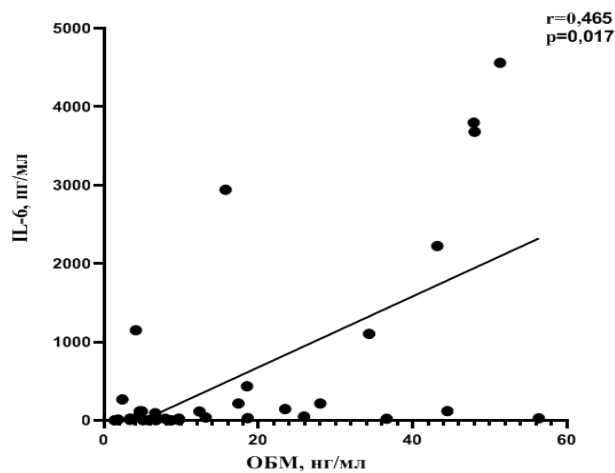
**Рисунок 28 – Характеристика содержания основного белка миелина в цереброспинальной жидкости у пациентов с ушибом головного мозга различной степени тяжести**

*Примечание:* Группа 1 – ушиб лёгкой степени тяжести; Группа 2 – ушиб средней степени тяжести; Группа 3– ушиб тяжёлой степени тяжести.

Основной белок миелина является специфическим структурным компонентом оболочек нейронов, который необходим для миелинизации олигодендроцитов и поддержания структуры миелина. Обнаружение основного белка миелина в цереброспинальной жидкости является чувствительным маркером деградации миелина. Деградация миелина является признаком и других иммуновоспалительных неврологических заболеваний (рассеянный склероз,

оптикомиелит), а также возможна при миелопатии, лейкодистрофии, лейкоэнцефалопатии и нейроинфекциях.

При анализе взаимоотношений между уровнем ОБМ и ИЛ-6 (рисунок 29) в группе обследованных больных с ушибом головного мозга различной степени тяжести (2-я, 3-я, 4-я группа) была выявлена прямая корреляционная связь ( $r=0,465$ ;  $p=0,017$ ). Данные результаты отражали степень воспаления и процесса нейродегенерации.



**Рисунок 29 – Корреляционная зависимость между концентрацией основного белка миелина (нг/мл) и ИЛ-6 (пг/мл) у пациентов ушибом головного мозга**

*Примечание:* r – коэффициент корреляции Спирмена; ОБМ - основной белок миелина.

Кроме оценки абсолютных величин уровня цитокинов и ОБМ в ЦСЖ, мы проанализировали взаимосвязь между концентрацией ОБМ и результатами выполнения тестов, направленных на оценку когнитивного статуса, у пациентов с черепно-мозговой травмой (ЧМТ) 1-й (СТГ) и 2-й группах (УЛС); проведение полного нейропсихологического обследования пациентов 3-й (УСС) и 4-й (УТС) группах было затруднено, так как пациенты были не в ясном сознании (таблица 30).

Была установлена отрицательная корреляционная связь с результатами выполнения нейропсихологического тестирования (FAB, MoCA) и концентрацией ОБМ в ЦСЖ.

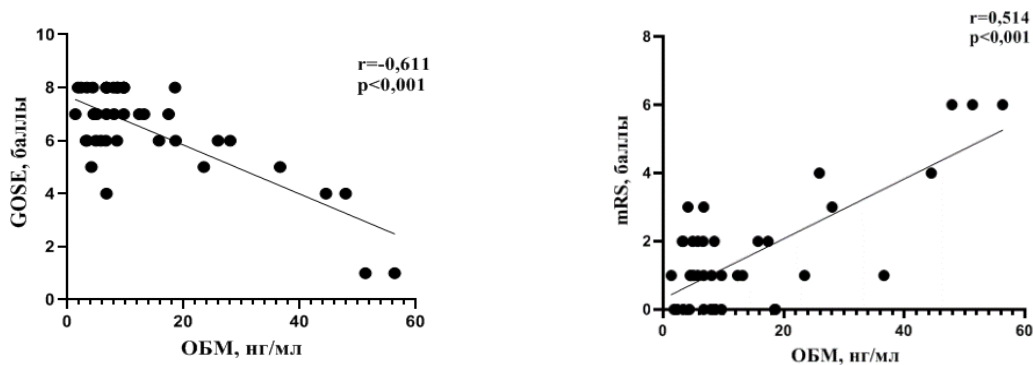
**Таблица 30 – Коэффициент корреляции у пациентов с черепно-мозговой травмой легкой степени тяжести и концентрацией основного белка миелина**

Показатель		FAB	MoCA
Основной белок миелина	r	-0,41	-0,44
	p	0,006	0,032

*Примечание:* r – коэффициент корреляции Спирмена.

С учетом разных исходов заболевания был проведён их сравнительный анализ с концентрацией ОБМ.

По результатам корреляционного анализа было установлено (рисунок 30), что между уровнем ОБМ и исходами по расширенной шкале ком Глазго существует отрицательная корреляционная зависимость ( $r=-0,611$ ;  $p<0,001$ ), а между исходами заболевания по модифицированной шкале Рэнкина (mRS) – положительная корреляционная зависимость ( $r=0,514$  при  $p < 0,001$ ).



**Рисунок 30 – Корреляционная зависимость между концентрацией основного белка миелина (нг/мл) и исходами черепно-мозговой травмы**

*Примечание:* r – коэффициент корреляции Спирмена; ОБМ–основной белок миелина; GOSE – расширенная шкала исходов Глазго; mRS – модифицированные шкалы Рэнкина.

#### **6.4 – Результаты определения состояния проницаемости гематоэнцефалического барьера**

Для оценки целостности ГЭБ был определён уровень альбумина (г/л) в биологических жидкостях (в ЦСЖ и сыворотке крови) с дальнейшим расчётом интегрального коэффициента проницаемости альбумина (QAlb) по формуле, представленной в разделе 2.2.9. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона [Me (Q0,25-Q0,75)].



Увеличение данного коэффициента отражает степень нарушения защитной функции ГЭБ.

Из данных, приведенных в *таблице 31*, очевидно, что QAlb имеет достоверно повышенные значения у пациентов в 3-й (УСС) и 4-й группах (УТС) по сравнению с результатами, полученными у пациентов в 1-й группе (СТГ).

Данное обстоятельство позволяет проследить тенденцию к повышению проницаемости ГЭБ с увеличением тяжести повреждения головного мозга, что, безусловно, отрицательно сказывается на течении заболевания и его прогнозах.

**Таблица 31– Показатели коэффициента проницаемости альбумина у пациентов с черепно-мозговой травмой**

Показатель	1 группа (Группа сравнения)	2 группа (УЛС)	3 группа (УСС)	4 группа (УТС)	Значимые различия (p)
Q (Alb)	21,7 (18,8-21,0)	21,4 (19,26-23,7)	29,8 (26,3-35,5)	50,8 (43,0- 87,0)	p <sub>1-3</sub> =0,014 p <sub>1-4</sub> = 0,001

*Примечание:* Группа сравнения – пациенты с сотрясением головного мозга; УЛС – ушиб легкой степени тяжести; УСС – ушиб средней степени тяжести; УТС – ушиб тяжелой степени тяжести.

### Резюме

Механизмы появления в цереброспинальной жидкости Gr+ кокков, Gr- палочек, вирусов герпеса I/II типа, HHV 7 нуждаются в детальном изучении, так как найденные изменения могут являться следствием эндогенной бактериемии и вирусемии с последующей транслокацией в головной мозг в результате повреждения ГЭБ или являться следствием обострения персистирующей инфекции. Полученные результаты нуждаются в дальнейшем детальном изучении.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ, ИЗЛОЖЕННЫМ В 6 ГЛАВЕ

1. 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>.

## **ГЛАВА 7 – РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА НАРУШЕНИЙ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ, РАЗВИТИЯ ГНОЙНО- ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ И НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ИСХОДОВ ЗАБОЛЕВАНИЯ**

Проведенные неврологические, нейропсихологические и лабораторные методы исследования позволили разработать модели ранней диагностики когнитивных нарушений, риска развития гнойно-воспалительных осложнений и риска неблагоприятных исходов заболевания. Ранняя диагностика представляет собой определение специфических показателей в остром периоде заболевания до развития клиники данных нарушений.

Нами был проведен сравнительный анализ субпопуляций Т- и В-лимфоцитов в периферической крови и цитокинов/хемокинов в ЦСЖ между группами пациентов, имеющих нарушение когнитивных функций и без них, группами с благоприятным и неблагоприятным исходом заболевания, группами пациентов, имеющих интракраниальные гнойно-воспалительные осложнения и без таковых, однако в таблицах представлены только статистически значимые различия между группами.

### **7.1 – Прогнозирование риска развития когнитивных нарушений**

Для оценки риска когнитивных нарушений нами были выделены 2 группы: пациенты, у которых были выявлены когнитивные нарушения (группа КГН), и пациенты с ЧМТ без когнитивных нарушений (группа без КГН). В выделенных группах проведен сравнительный анализ иммунологических показателей (*таблица 32*).

**Таблица 32 – Анализ иммунологических показателей у пациентов с выявленными когнитивными нарушениями и у пациентов с черепно-мозговой травмой без когнитивных нарушений, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

Показатель	1 группа (КГН) (n=27)	2 группа (без КГН) (n=28)	P
Th, кл/мкл	830,0 (712,6 - 948,9)	568,7 (374,5 - 762,9)	0,020
Наивные Th от CD3+CD4+, кл/мкл	202,8 (107,2 -283,2)	59,0 (27,0 -188,0)	0,004
Th17 от CD3+CD4+, кл/мкл	27,0 (24,6-29,3)	36,4 (33,0- 39,7)	<0,001
sCD40L, пг/мл	8,7 (5,4 - 45,7)	120,0 (68,2 - 134,1)	0,017
CXCL10/IP-10, пг/мл	572,9 (300,2 - 1157,8)	378,1 (194,1 - 1312,1)	0,026
CXCL9/MIG, пг/мл	43,1 (20,9 - 117,4)	134,4 (96,8 - 301,7)	0,008
PDGF-AA, пг/мл	11,3 (4,6 -26,3)	25,5 (12,1 - 85,1)	0,024
Flt3 Ligand, пг/мл	4,1 (1,0 - 7,2)	25,1 (4,502 - 32,2)	0,041

*Примечание:* КГН – когнитивные нарушения.

С помощью математико-статистических методов с отбором предикторов по принципу пошагового исключения на основании статистики Вальда производился расчет отношений шансов/рисков развития когнитивных нарушений (*таблица 33*). В ходе анализа были выявлены показатели, имеющие достоверно значимые различия в выделенных группах, которые могут интерпретироваться как факторы развития умеренных когнитивных нарушений. К таким показателям относится абсолютный уровень наивных Т-хелперов (naive Th) и Th17 типа от CD3+CD4+ Т-хелперов, концентрации ОБМ, sCD40L, Flt3 Ligand, IL-6, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, PDGF-AA ( $p < 0,05$ ). С учётом полученных результатов для определенных переменных, в наибольшей степени связанных с развитием когнитивных нарушений (КГН), была создана логистическая регрессионная модель (*рисунок 31*).

**Таблица 33 – Основные факторы риска, ассоциированные с развитием умеренных когнитивных нарушений у пациентов с черепно-мозговой травмой**

Параметры	ОШ [95% ДИ]	Уровень значимости
CXCL10/IP-10 в цереброспинальной жидкости	0,927 [0,864 - 0,994]	0,034
Th1 от CD3+CD4+ в периферической крови	0,537 [0,291- 0,991]	0,047
sCD40L в цереброспинальной жидкости	1,123 [1,031-1,223]	0,008

*Примечание:* ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал.

Формула расчета риска развития когнитивных нарушений согласно полученной регрессионной модели имеет следующий вид:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-x}} \times 100\% \quad (2)$$

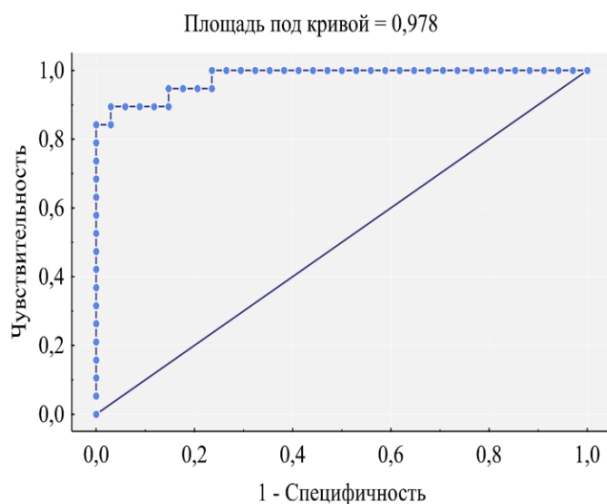
$$X = -2,725 - 0,076 \times \frac{CXCL10/IP-10}{100} - 0,622 \times Th1 + 0,116 \times sCD40L$$

**Рисунок 31 – Модель прогноза вероятности развития когнитивных нарушений**

*Примечание:* e (число Эйлера)=2.7182818, P – значение функции вероятности.

Значение  $P > 50\%$  позволяет ожидать развитие когнитивных нарушений.

Полученная модель является статистически значимой (Хи-квадрат Вальда  $p=0,037$ ), хорошо согласуется с исходными данными (Тест Хосмера-Лемешова  $p=0,967$ ), имеет высокую информативность (критерий Нэйджелкерка  $R^2=84\%$ ), чувствительность (89,5 %) и специфичность (94,1 %) (рисунок 32).



**Рисунок 32 – ROC-кривая логистической регрессионной модели прогнозирования когнитивных нарушений у пациентов с ЧМТ**

## **7.2 – Прогнозирование риска развития интракраниальных инфекционно-воспалительных осложнений у пациентов с черепно-мозговой травмой**

Для оценки вероятности присоединения инфекционных осложнений были проанализированы пациенты в зависимости от наличия или отсутствия интракраниальных гнойно-воспалительных осложнений в ходе стационарного лечения. Пациенты были разделены на две группы: 1-я группа (ОГВО) – 96 пациентов (87 %), у которых интракраниальные гнойно-воспалительные осложнения отсутствовали, 2-я группа (ГВО) – 14 пациентов (13 %), у которых в ходе стационарного лечения были выявлены интракраниальные гнойно-воспалительные осложнения (10 пациентов – менингит; 1 пациент – менингоэнцефалит, 2 пациента – абсцесс мозга; 1 пациент – венитрикулит). Для оценки возможного влияния иммунологических показателей на риск развития интракраниальных гнойно-воспалительных осложнений был проведен сравнительный анализ иммунологических показателей в выделенных группах (*таблица 34*). При наличии осложнений были отмечены статистически значимо более высокие показатели ОБМ, sCD40L, Flt3 Ligand, IL-6, а также достоверно более низкие показатели общей популяции Т-хелперов CD3+CD4+, наивных Т-

хелперов (Naive Th) CD3+CD4+ ( $p < 0,05$ ). С помощью математико-статистических методов производился расчет отношений шансов/рисков присоединения гнойно-воспалительных осложнений с отбором предикторов по принципу пошагового исключения на основании статистики Вальда (таблица 35).

**Таблица 34 – Сравнительный анализ иммунологических показателей, Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ )**

Показатель	1-ая группа (ОГВО) (n=96)	2-я группа (ГВО) (n=14)	P
Th от CD3+CD4+, кл/мкл	204,0 (103,3-289,7)	73,8 (25,6-163,6)	0,007
Наивные Th от CD3+CD4+, кл/мкл	391,5 (329,1- 453,9)	271,7 (167,4- 375,9)	0,049
Основной белок миелина, пг/мл	5,7 (3,4 -12,4)	17,4 (13,2 - 44,5)	0,002
IL-6, пг/мл	25,3 (4,7 -179,2)	118,0 (43,7 - 636,1)	0,042
sCD40L, пг/мл	9,15 (5,4 - 55,3)	88,1 (68,2 - 33,1)	<0,001
Flt3 Ligand, пг/мл	4,1 (1,1 -8,7)	14,4 (4,6 - 29,4)	0,006

*Примечание:* ОГВО – отсутствие гнойно-воспалительных осложнений; ГВО – гнойно-воспалительные осложнения.

**Таблица 35 – Основные факторы риска, ассоциированные с развитием гнойно-воспалительных осложнений**

Параметры	ОШ [95% ДИ]	p
sCD40L, пг/мл в цереброспинальной жидкости	1,047 [1,020 - 1,075]	<0,001
IL-6, пг/мл в цереброспинальной жидкости	0,998 [0,995 – 1,0]	0,071

*Примечание:* ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал.

На основании полученных результатов для параметров, в наибольшей степени связанных с развитием гнойно-воспалительных осложнений, была создана логистическая регрессионная модель (рисунок 33).

$$P = \frac{1}{1 + e^{-x}} \times 100\%$$

(3)

$$x = -3,42 + 0,046 \times sCD40L - 0,002 \times IL - 6$$

### Рисунок 33 – Модель риска развития гнойно-воспалительных осложнений

Примечание:  $e$  (число Эйлера)=2.7182818,  $P$  – значение функции вероятности.

Значение  $P > 50\%$  позволяет ожидать развитие интракраниальных гнойно-воспалительных осложнений.

Модель является статистически значимой (Хи-квадрат Вальда  $p=0,002$ ), согласуется с исходными данными (Тест Хосмера-Лемешова  $p=0,470$ ), имеет удовлетворительную информативность (критерий Нэйджелкерка  $R^2=55\%$ ), достаточную чувствительность (62%) и высокую специфичность (95%) (рисунок 34).

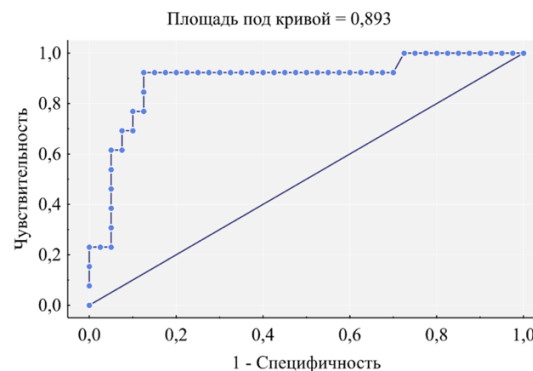


Рисунок 34 – ROC-кривая логистической регрессионной модели прогнозирования осложнений

### 7.3 – Прогнозирование риска неблагоприятного исхода заболевания

Для оценки возможного влияния иммунологических показателей на исход ЧМТ различной степени тяжести был проведен сравнительный анализ с результатами исхода по модифицированной шкале Рэнкина (mRS) и расширенной шкале исходов Глазго (GOSE) (таблица 36). Пациенты были разделены на 2

группы: 1-я группа (0-3 баллов по mRS и 5-8 баллов по GOSE, то есть пациенты с полным или умеренным нарушением жизнедеятельности, не требующей посторонней помощи); 2-я группа (4-6 баллов по mRS и 1-4 баллов по GOSE, то есть пациенты, которые нуждаются в посторонней помощи, не способные справиться со своими физическими потребностями или пациенты, у которых был зафиксирован смертельный исход).

**Таблица 36 – Сравнительный анализ иммунологических показателей у пациентов в зависимости от исхода черепно-мозговой травмы, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

Показатель	1-я группа	2-я группа	p
Th, кл/мкл	830,8 (712,6 - 948,9)	568,7 (374,5 - 763,0)	0,020
Наивные Th от CD3+CD4+, кл/мкл	202,7 (107,2 - 283,2)	50,0 (27,0 - 188,0)	0,004
Th17 от CD3+CD4+, кл/мкл	26,3 (23,7- 29,0)	36,5 (32,7-40,4)	<0,001
Th2 от CD3+CD4+, кл/мкл	5,6 (4,1 - 8,5)	7,5 (5,4 - 10,2)	0,041
Основной белок миелина, нг/мл	5,04 (3,4 - 8,5)	23,4 (9,7 - 49,2)	<0,001
PDGF-AA, пг/мл	12,1 (4,6 - 25,5)	25,5 (10,5 - 85,1)	0,011
IL-6, пг/мл	19,6 (3,0 - 48,6)	214,4 (43,7 – 1000,0)	<0,001

*Примечание:* 1-я группа – 0-3 баллов по mRS и 5-8 баллов по GOSE; 2-я группа – 4-6 баллов по mRS и 1-4 баллов по GOSE.

С помощью отбора предикторов по принципу пошагового исключения на основании статистики Вальда производился расчет отношений шансов/рисков исхода заболевания (таблица 37).

**Таблица 37 – Основные факторы риска, ассоциированные с неблагоприятным исходом черепно-мозговой травмы по шкале mRS и GOSE**

Параметры	ОШ [95% ДИ]	Уровень значимости
Th17 от CD3+CD4+ в периферической крови	1,121 [1,034 - 1,215]	0,006
Наивные Т-хелперы (Naive Th) от CD3+CD4+ в периферической крови	0,993 [0,987 - 0,999]	0,048
Основной белок миелина в цереброспинальной жидкости	1,135 [1,052 - 1,224]	0,001
Th2 от CD3+CD4+ в периферической крови	1,281 [1,018 - 1,608]	0,035

*Примечание:* GOSE – расширенной шкале исходов Глазго; mRS – модифицированные шкалы Рэнкина; ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал.



Для определения переменных, в наибольшей степени предопределяющих исход заболевания, был проведен многофакторный логистический регрессионный анализ и рассчитаны две двухфакторные регрессионные модели для расчёта риска развития неблагоприятного исхода заболевания. Формула расчета вероятности неблагоприятного исхода согласно полученной регрессионной модели № 1 имеет следующий вид (рисунок 35):

$$P = \frac{1}{1 + e^{-x}} \times 100\% \quad (4)$$

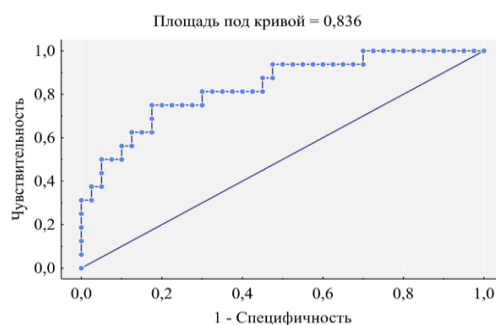
$$X = -3,522 + 0,114 \times Th17 - 0,007 \times Naive Th$$

**Рисунок 35 – Модель прогноза вероятности развития неблагоприятного исхода черепно-мозговой травмы**

*Примечание:* e (число Эйлера) = 2.7182818, P–значение функции вероятности.

Значение  $P > 50\%$  позволяет ожидать неблагоприятный исход заболевания.

Модель № 1 является статистически значимой (Хи-квадрат Вальда  $p=0,003$ ), хорошо согласуется с исходными данными (Тест Хосмера-Лемешова  $p=0,515$ ), имеет удовлетворительную информативность (критерий Нэйджелкерка  $R^2=40\%$ ), достаточную чувствительность (62,5 %) и высокую специфичность (87,5 %) (рисунок 36).



**Рисунок 36 – ROC-кривая логистической регрессионной модели №1 прогнозирования риска исхода черепно-мозговой травмы**

Формула расчета вероятности неблагоприятного исхода согласно полученной регрессионной модели № 2 имеет следующий вид (рисунок 37):

$$P = \frac{1}{1 + e^{-x}} \times 100\% \quad (5)$$

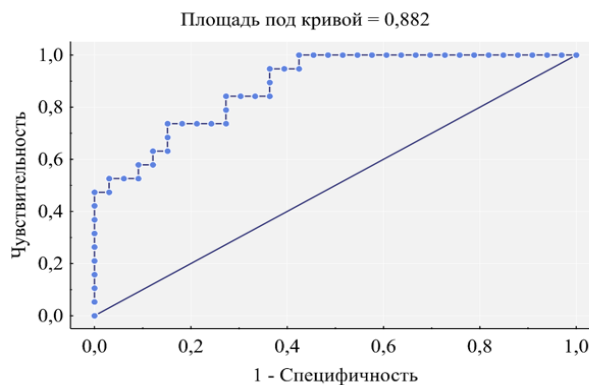
$$x = -3,734 + 0,126 \times \text{ОБМ} + 0,247 \times \text{Th2}$$

**Рисунок 37 – Модель риска развития неблагоприятного исхода черепно-мозговой травмы**

*Примечание:* e (число Эйлера) = 2.7182818, P – значение функции вероятности.

Значение  $P > 50\%$  позволяет ожидать неблагоприятный исход заболевания.

Модель № 2 является статистически значимой (Хи-квадрат Вальда  $p=0,003$ ), хорошо согласуется с исходными данными (Тест Хосмера-Лемешова  $p=0,790$ ), имеет удовлетворительную информативность (критерий Нэйджелкерка  $R^2=56\%$ ), достаточную чувствительность (63,2%) и высокую специфичность (87,8%) (рисунок 38).



**Рисунок 38 – ROC-кривая логистической регрессионной модели № 2 прогнозирования риска неблагоприятного исхода черепно-мозговой травмы**

В качестве примера прогностической информативности разработанных способов приводим следующие клинические наблюдения.

*Клинический пример № 1.*

Пациент В. Диагноз: ЗЧМТ. Ушиб головного мозга тяжелой степени тяжести с формированием очагов контузии в правых лобной, височной долях, правом полушарии мозжечка. Субарахноидальное кровоизлияние.

При поступлении общее состояние пациента оценивалось на уровне средней степени тяжести, по ШКГ – 11 баллов (глубокое оглушение).

В первые сутки произведен забор крови и люмбальная пункция для иммунологического обследования и расчёта по формуле № 5 (*рисунок 37*):

- уровень ОБМ – 20,0 нг/мл
- уровень Т-хелперов 2 типа – 10,08 кл/мкл

Вероятность благоприятной/неблагоприятной динамики течения посттравматического периода, рассчитанная в соответствии с приведенной формулой, составила:  $P$  равно 0,78. Вычисленное значение вероятности больше 0,50; т.е. для данной пациентки прогнозируется неблагоприятный исход раннего посттравматического периода.

Данные клинического обследования по окончании госпитализации: по расширенной шкале Глазго – 4 балла, что соответствует грубому неврологическому дефекту, требующего посторонней помощи и ухода, по модифицированной шкале Рэнкин – 4 балла.

Клинические данные находятся в хорошем соответствии с прогнозом, вычисленным по приведенной формуле.

*Клинический пример № 2.*

Пациентка А. Диагноз: ЗЧМТ. Ушиб головного мозга средней степени тяжести. Субарахноидальное кровоизлияние.

Была выполнена люмбальная пункция и проведена оценка уровня IL-6 и sCD40L в цереброспинальной жидкости с дальнейшим расчётом параметра  $P$  по предложенной формуле № 3 (*рисунок 33*).

- концентрация IL-6 – 346,483 пг/мл

- концентрация sCD40L – 108, 079 пг/мл

Вероятность развития гнойно-воспалительных осложнений в посттравматический период, рассчитанная в соответствии формулой № 3, составила: P равно 0,704. Вычисленное значение вероятности больше 0,50; т.е. для данной пациентки прогнозируется развитие гнойно-воспалительных осложнений в ранний посттравматический период. На 8-е сутки заболевания у пациентки появились признаки гнойного менингита, что подтвердилось результатами люмбальной пункции (K1. Pneumoniae,  $1 \cdot 10^3$ ).

*Клинический пример № 3.*

Диагноз: ЗЧМТ. Сотрясение головного мозга.

После проведения люмбальной пункции и последующей оценки уровня CXCL10/IP-10 и sCD40L в ЦСЖ, а также взятия крови из периферической вены для оценки уровня Т-хелперов 1 типа (Th1) проведен расчёт по формуле № 2 (*рисунок 31*).

Результаты анализа:

- уровень Th1 – 9,47 кл/мкл

- концентрация CXCL10/IP-10 – 456, 01 пг/мл

- концентрация sCD40L – 35,17 пг/мл

Вероятность развития когнитивных нарушений в ранний посттравматический период, рассчитанная в соответствии с приведенной формулой, составила: P равно 0,007. Вычисленное значение вероятности меньше 0,50; т.е. для данного пациента не прогнозируется развитие когнитивных нарушений в ранний посттравматический период. По окончании госпитализации MMSE=29 баллов. По другим шкалам также не выявлено отклонение от референсных значений, что расценено как отсутствие когнитивных нарушений и соответствует прогнозу в 1-е сутки заболевания.

## Резюме

Согласно данным литературы, к прогностическим факторам исхода черепно-мозговых травм (ЧМТ) относят возраст пациента и тяжесть травмы, оцениваемая по шкале ком Глазго, а также выраженности патологических изменений мозга по данным компьютерной томографии. Однако учет этих критериев не позволяет проводить индивидуальный прогноз в силу низкой специфичности прогностических факторов.

Использование способов прогнозирования риска неблагоприятного исхода черепно-мозговой травмы, развития гнойно-воспалительных осложнений, когнитивных нарушений позволяет с высокой точностью осуществлять прогноз исхода травмы головы независимо от степени тяжести и производить выбор или корректировку проводимой интенсивной терапии. Преимуществом данных методов является то, что их применение не зависит от использования определенных тест-систем, тем самым расширяя возможности способов.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ, ИЗЛОЖЕННЫМ В 7 ГЛАВЕ

1. **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., А.А. Тотолян; заявитель ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; опубл. 19.01.2023. – 7 с. : ил.

2. **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, А.А. Тотолян ; заявитель ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; опубл. 19.01.2023. – 6 с.: ил.

3. **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, А.А. Тотолян; заявитель ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; опубл. 19.01.2023. – 5 с.: ил.

4. **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.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение клинических и ряда инструментальных методов исследования при ЧМТ различной степени тяжести у взрослых в остром периоде заболевания помогает выявить факторы риска развития осложнений и неблагоприятных исходов заболевания. Согласно данным литературы к прогностическим факторам исхода травмы головного мозга относят возраст пациента и тяжесть травмы, оцениваемая по шкале ком Глазго, а также выраженность патологических изменений мозга по данным компьютерной томографии [25, 27, 119]. Однако учет этих критериев не позволяет проводить индивидуальный прогноз в силу низкой специфичности прогностических факторов. Особенности клинического течения травмы в остром периоде у пациентов с различной степенью тяжести травмы и её взаимосвязь с изменениями клеточного и гуморального звена иммунной системы являются малоизученной проблемой [51, 71]. Сведения о роли цитокинов/хемокинов в иммунопатогенезе ЧМТ являются противоречивыми, что связано с высокой гетерогенностью заболевания [72, 105].

Существующие способы прогнозирования исходов ЧМТ средней и тяжёлой степени тяжести являются трудоемкими и требуют мониторинга показателей с увеличением затрат на повторные исследования [11, 112, 134]. Вместе с тем, остается открытым вопрос дифференциальной диагностики степени тяжести травмы головного мозга, в особенности ее легких форм [106, 116, 119].

С учетом вышеизложенных данных, было проведено комплексное клиническое, нейропсихологическое, бактериологическое и иммунологическое обследование пациентов с ЧМТ различной степени тяжести в острый период для создания прогностических моделей развития гнойно-воспалительных осложнений, нарушения когнитивных функций и исхода заболевания.

Для реализации поставленных задач было проведено неврологическое обследование, позволившее выявить особенности клинической картины в зависимости от степени тяжести травмы. Мозжечковые нарушения (в виде нистагма, атаксии, интенционного тремора и адиадохокинеза) преобладали у всех пациентов с ЧМТ (до 83,4 %). Такие изменения, вероятно, явились результатом поражения ядер мозжечка (особенно при тяжелой травме) и разобщения его связей с корой и подкорковыми образованиями головного мозга. Обращает на себя внимание, что у пациентов в 3-й (УСС) и 4-й (УТС) группах статистически достоверно чаще встречалась очаговая симптоматика (до 91,7 %), зависящая от топического расположения очагов ушиба. Следует отметить, что в 8,3 % случаев у пациентов в 4-й группе (УТС) был выявлен экстрапирамидный синдром в виде гипокинезии, гипомимии, акинетико-ригидного синдрома, что обусловлено тяжестью повреждения головного мозга. Также с увеличением тяжести травмы нарастает частота обнаружения стволовой симптоматики, обусловленной отеком головного мозга и нарушениями ликвородинамики.

Анализ нейропсихологического профиля пациентов 1-й (СТГ) и 2-й (УЛС) групп в 1-е сутки поступления позволил установить, что при легкой ЧМТ преобладали нейродинамические нарушения. Они характеризовались нарушением внимания, его повышенной истощаемостью, неустойчивостью, брадифренией (замедлением психической деятельности), а также увеличением времени, затрачиваемого на выполнения заданий по инструкции. Второй составляющей расстройства высших корковых функций явились регуляторные нарушения. Они складывались из снижения инициативы и мотивации к активной деятельности, торпидности психических процессов, снижения критики к своему состоянию, персевераций, трудностей при необходимости перехода от решения одной задачи к другой. Третьей составляющей явились мнестические расстройства, которые носили вторичный характер. Для них характерно нарушение памяти на текущие события, проявляющееся, с одной стороны, забывчивостью при непосредственном воспроизведении заучиваемого материала, а, с другой стороны,



трудностями с его отсроченным вспоминанием на фоне выполнения интерферирующего задания. На этом фоне подсказки обычно оказываются эффективны. У некоторых больных, особенно во 2-й группе (УЛС) отмечены проявления ретроградной и конградной амнезии. Средний показатель по шкале КШОПС был ниже референсных значений только во 2-й группе (УЛС) –  $25,5 \pm 1,8$  балла ( $p < 0,05$ ). Результаты тестирования по тесту «батарея исследования лобной дисфункции» как у пациентов 1-й (СТГ), так и 2-й группах (УЛС) были ниже нормы. Средний показатель по шкале МоСА был снижен только во 2-й группе (УЛС) –  $24,4 \pm 2,7$ . Тест десяти слов оказался менее информативен. Различия его результатов в 1-й и 2-й группах не были статистически достоверными ( $p > 0,05$ ). Для оценки когнитивных функций пациентов 3-й (УСС) и 4-й групп (УТС) использован тест на ориентацию и амнезию Гальвестона и тест когнитивных функций медицинского центра Ранхо Лос Амигос. По результатам данных тестов установлены достоверно значимые сниженные показатели в 3-й (УСС) и 4-й группах (УТС) в сравнении с показателями, определенными в 1-й группе (СТГ) и 2-й группе (УЛС).

Таким образом, использованные нейропсихологические тесты позволили всесторонне оценить состояние высших корковых функций у пациентов с легкой ЧМТ. Следует отметить, что выраженность когнитивных нарушений у данной группы больных не достигала деменции, а определялась на уровне легких или умеренных нарушений. В тоже время у пациентов с ушибом головного мозга средней и тяжелой степени тяжести на фоне изменения сознания и общего состояния определить полный профиль и выраженность когнитивных нарушений с учетом использования существующих методик не представляется возможным. Это предопределяет необходимость нейропсихологического обследования данной категории пациентов по окончании острого периода травмы головного мозга.

Нами было оценено влияние изменений отдельных лабораторных иммунологических параметров, а также нейроспецифического белка основного белка миелина как показателей, отражающих степень повреждения головного

мозга [147, 159, 163, 173] на развитие когнитивных нарушений после ЧМТ, а также на тяжесть течения заболевания.

Ряд научных работ подтверждает существенную роль иммунной системы в патогенезе ЧМТ и развитии осложнений. Для лучшего понимания роли клеток иммунной системы в патогенезе травмы головного мозга в зависимости от степени тяжести были проанализированы изменения отдельных субпопуляций Т- и В-лимфоцитов в периферической крови, уровни цитокинов и основного белка миелина в ЦСЖ. Помимо этого, был проведен бактериологический посев ЦСЖ и выполнена ПЦР – диагностика на наличие герпес-вирусных инфекций, рассчитан коэффициент проницаемости для альбумина как показатель нарушения целостности ГЭБ.

Результаты исследования позволили создать логистические регрессионные модели, на основании которых рассчитываются риски развития гнойно-воспалительных осложнений, когнитивных нарушений и неблагоприятных исходов заболевания. Также были определены иммунологические параметры, играющие роль в диагностике степени тяжести травмы головного мозга. К ним относятся следующие показатели: уровень содержания «поляризованных» Th1 типа среди СМ и ЕМ, Th2 типа среди ЕМ, Th 17 типа среди СМ и ЕМ в периферической крови, а также концентрация цитокинов: IL-6, цитокина sCD40L, CXCL9/MIG и уровень основного белка миелина в ЦСЖ.

Для изучения более точных механизмов иммунопатогенетических аспектов была проведёна оценка изменения отдельных субпопуляций Т-лимфоцитов, основанная на анализе уровня экспрессии поверхностных антигенов, репертуар которых изменяется по мере созревания Т-хелперов и приобретения ими эффекторных свойств. В дальнейшем для более детального анализа «поляризованных» Т-хелперов в периферической крови применили подход, основанный на определении уровня экспрессии хемокиновых рецепторов на поверхности Т-хелперов. Он даёт основание сделать заключение о механизмах перераспределения в рамках пула циркулирующих Т-лимфоцитов. При проведении

исследования в периферической крови больных количество Т-хелперов, имеющих фенотип CD45RA<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>, было достоверно снижено у всех пациентов с ушибом головного мозга ( $p < 0,05$ ). Напротив, содержание Т-хелперов, имеющих фенотип CD45RA<sup>-</sup>CD62L<sup>-</sup> имело повышенные значения в 3-й (УСС) и 4-й (УТС) группах в сравнении с группой контроля ( $p < 0,05$ ).

Наши результаты согласуются с концепцией усиленной активации клеток, способных к миграции в нервную ткань, которая обусловлена тяжестью заболевания и нарушением целостности ГЭБ [63, 172]. Вероятно, это определяется тем, что популяция Т-хелперов центральной памяти мигрирует в нервную ткань, где снижается экспрессия CCR7 и CD62L, в результате чего они становятся Т-хелперами эффекторной памяти, обладающими более низкой чувствительностью в отношении антигенной стимуляции. Таким образом, в первые сутки после травмы был отмечен интенсивный процесс перераспределения популяций Т-клеток как центральной памяти, так и клеток эффекторной памяти, способных мигрировать в воспаленные ткани.

Данные, полученные в исследовании и отражающие вклад изменений в рамках субпопуляций Т-хелперов, сопоставимы с результатами других исследователей. Поляризация «наивных» Th в сторону провоспалительного фенотипа Th1 усиливает активацию макрофагов фенотипа M1 и дальнейшую нейродегенерацию [91, 94]. Наоборот, поляризация Th2 направлена на подавление активации клеток микроглии и процессов дегенерации нервной ткани. Gupta D. L. и соавторы продемонстрировали вклад Th1 в повреждение белого вещества головного мозга, которое характеризовалось поражением основного белка миелина, снижением количества клеток-предшественников и зрелых олигодендроцитов [69].

Клетки Th1 типа (в рамках общего пула наивных Th, Th CM и EM) были снижены ( $p < 0,05$ ) у пациентов в 3-й (УСС) и 4-й группах (УТС) как результат их миграции в нервную ткань через нарушенный гематоэнцефалический барьер для поддержания нейровоспаления, что закономерно отражает степень повреждения

нервной ткани. Вместе с тем в рамках популяции Th2 среди общего пула наивных Т-хелперов, Th центральной и эффекторной памяти наблюдался достоверно повышенный уровень ( $p < 0,05$ ), отражающий проявление компенсаторного механизма в ответ на травму головного мозга. Рядом авторов отмечена роль Th1/Th2 в нейропластичности. Так, Th2 тип играет роль в процессах обучения и памяти за счет ограничения активации менингеальных миелоидных клеток, способствуя экспрессии нейтрофического фактора. Th1 тип участвует в реализации когнитивных способностей за счет продукции IFN $\gamma$ , который через ряд сигнальных путей увеличивает ГАМК-ергические сигналы в нейронах [135, 158]. При оценке влияния на исходы заболевания была показана достоверная прямая взаимосвязь между исходом заболевания по расширенной шкале ком Глазго и абсолютным содержанием Th2 EM ( $r=0,473$ ;  $p=0,022$ ). Следует отметить, что между уровнем Th EM и исходом заболевания по модифицированной шкале Рэнкина была установлена отрицательная корреляционная связь ( $r=-0,41$ ;  $p=0,033$ ).

С учётом того, что в литературе отсутствуют данные о роли циркулирующих Th17 в рамках «наивных» Т-хелперов, Т-хелперов центральной и эффекторной памяти, и отдельных субпопуляций, циркулирующих Th17 (различающихся по уровню экспрессии CCR4 и CXCR3), нами был проведён детальный анализ этих параметров в зависимости от степени тяжести травмы. Интерес к этой популяции Т-хелперов вызван тем, что они являются одними из ключевых клеток иммунной системы, участвующих в развитии и поддержании нейровоспаления. Также описаны особенности действия данных клеток в виде продукции IL-17 и IL-22 (эффекторные цитокины данной популяции), рецепторы которых представлены на эндотелиальных клетках ГЭБ. Во всех группах с ЧМТ была выявлена тенденция к повышению общего пула Th17 CCR6+. Клетки данной субпопуляции в условиях *in vitro* обладают высокой способностью к трансмиграции через эндотелий, входящий в состав гематоэнцефалического барьера [91].

В работе доказана информативность определения относительного содержания Th17 среди общего пула Т-хелперов центральной и эффекторной

памяти у пациентов во всех обследованных группах больных. Для уточнения патогенетических механизмов, учитывая значимую роль Th17 в поддержании воспаления, был проведен корреляционный анализ между количеством Th17-клеток и показателями когнитивных функций. При этом установлена прямая корреляционная взаимосвязь ( $r=0,488$ ;  $p=0,004$ ) между уровнем Th17 (% от общего пула Th CM) и результатами выполнения нейропсихологических тестов (MMSE) и обратная корреляционная зависимость между результатами теста FAB ( $r=-0,455$ ;  $p=0,018$ ). Эти результаты могут отражать превалирование в клинической картине нейродинамических и регуляторных нарушений.

В рамках CM CCR6+ Th17, как и в EM CCR6+ Th17 нами был обнаружен дисбаланс в виде повышения «классических» Th17 и снижения «неклассических» Th17 (популяции клеток, ответственных за продукцию интерферона гамма (IFN $\gamma$ ) и интерлейкина-17A (IL-17A)) у пациентов в 4-й группе (UTC). Вместе с тем у пациентов в 3-й группе (УСС) была обнаружена тенденция к повышенному количеству DN Th17 и сниженному DP Th17 (популяция клеток, обладающая высокой миграционной способностью в периферические ткани и органы, обусловленной высокой экспрессией хемокиновых рецепторов и адгезионных молекул) только в рамках CM CCR6+ Th17. В литературе описаны данные, полученные на мышинной модели ЧМТ, в которых показано преимущественное накопление CD3+CD4+IL17+ в нервной ткани после травмы головы [115].

Полученные результаты указывают на активное формирование пула клеток Th17 как центральной (Th CM), так и эффекторной памяти (Th EM), что свидетельствует о направленной миграции клеток в ответ на ЧМТ. Это происходит, вероятно, за счёт высокой пластичности Th17 (изменения фенотипа) и функциональных свойств, меняющихся в зависимости от микроокружения, в которое попадает та или иная клетка, что обуславливает возникновение реципрокных изменений, как закономерного процесса в ответ на повреждение нервной ткани различной степени тяжести. Выявленные в исследовании закономерности согласуются с результатами ряда других имеющихся работ о роли

Th17 в патогенезе заболевания головного мозга [69]. Возможные механизмы действия Th17 обусловлены продукцией IL-17, усиливающей миграцию нейтрофилов в очаг повреждения, прямым цитотоксическим действием по отношению к нейронам, а также участием в нарушениях ГЭБ путем изменения экспрессии молекул клеточной адгезии на эндотелиальных клетках, усилением продукции матриксных металлопротеиназ, а также за счёт блокировки выработки эндотелиального NO, приводящей к развитию эндотелиальной дисфункции и последующего снижения мозгового кровотока. Результаты исследования демонстрируют роль изменения «поляризации» Th, обусловленной активацией M1/M2 клеток микроглии и дальнейшей активацией пролиферации наивных T-клеток в Th1/ Th2/Th17 типа в зависимости от степени тяжести, что определяет направленность ответа со стороны T-хелперов, играющих решающую роль в развитии посттравматической нейродегенерации [75, 121, 158].

Важными факторами, определяющими исход заболевания, являются популяции Treg, участвующие в индукции иммунологической толерантности, в качестве значимого компонент иммунорегуляции. В результате нашего исследования было обнаружено снижение относительного содержания Treg в рамках общего лимфоцитарного пула, имеющего фенотип CD3+CD4+CD25<sup>bright</sup> в периферической крови пациентов 3-й (УСТ) и 4-й (УТС) групп в сравнении с данными группы контроля, а также снижение уровня относительного содержания Treg (CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T клетки), что обусловлено степенью повреждения нервной ткани и, как результат, их миграцией для подавления воспаления за счёт продукции противовоспалительных цитокинов (TGF- $\beta$ , IL-10). Также были выявлены изменения в рамках пула «наивных» T регуляторных лимфоцитов с фенотипом CD3+CD4+CD25<sup>bright</sup>CD39<sup>+</sup> Treg, способных к продукции широкого спектра цитокинов, специфичных для Th1, Th2, Th17, у пациентов с ушибом легкой, средней и тяжёлой степени тяжести, в то время как уровень высокоактивных CD3+CD4+CD25<sup>bright</sup>CD73<sup>+</sup> Treg был достоверно снижен у пациентов с ушибом средней и тяжёлой степени тяжести. Данные изменения указывают на нарушение

равновесия в иммунорегуляторных процессах как результат обширности повреждения тканей головного мозга. Полученные нами данные согласуются с работой Javid E. и соавторов, согласно которым пациенты с тяжёлой сочетанной травмой головного мозга демонстрировали значительно более высокий уровень циркулирующих  $CD4^+ CD25^+$  Т клеток и повышенный уровень противовоспалительных цитокинов (IL-10, TGF- $\beta$ , аденозин) [102]. Однако по результатам Ito M. и соавторов ослабление супрессивной функции Treg приводит к повышению пластичности нервных клеток, что является противоречивым в отношении исходов ЧМТ [61].

Tfh популяция Т-хелперов экспрессирует CXCR5 и CCR7- хемокиновые рецепторы, необходимые для миграции в В-клеточные фолликулы периферических лимфоидных органов, где они участвуют в формировании специфического гуморального ответа, опосредуемого В-клетками [67, 139]. По данным Liu M. C. и соавторов в 1-е сутки после травмы в периферической крови обнаруживаются антитела к основному белку миелина и фосфолипидам, определяющие в дальнейшем прогноз заболевания [82]. Данные положения указывают на патогенетическую роль Tfh как пула клеток, способствующих выживанию и пролиферации активированных антигеном В-лимфоцитов. Однако имеющихся данных о роли и вкладе субпопуляций В-лимфоцитов в патогенез травмы головы в изученной нами литературе очень мало, а анализ отдельных субпопуляций в сравнении с другими аспектами в зарубежной и отечественной литературе подробно не был проведен. Это связано с тем, что долгое время считалось, что травма головного мозга не затрагивает В-клеточное звено иммунной системы [161]. Сравнительно недавно двумя группами ученых было доказано формирование аутоантител, специфичных к белкам ЦНС, что позволило предположить нарушение толерантности ГЭБ, как результата повреждения [109, 132]. Наличие аутоантител S100B к эпитопам как глиальных, так и нейрональных клеток приводит к снижению когнитивных функций и является показателем повышенного риска развития нейродегенеративных заболеваний [132, 142].

В результате наших исследований у пациентов в 3-й (УСС) и 4-й (УТС) группах была выявлена В-клеточная лимфопения ( $p < 0,05$ ). При анализе субпопуляций CD19+ В-лимфоцитов был установлен 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 в 3-й (УСС) и 4-й (УТС) группах ( $p < 0,05$ ). Можно предположить, что данные изменения были обусловлены процессами перераспределения миграции клеток. Так, повышенный уровень «наивных» Vm1 клеток ( $p < 0,05$ ) у пациентов в 1-й (СТГ) и 2-й (УЛС) группах явился ответом на повреждение в виде активации клеток, способных к дальнейшей дифференцировке и реализации своих эффекторных свойств, но с увеличением тяжести травмы наблюдалось истощение пула клеток в результате их возможной миграции в головной мозг и вторичные лимфоидные органы для процессов дифференцировки в более зрелые формы. Данное положение подтверждается снижением в циркуляторном русле «Vm3+Vm4» и покоящихся клеток памяти Vm5 у пациентов 4-й (УТС) группы ( $p < 0,05$ ). Эти изменения свидетельствуют об истощении пула В-клеток, находящихся на ранней стадии дифференцировки.

Нарушение целостности ГЭБ после травмы головного мозга является одной из частых причин, приводящих к более неблагоприятным исходам заболевания [73, 113]. За счёт плотных контактов, образованных эндотелиальными клетками и пронизывающими их трансмембранными белками, образуется высокоизбирательный барьер регулирующих транспорт молекул. ЦСЖ является внутренней средой головного и спинного мозга и отражает процессы, происходящие в тканях центральной нервной системы. Согласно литературным данным, нарастание нейроспецифических белков, альбумина и уровня цитокинов отражает не только тяжесть повреждения головного мозга, но и степень нарушения проницаемости ГЭБ [63, 73, 113, 149]. Нами было обнаружено, что у пациентов в 3-й (УСС) и 4-й (УТС) группах ( $p < 0,05$ ) наблюдался достоверно повышенный



показатель QAlb ( $p < 0,05$ ) как результат нарушения избирательной проницаемости ГЭБ. Исследователями отмечается не только роль гемодинамического фактора, обусловленного развитием застоя крови в сосудах с последующим нарушением проницаемости стенок капилляров, и, как следствие, поступление белковых молекул из плазмы крови в ЦСЖ, но и значение нейровоспаления с вовлечением резидентных глиальных клеток с последующим синтезом провоспалительных цитокинов (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18, TNF $\alpha$ ), ростовых факторов (G-CSF) и хемокинов (CCL2, CCL5, CXCL10). Результатом данных каскадов является прямое цитотоксическое действие на ГЭБ опосредуемое Th1/Th17 или косвенное через усиление рекрутирования нейтрофилов, усиление рекрутирования нейтрофилов, являющихся одним из источников  $\alpha$ -дефензинов, снижающих функцию ГЭБ [73, 170, 172].

В последние десятилетия активно изучается роль цитокинов, которые синтезируются как на местном, так и на системном уровнях, и их участие в патогенезе воспаления на фоне травмы головного мозга. Кроме того, IL-6 рассматривается как один из факторов для дифференцировки Th0 в направлении Th17 [124, 172]. Общеизвестно, что IL-6 имеет ключевое значение в поддержании нейровоспаления, результатом которого является нарушение функции ГЭБ и усиление рекрутирования нейтрофилов в головной мозг и развитие осложнений [68, 143]. Согласно нашим результатам, повышенная концентрация IL-6 была выявлена у всех пациентов с ЧМТ. Определенные нами диагностические значения уровня IL-6 составили: 87,5 %; специфичность – 100 %; ППК=0,906; критерий  $> 11,4$  пг/мл при  $p=0,0117$  у пациентов во 2-й группе (УЛС); чувствительность – 94 %; специфичность – 100 %; ППК=0,941; критерий  $> 7,33$  пг/мл при  $p < 0,0001$  у пациентов в 3-й группе (УСС) с ушибом средней степени тяжести; чувствительность – 100 %; специфичность – 87,5 %; ППК=0,961; критерий  $> 241$  пг/мл при  $p < 0,0001$  в 4-й группе (УТС).

Принимая во внимание то, что уровень цитокинов влияет на течение травмы, был проведён корреляционный анализ между их уровнем в ЦСЖ и исходами

заболевания. По результатам проведенных исследований была установлена отрицательная корреляционная связь между уровнем IL-6 и исходами по расширенной шкале ком Глазго ( $r=-0,531$ ;  $p < 0,001$ ) и положительная связь между исходами заболевания по модифицированной шкале Рэнкина ( $r=0,445$ ;  $p = 0,0012$ ).

Цитокин IL-18, как и IL-6, является цитокином с провоспалительным действием и рассматривается в качестве прогностического биомаркера исхода травмы головного мозга [101]. Helmu A. и соавторы описали увеличение уровня IL-18 в ЦСЖ у нокаутированных мышей в гене IL-18 и показали более высокую выживаемость [92]. В нашей работе была выявлена достоверно повышенная концентрация IL-18 во всех группах с ушибом головного мозга с прогрессивным повышением у пациентов в 4-й группе (УТС) ( $p < 0,05$ ).

Хемокин CXCL8/IL-8 является одним из хемоаттрактантов нейтрофилов и действует на клетки через мембранные рецепторы первого (CXCR1) и второго (CXCR2) типа, экспрессирующиеся на глиальных клетках [140]. Некоторые авторы указывают на то, что повышение концентрации CXCL8/IL-8 в плазме крови пациентов с ушибом головного мозга коррелирует с тяжелой дисфункцией ГЭБ и повышенной смертностью [153, 163]. По данным нашего исследования, только в 4-й группе (УТС) была выявлена повышенная концентрация CXCL8/IL-8 в ЦСЖ, имеющая достоверные диагностические показатели: чувствительность – 88 %; специфичность – 73 %; ППК=0,881; критерий  $>59,43$  пг/мл при  $p=0,0007$ .

Процесс нейровоспаления начинается с поляризации клеток микроглии в воспалительный тип M1 с последующей активацией сигнального пути STAT1 и продукцией CXCL9 и CXCL10, которые являются лигандами для рецептора CXCR3, экспрессируемого «пластичными» субпопуляциями Th [140]. В нашей работе было установлено повышение уровня лигандов для хемокиновых рецепторов CXCL9 и CXCL10 и выявлены их высокие диагностические параметры, способствующие пониманию механизмов миграции клеток-эффекторов в ответ на повреждение, что согласуется с рядом зарубежных работ [174]. Была установлена

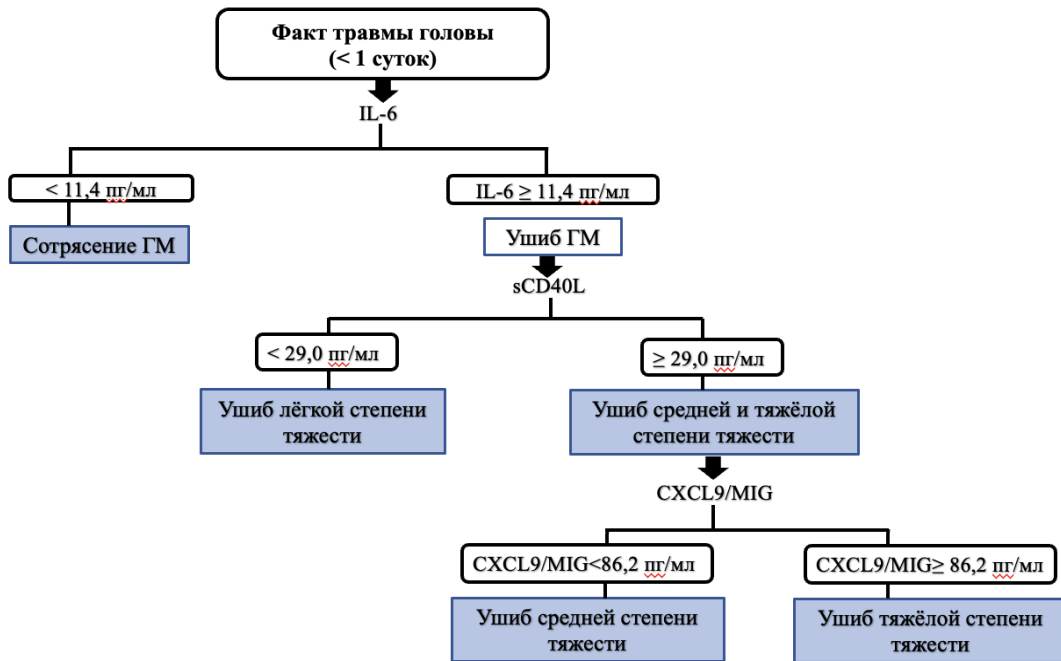
повышенная концентрация CXCL10/IP-10 в ЦСЖ пациентов в 3-й (УСС) и 4-й группах (УТС). Определена диагностическая информативность хемокина CXCL10/IP-10 для 3-й группы (УСС): чувствительность – 75 %; специфичность – 54 %; ППК=0,75; критерий >394,8 пг/мл при  $p=0,0171$ . При этом для 4-й группы (УТС) данные значения составили: чувствительность – 78 %; специфичность – 87%; ППК=0,755; критерий >717,6 пг/мл при  $p=0,0404$ . Содержание CXCL9/MIG было повышено у всех пациентов с ушибом головного мозга ( $p<0,05$ ). Для CXCL9/MIG были определены следующие результаты: чувствительность – 78 %; специфичность – 67 %; ППК=0,761; критерий >27 пг/мл при  $p=0,0371$  во 2-й группе (УЛС); чувствительность – 67%; специфичность – 64 %; ППК=0,850; критерий >43,1 пг/мл при  $p=0,0371$  в 3-й группе (УСС); чувствительность – 87 %; специфичность – 93 %; ППК=0,951; критерий >86,22 пг/мл при  $p=0,0001$  в 4-й группе (УТС).

Роль PDGF-AA- тромбоцитарного фактора роста в патогенезе ЧМТ остаётся открытой [151]. Однако, по нашим результатам, данный ростовой фактор достоверно повышался у пациентов в 3-й (УСС) и 4-й группах (УТС), что можно рассматривать как компенсаторный механизм в ответ на повреждение, обеспечивающий усиление пролиферации олигодендроцитов.

Повышение уровня sCD40L (растворимой формы CD40L) рассматривается рядом исследователей как один из маркеров увеличения риска смертности в течение 7-21 дня с момента получения травмы головы [130]. CD40L экспрессируются на поляризованных клетках микроглии, локализованных в области очага повреждения. Так CD40-опосредованное воспаление после ЧМТ может быть результатом образования сосудисто-нервных тромбов с последующей ишемией тканей [66].

На основании полученных данных ROC-анализа был создан алгоритм дифференциации и сформированы диагностические критерии ЧМТ различной степени тяжести с использованием таких маркеров, как IL-6, sCD40L, CXCL9/MIG

(*рисунок 39*) (заявка № 2023101142 от 19.01.2023). Способ дифференциации основан на оценке концентрации биомаркеров в ЦСЖ, которые рассматриваются как индикаторы степени тяжести травмы головного мозга. Причем, математический алгоритм анализа полученных результатов включает от одной до трех стадий в зависимости от полученных значений концентраций биомаркеров, а степень тяжести устанавливают путем сопоставления полученной концентрации биомаркеров с пороговыми значениями по следующему алгоритму: на первой стадии необходимо оценить концентрацию IL-6, значения которого менее 11,4 пг/мл указывает на сотрясение головного мозга; значение более или равно 11,4 пг/мл указывает на ушиб головного мозга, в этом случае для последующей дифференциации ушиба головного мозга на второй стадии оценивают концентрацию sCD40L. При этом если значение находится в интервале от 11,4 до 29,0 пг/мл, диагностируют ушиб головного мозга лёгкой степени тяжести, а значение больше или равное 29,0 пг/мл указывает на ушиб средней и тяжёлой степени тяжести. На третьей стадии для дифференциации ушиба головного мозга средней и тяжёлой степени тяжести определяют концентрацию CXCL9/MIG: если его значение лежит в интервале от 29,0 (включительно) до 86,2 пг/мл, диагностируют ушиб головного мозга средней тяжести, а значение больше или равное 86,2 пг/мл – ушиб тяжёлой степени тяжести.



**Рисунок 39 – Дерево решений для дифференциации черепно-мозговой травмы различной степени тяжести**

В ходе исследовательской работы помимо клинических и иммунологических параметров были оценены специфические лабораторные показатели, включающие определение основного белка миелина и герпес-вирусов в ЦСЖ. Основным белок миелина (ОБМ) является специфическим структурным компонентом оболочек нейронов, необходимый для миелинизации олигодендроцитов и поддержания структуры миелина [132]. Обнаружение ОБМ в ЦСЖ является чувствительным маркером деградации миелина. У здоровых людей данный показатель не определяется. Полученные нами данные согласуются с результатами других авторов, указывающих на повышение ОБМ как в сыворотке, так и в ЦСЖ, что отражает степень повреждения нервной ткани [76]. В нашем исследовании наблюдается повышенный уровень белка в ЦСЖ ( $>1,0$  нг/мл) у всех групп больных с прогрессирующим увеличением в 4-й группе (УТС). Установлена прямая корреляционная зависимость между уровнями ОБМ и IL-6 ( $r=0,465$ ;  $p=0,017$ ). Выявлена обратная корреляционная взаимосвязь между результатами выполнения теста FAB ( $r=-0,41$ ;  $p=0,006$ ) и MoCA ( $r=-0,445$ ;  $p=0,032$ ) и концентрацией ОБМ у пациентов с ушибом легкой степени тяжести (1-я и 2-я группа). Между уровнем

ОБМ и исходами по расширенной шкале ком Глазго установлена отрицательная корреляционная зависимость ( $r=-0,611$ ;  $p < 0,001$ ), а между исходами заболевания по модифицированной шкале Рэнкина – положительная корреляционная зависимость ( $r=0,514$ ;  $p < 0,001$ ). В результате ПЦР диагностики на наличие ДНК вирусов герпеса в ЦСЖ был обнаружен положительный результат у пациентов, имеющих обширное повреждение головного мозга (3-я и 4-я группа). При этом у 2-х пациентов со смертельным исходом была обнаружена ДНК вирусов HSV I/II и вируса HHV 7. Однако механизмы появления в цереброспинальной жидкости вирусов герпеса I/II типа, HHV 7 нуждаются в детальном изучении, так как найденные изменения могут являться следствием эндогенной бактериемии и вирусемии с последующей транслокацией в головной мозг в результате повреждения ГЭБ или следствием обострения персистирующей хронической инфекции. Полученные результаты нуждаются в дальнейшем детальном изучении.

По результатам нашего исследования были созданы способы прогнозирования исходов заболевания (заявка № 2023101146 от 19.01.2023), риска развития когнитивных нарушений (заявка № 2023101141 от 19.01.2023) и интракраниальных гнойно-воспалительных осложнений (заявка № 2023101145 от 19.01.2023). Использование данных методов позволяет с высокой точностью осуществлять прогноз заболевания независимо от степени тяжести и производить выбор или корректировку проводимой интенсивной терапии. Преимуществом данных методов является то, что их применение не зависит от использования определенных тест-систем, тем самым расширяя возможности способов. Созданные диагностические алгоритмы были апробированы на независимой выборке пациентов с ЧМТ различной степени тяжести ( $n=20$ ).

Таким образом, изученные и проанализированные в диссертационной работе иммунологические показатели, а также выполненные клинико-лабораторные сопоставления позволяют установить наиболее перспективные параметры, необходимые для оценки особенностей течения ЧМТ, что имеет большое значение в клинической практике для прогнозирования дальнейшего течения заболевания.

Полученные в ходе работы результаты играют большую роль в понимании особенностей вовлечения клеточного и гуморального звеньев иммунитета в патогенез черепно-мозговой травмы. Новым перспективным направлением исследований может служить изучение и анализ содержания показателей субпопуляций лимфоцитов и цитокинов не только при изолированной черепно-мозговой травме, но и у пациентов с сочетанной травмой мозга. Также важным направлением дальнейших исследований может быть сопоставление содержания цитокинов в плазме крови и цереброспинальной жидкости.

Определение рекомендованных в диссертационной работе биомаркеров, представленных в разработанных моделях и алгоритме, наряду с другими параметрами клинической лабораторной диагностики, являются важными при работе с пациентами, перенесшими черепно-мозговую травму для объективизации клинического течения заболевания, оценки эффективности проводимой терапии и своевременной коррекции лечебной тактики.

## 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 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  
 ССR – СС chemokine receptors (рецептор СС-хемокинов)  
 CD – cluster of differentiation (кластер дифференцировки)  
 СХСR – СХС chemokine receptor (рецептор СХС-хемокинов)  
 DN Th – дважды-негативные Т-хелперы  
 DP Th – дважды-позитивные Т-хелперы  
 FAB – Frontal Assessment Battery (Батарея 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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абусалех, А. И. Роль цитокинов в патогенезе острого периода черепно-мозговой травмы: автореф. дис. ...канд. мед. наук.: 14.00.13 / Абусалех Аммар Ибрахим. – Москва, 2007. – 22 с.

2. Анализ субпопуляций В-лимфоцитов в периферической крови больных саркоидозом при разной степени активности заболевания / Н. М. Лазарева, И. В. Кудрявцев, А. А. Тоголян, [и др.] // Медицинская иммунология. – 2019. – Т. 21, № 6. – С.1081–1098.

3. Белок s100β, мозговой натрийуретический пептид и интерлейкины как биомаркеры прогноза исходов при черепно-мозговой травме / Л. М. Ценципер, Н. В. Дрягина, М. В. Румянцева, М. И. Айбазова [и др.] // Анестезиология и реаниматология (Медиа Сфера). – 2019. – № 4. – С. 50–54.

4. Боголепова, А. Н. Когнитивная реабилитация пациентов с очаговым поражением головного мозга / А. Н. Боголепова, О. С. Левин // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2020. – Т.120, № 4. – С. 15–122.

5. Биомаркеры повреждения мозга и воспаления у пациентов с острой церебральной ишемией / И. А. Вознюк, Л. П. Пивоварова, Е. А. Гоголева, [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2022. – Т.122, № 8–2. – С. 54–60.

6. Глимфатическая система мозга и ее роль в патогенезе болезни Альцгеймера / В. Ю. Лобзин, К. А. Колмакова, А. Ю. Емелин, А. В. Лапина // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2019. – Т.65, № 1. – С. 230–236.

7. Глиофибриллярный кислый протеин (GFAP) в сыворотке крови у пациентов с травматическим поражением головного мозга / Н. В. Любимова, Ю. С. Тимофеев, А. Х. Бекяшев, Н. Н. Зыбина, [и др.] // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. – 2021. – № 4. – С. 78–84.

8. Диагностическое и прогностическое значение определения белков — маркеров повреждения мозга при легких черепно-мозговых травмах / Н. А. Ковтун, М. И. Савельева, А. В. Трофименко, [и др.] // Лабораторная служба. — 2021. — Т. 2, № 10. — С. 28–33.

9. Диагностическое и прогностическое значение уровня антител к основному белку миелина в крови детей с черепно-мозговой травмой / В. И. Гузева, В. В. Орел, В. В. Гузева, О. В. Гузева // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. — 2022. — Т. 122, № 9– 2. — С. 81–84.

10. Зудова, А. И. Черепно-мозговая травма и нейровоспаление: обзор основных биомаркеров / А. И. Зудова, А. Г. Сухоросова, Л. В. Соломатина // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). — 2020. — Т. 5, № 5. — С. 60–67.

11. Иммунологические изменения при черепно-мозговой травме / Р. Х. Исаева, И. А. Антонюк, А. В. Гридякина, А. Е. Евстафьева // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. — 2014. — № 8–2. — С. 41–47.

12. Информативность исследования цитокинового профиля и  $\alpha$ -дефенсинов в прогнозировании течения черепно-мозговой травмы / В. В. Дюкарев, С. М. Юдина, А. Г. Королев, А. Д. Кравчук // Современные проблемы науки и образования. — 2019. — № 4. — С.15.

13. Клеточные иммунные реакции при черепно-мозговой травме / Е. В. Поповская, О. Е. Филиппова, Е. Ю. Шашкова, Л. С. Щёголева // Экология человека. — 2020. — № 11. — С.32–37.

14. Кетлинский, С. А. Цитокины / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев. — Санкт-Петербург: Фолиант, 2008. — 550 с.

15. Клетки врожденного иммунитета в патогенезе черепно-мозговой травмы / И. В. Радьков, Н. Г. Плехова, С. В. Зиновьев, В. Б. Шуматов // Российский иммунологический журнал. — 2019. — Т. 13, № 22. — С. 480–481.

16. Когнитивные и пароксизмальные расстройства в отдаленном периоде черепно-мозговой травмы у детей и подростков / Н. Н. Заваденко, Ю. Е. Нестеровский, А. А. Холин, И. С. Воробьева // Журнал неврологии и психиатрии. – Т. 119, № 1. – 2019. – С. 110–117.

17. Козлов, В. А. Клетки-супрессоры – основа иммунопатогенеза аутоиммунных заболеваний / В. А. Козлов // Медицинская иммунология. – 2016. – Т. 18, № 1. – С. 7–14. – doi:10.15789/1563-0625-2016-1-7-14.

18. Комплексная оценка неврологических и нейропсихологических изменений у больных с посттравматическими когнитивными нарушениями / М. М. Одинак, С. В. Воробьев, А. Ю. Емелин, А. Ю. Емельянов // Медицина катастроф. – 2015. – № 2. – С. 41–44.

19. Колударова, Е. М. Особенности нейровоспалительной реакции в остром посттравматическом периоде диффузной черепно-мозговой травмы / Е. М. Колударова, Е. С. Тучик, И. А. Жежель // Вестник судебной медицины. – 2021. – Т. 10, № 1. – С. 18–21.

20. Коррекция нарушений нейроиммунных взаимодействий при экспериментальной черепно-мозговой травме препаратом рекомбинантного интерлейкина-2 / С. Н. Шанин, Е. Е. Фомичева, Т. А. Филатенкова, Н. Б. Серебряная // Медицинская иммунология. – 2018. – Т. 20, № 2. – С. 171–178.

21. Критерии диагностики и классификация посттравматических когнитивных нарушений / М. М. Одинак, С. В. Воробьев, А. Ю. Емелин, И. В. Литвиненко, А. А. Юрин // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2014. – Т. 48, № 4. – С. 12–17.

22. Кудрявцев, И. В. Многоцветный анализ основных субпопуляций Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток методом проточной цитофлуориметрии / И. В. Кудрявцев, В. П. Савицкий // Российский иммунологический журнал. – 2012. – Т. 6, № 3. – С. 94–97.

23. Кузнецова, Р. Н. Клинико-иммунологическое обоснование местного применения имунофана в лечении хронического аденоидита у детей: автореф. дис.

... канд. мед. наук.: 14.00.36 / Кузнецова Раиса Николаевна. – Санкт-Петербург, 2009. – 97 с.

24. Левин, О. С. Когнитивные нарушения при черепно-мозговой травме / О. С. Левин, А. Ш. Чимагомедова // Современная терапия в психиатрии и неврологии. – 2019. – № 2. – С. 33–43.

25. Лечение спастичности у пациентов с последствиями черепно-мозговой травмы / А. П. Коваленко, И. А. Вознюк, К. М. Наумов, [и др.] // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2022. – Т.14, № 1. – С. 26–31.

26. Лобзин, С. В. Пункции и блокады в неврологии / С. В. Лобзин. – Санкт-Петербург: Гиппократ, 2007. – 136 с.

27. Лихтерман, Л. Б. Черепно-мозговая травма. Диагностика и лечение / Л.Б. Лихтерман. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 488 с.

28. Лурия, А. Р. Высшие корковые функции человека: монография / А. Р. Лурия. – Санкт-Петербург: Питер, 2018. – 504 с.

29. Михайленко, А. А. Клиническая неврология: семиотика и топическая диагностика: учеб. пособие / А. А. Михайленко. – Санкт-Петербург: Фолиант, 2014. – 431 с.

30. Новые потенциальные биомаркеры болезни Альцгеймера: маркеры эндотелиальной дисфункции и нейровоспаления / А. К. Миночкин, В. Ю. Лобзин, Н. Н. Сушенцева, [и др.] // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2022. – Т.14, № 2. – С. 35–42.

31. Немкова, С. А. Современные возможности комплексной диагностики и коррекции последствий черепно-мозговой травмы / С. А. Немкова // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2019. – Т. 119, № 10. – С. 94–102.

32. Обзор экспериментальных моделей черепно-мозговой травмы на лабораторных животных / Н. В. Цыган, Н. С. Коваль, В. А. Яковлева, [и др.] // Известия Российской военно-медицинской академии. – 2020. – Т. 39, № 2. – С.189–190.

33. Оценка влияния этиологического спектра герпесвирусов на системный и локальный иммунный ответ при энцефалитах у детей / Е. Ю. Скрипченко, Г. Ф. Железникова, Н. В. Скрипченко, [и др.] // Детские инфекции. – 2022. – Т. 21, № 2. – С. 11–15.
34. Периодизация клинического течения черепно-мозговой травмы / Л. Б. Лихтерман, А. Д. Кравчук, В. А. Охлопков, [и др.] // Неврология и ревматология: прил. к журналу Consilium Medicum. – 2019. – № 1. – С. 56–60.
35. Пичугина, Л. В. Внутриклеточные цитокины: проблемы детекции и клиническое значение / Л. В. Пичугина, Б. В. Пинегин // Иммунология. – 2008. – № 1. – С. 55–63.
36. Потапов, А. А. Современные подходы к изучению и лечению черепно-мозговой травмы / А. А. Потапов, Л. Б. Лихтерман, А. Д. Кравчук // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2010. – Т. 4, № 1. – С. 4–12.
37. Роль нейровоспаления в развитии болезни Альцгеймера / И. В. Литвиненко, В. Ю. Лобзин, А. Ю. Емелин, [и др.] // Известия Российской военно-медицинской академии. – 2022. – Т. 41, № 4. – С. 50–56.
38. Роль транскраниальной магнитной стимуляции в диагностике патофизиологических механизмов когнитивных нарушений при черепно-мозговой травме / И. В. Литвиненко, М. М. Одинак, А. Ю. Емелин, [и др.] // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2015. – № 3 (51). – С. 249–254.
39. Сабиров, Д. М. Эпидемиологические особенности черепно-мозгового травматизма / Д. М. Сабиров, А. Л. Росстальная, М. А. Махмудов // Вестник экстренной медицины. – 2019. – № 2. – С. 61–65.
40. Серебряная, Н. Б. Пуринергическая регуляция нейровоспаления при черепно-мозговой травме / Н. Б. Серебряная, Е. Е. Фомичева, П. П. Якуценин, [и др.] // Успехи физиологических наук. – 2021. – Т. 52, № 3. – С. 24–40.
41. Скоромец, А. А. Нервные болезни: учеб. пособие / А. А. Скоромец. — Москва: Медпресс–информ, 2007. – 551 с.



42. Стандартизованная технология «исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлюориметров-анализаторов: (проект) / С. В. Хайдуков, Л. А. Байдун, А. В. Зурочка, А. А. Тотолян, [и др.] // Медицинская иммунология. – 2012. – Т. 14, № 3. – С. 255–268. - doi: 10.15789/1563-0625-2012-3-255-268.

43. Стафилококковый менингит как осложнение гнойного эпидурита / Н. В. Скрипченко, К. В. Маркова, А. В. Астапова, Е. Ю. Скрипченко, [и др.] // Российский неврологический журнал. – 2020. – Т. 25, № 3. – С. 34–39.

44. Субпопуляционный состав В-клеток периферической крови у больных системной красной волчанкой / А. И. Будкова, С. В. Лапин, А. А. Тотолян, [и др.] // Медицинская иммунология. – 2017. – Т. 19, № 2. – С. 175–184. – doi: 10.15789/1563-0625-2017-2-175-184.

45. Судебно-медицинская оценка тяжести вреда здоровью при черепно-мозговых травмах / Б. В. Гайдар, А. Н. Белых, А. Ю. Емельянов, [и др.] – Москва: ГВКГ им. Н.Н. Бурденко, 2007. – 60 с.

46. Триумфов, А. В. Топическая диагностика заболеваний нервной системы / А. В. Триумфов. – Москва: ТехИТ, 2007. – 246 с.

47. Хемокиновые рецепторы на Т-хелперах различного уровня дифференцировки: основные субпопуляции / И. В. Кудрявцев, А. Г. Борисов, А. А. Тотолян, [и др.] // Медицинская иммунология. – 2016. – Т. 18, № 3. – С. 239–250. – doi: 10.15789/1563-0625-2016-3-239-250.

48. Храпов, Ю. В. Роль биомаркеров повреждения вещества головного мозга в диагностике, оценке эффективности лечения и прогнозировании исходов тяжелой черепно-мозговой травмы / Ю. В. Храпов, С. В. Поройский // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2013. – Т. 39, № 3. – С. 10–20.

49. Экспрессия CD39 регуляторными Т-лимфоцитами при хроническом и остром саркоидозе / И. В. Кудрявцев, Н. М. Лазарева, О. П. Баранова, А. А. Тотолян, [и др.] // Медицинская иммунология. – 2019. – Т. 21, № 3. – С. 467–478. – doi: 10.15789/1563-0625-2019-3-467-478.

50. A novel marker for traumatic brain injury: CSF alphaII-spectrin breakdown product levels / N. C. Ringger, B. E. O'steen, J. G. Brabham, [et al.] // *J. Neurotrauma*. – 2004. – Vol. 10, № 21. – P. 1443–1456.

51. Absence of the complement regulatory molecule CD59a leads to exacerbated neuropathology after traumatic brain injury in mice / P. F. Stahel, M. A. Flierl, B. P. Morgan, [et al.] // *J. Neuroinflammation*. – 2009. – Vol. 5, № 36. – P. 2.

52. Accuracy of mild traumatic brain injury diagnosis / J. M. Powell, J. V. Ferraro, S. S. Dikmen, [et al.] // *Arch. Phys. Med. Rehabil.* – 2008. – Vol. 8, № 89. – P. 1550–1555.

53. Age-related alterations in the dynamic behavior of microglia / M. R. Damani, L. Zhao, A. M. Fontainhas, [et al.] // *Aging Cell*. – 2011. – Vol. 10. – P. 263–276.

54. Altered neuroinflammation and behavior after traumatic brain injury in a mouse model of Alzheimer's disease / O. Kokiko-Cochran, L. Ransohoff, M. Veenstra, [et al.] // *J. Neurotrauma*. – 2016. – Vol. 7. – P. 625–640.

55. An update on diagnostic and prognostic biomarkers for traumatic brain injury / K. K. Wang, Z. Yang, T. Zhu, [et al.] // *Expert. Rev. Mol. Diagn.* – 2018. – Vol. 2, № 18. – P. 165–180.

56. Analysis of Normal High-Frequency Intracranial Pressure Values and Treatment Threshold in Neurocritical Care Patients: Insights into Normal Values and a Potential Treatment Threshold / G. W. Hawryluk, J. L. Nielson, J. R. Huie, [et al.] // *JAMA Neurol.* – 2020. – Vol. 9. – P. 1150–1158.

57. Azar, S. Biofluid proteomics and biomarkers in traumatic brain injury / S. Azar, A. Hasan, R. Younes // *Neuroproteomics: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*. – 2017. – Vol. 1598. – P. 45–63.

58. Bergold, P. J. Treatment of traumatic brain injury with anti-inflammatory drugs / P. J. Bergold // *Exp. Neurol.* – 2016. – Vol. 275. – P. 367–380.

59. Biochemical changes in the injured brain / S. Sahu, D. S. Nag, A. Swain, [et al.] // *World J. Biol. Chem.* – 2017. – Vol. 1, № 8. – P. 21–31.

60. Biomolecular alterations in acute traumatic brain injury (TBI) using Fourier transform infrared (FTIR) imaging spectroscopy / F. Rakib, K. Al-Saad, T. Ahmed, [et al.] // *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2021. – Vol. 248. – P. 119189.
61. Brain regulatory T cells suppress astrogliosis and potentiate neurological recovery / M. Ito, K. Komai, S. Mise-Omata, [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2019. – Vol. 565. – P. 246–250. – doi: 10.1038/s41586-018-0824-5.
62. Brenner, L. A. Assessment and diagnosis of mild traumatic brain injury, posttraumatic stress disorder, and other polytrauma conditions: Burden of adversity hypothesis / L. A. Brenner, R. D. Vanderploeg, H. Terrio // *Rehabil. Psychol.* – 2009. – Vol. 54. – P. 239–246.
63. Cash, A. Mechanisms of Blood-Brain Barrier Dysfunction in Traumatic Brain Injury / A. Cash, M. H. Theus // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21 – P. 3344.
64. CC chemokine ligand 20 partially controls adhesion of naive B cells to activated endothelial cells under shear stress / A. Meissner, O. Zilles, R. Varona, [et al.] // *Blood.* – 2003. – Vol. 8, № 102. – P. 2724–2727.
65. Celia, A. T cells in the central nervous system: messengers of destruction or purveyors of protection? / A. Celia, R. McKee, R. John // *Immunology.* – 2014. – Vol. 141. – P. 340–344.
66. CD40-CD40L in Neurological Disease / H. D. Ots, J. A. Tracz, K. E. Vinokuroff, A. E. Musto // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol. 8, № 23. – P.4115. – doi: 10.3390/ijms23084115.
67. Chenouard, A. Phenotype and functions of B cells in patients with acute brain injuries / A. Chenouard, M. Chesneau, F. Braza, [et al.] // *Mol. Immunol.* – 2015.– Vol. 68. – P.350–356.
68. Chronic exposure to IL-6 induces a desensitized phenotype of the microglia / M. Recasens, B. Almolda, J. Pérez-Clausell [et al.] // *J. Neuroinflammation.* – 2021. – Vol. 18, № 1. – P. 31.

69. Coexistence of Th1/Th2 and Th17/Treg imbalances in patients with post traumatic sepsis / D. L. Gupta, S. Bhoi, T. Mohan, [et al.] // *Cytokine*. – 2016. – Vol. 88. – P. 214–221.

70. Contributions of Interleukin-1 Receptor Signaling in Traumatic Brain Injury / J. G. Thome, E. L. Reeder, S. M. Collins, [et al.] // *Front. Behav. Neurosci.* – 2019. – Vol. 13. – P. 287.

71. Corps, K. N. Inflammation and neuroprotection in traumatic brain injury / K. N. Corps, T. L. Roth // *JAMA Neurol.* – 2015. – Vol. 3, № 72. – P. 355–362. – doi:10.1001/jamaneurol.2014.3558.

72. Current trends in biomarkers for traumatic brain injury / T. Mehta, M. Fayyaz, G. E. Giler [et al.] // *J. Neurol. Neurosurg.* – 2020. – Vol. 12, № 12. – P. 86–94.

73. Damir, N. Overview of Traumatic Brain Injury: An Immunological Context Overview of Traumatic Brain Injury: An Immunological Context / N. Damir, L.A. Shapiro // *Brain Sci.* – 2017. – Vol. 7. – P. 11.

74. Definition of a mouse microglial subset that regulates neuronal development and proinflammatory responses in the brain / X. Shen, Y. Qiu, A. E. Wight, [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2022. – Vol. 119, № 8. – P.e2116241119.

75. Dexmedetomidine alleviates cognitive impairment by reducing blood-brain barrier interruption and neuroinflammation via regulating Th1/Th2/Th17 polarization in an experimental sepsis model of mice / M. Tian, W. Wang, K. Wang, [et al.] // *Int. Immunopharmacol.* – 2021. – Vol. 101. – P. 108332.

76. Diagnostic significance of serum neuron-specific enolase and myelin basic protein assay in patients with acute head injury / Y. Yamazaki, K. Yada, S. Morii, [et al.] // *Surg. Neurol.* – 1995. – Vol. 3, № 43. – P. 267–270.

77. Early prognosis in traumatic brain injury: from prophecies to predictions / H. F. Lingsma, B. Roozenbeek, E. W. Steyerberg, [et al.] // *Lancet Neurol.* – 2010. – Vol. 9. – P. 543–554.

78. Early changes in frequency of peripheral blood lymphocyte subpopulations in severe traumatic brain-injured patients / I. Mrakovcic-Sutic, V. S. Tokmadzic, G. Laskarin, [et al.] // *Scand. J. Immunol.* – 2010. – Vol. 1, № 72. – P. 57–65.

79. Erickson, M. A. In vitro modeling of blood-brain barrier and interface functions in neuroimmune communication / M. A. Erickson, M. L. Wilson // *Fluids Barriers CNS.* – 2020. – Vol. 1, № 17. – P. 26. – doi: 10.1186/s12987-020-00187-3.

80. Epidemiology of traumatic brain injury in Europe / W. Peeters, R. van den Brande, S. Polinder [et al.] // *Acta Neurochir.* – 2015. – Vol. 10, № 157. – P. 1683–1696.

81. Expression of the NLRP3 inflammasome in cerebral cortex after traumatic brain injury in a rat model / H. D. Liu, W. Li, Z. R. Chen, [et al.] // *J. Neurochem.* – 2013. – Vol. 98. – P. 2072–2083.

82. Extensive degradation of myelin basic protein isoforms by calpain following traumatic brain injury / M. C. Liu, V. Akle, W. Zheng, [et al.] // *J. Neurochem.* – 2006. – Vol. 3, № 98. – P. 700–712.

83. GFAP and S100B are biomarkers of traumatic brain injury: an observational cohort study / P. E. Vos, T. M. Jacobs, T. M. Andriessen, [et al.] // *Neurology.* – 2010. – Vol. 20, № 75. – P. 1786–1793.

84. GFAP and S100B in the acute phase of mild traumatic brain injury / Z. Metting, N. Wilczak, L. A. Rodiger, [et al.] // *Neurology.* – 2012. – Vol. 78, № 18. – P. 1428–1433.

85. Glial fibrillary acidic protein elevations relate to neuroimaging abnormalities after mild TBI / J. Gill, L. Latour, R. Diaz-Arrastia, [et al.] // *Neurology.* – 2018. – Vol. 15. – P. 1385–1389. – doi:10.1212/WNL.0000000000006321.

86. Glutamate Neurotransmission in Rodent Models of Traumatic Brain Injury / C. R. Dorsett, J. L. McGuire, E. A. DePasquale, [et al.] // *J. Neurotrauma.* – 2017. – Vol. 34. – P. 263–272.

87. Goverman, J. Autoimmune T cell responses in the central nervous system / J. Goverman // *Nat. Rev. Immunol.* – 2009. – Vol. 6. – P. 393–407. – doi: 10.1038/nri2550.

88. Graber, D. J. Early inflammatory mediator gene expression in two models of traumatic brain injury: ex vivo cortical slice in mice and in vivo cortical impact in piglets / D. J. Graber, B. A. Costine // *J. Neuroinflammation*. – 2015. – Vol. 12. – P. 76.

89. Hagen, C. Rancho Los Amigos Levels of Cognitive Functioning Scale (LCFS) / C. Hagen, D. Malkmus // *A Compendium of Tests, Scales and Questionnaires*. – 2020. – Vol. 1. – P. 42–44. – doi:10.4324/9781003076391-10.

90. Health-related quality of life during the first year after severe brain trauma with and without polytrauma / M. Lippertgruner, M. Maegele, H. Haverkamp, [et al.] // *Brain Inj.* – 2007. – Vol. 5. – P. 451–455.

91. Helper T cell differentiation / J. Saravia, N.M. Chapman, H. Chi, [et al.] // *Cell Mol. Immunol.* – 2019. – Vol. 16. – P. 634–643.

92. Helmy, A. The cytokine response to human traumatic brain injury: temporal profiles and evidence for cerebral parenchymal production / A. Helmy, K.L. Carpenter, D.K. Menon, [et al.] // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2011. – Vol. 2, № 31. – P. 658–670.

93. Herz, J. Peripheral immune cells and perinatal brain injury: a double-edged sword? / J. Herz, I. Bendix, U. Felderhoff-Müser // *Pediatr Res.* – 2022. – Vol. 2. – P. 392–403. – doi: 10.1038/s41390-021-01818-7.

94. Hirota, K. Fate mapping of IL-17-producing T cells in inflammatory responses / K. Hirota, J. H. Duarte // *Nat. Immunol.* – 2011. – Vol. 12. – P. 255–263. – doi: 10.1038/ni.1993.

95. High-mobility group box 1: an amplifier of stem and progenitor cell activity after stroke / K. Hayakawa, L. D. Pham, K. Arai, [et al.] // *Acta Neurochir. Suppl.* – 2013. – Vol. 118. – P. 31–38.

96. Hiren, C. P. The Immune System's Role in the Consequences of Mild Traumatic Brain Injury (Concussion) / C. P. Hiren, L. N. Verboon, H. C. Patel // *Front Immunol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 620698.

97. HMGB1 Inhibition to Ameliorate Organ Failure and Increase Survival in Trauma / Z. Yang, M. O. Simovic, P. R. Edsall, [et al.] // *Biomolecules*. – 2022. – Vol. 12, № 1. – P. 101. – doi: 10.3390/biom12010101.
98. Holers, V. M. Complement and its receptors: new insights into human disease / V. M. Holers // *Annu. Rev. Immunol.* – 2014. – Vol. 32. – P. 433–459. – doi:10.1146/annurev-immunol-032713-120154.
99. Inflammasome proteins as biomarkers of traumatic brain injury / N. Kerr, S. W. Lee, J. Perez-Barcena, [et al.] // *Plos ONE*. – 2018. – Vol.13. – P. e0210128. – doi: 10.1371/journal.pone.0210128.
100. Increased serum-GFAP in patients with severe traumatic brain injury is related to outcome / K. Nylén, M. Öst, L. Z. Csajbok, [et al.] // *J. Neurol. Sci.* – 2006. – Vol. 240. – P. 85–91.
101. Interleukin-18 regulates both Th1 and Th2 responses / K. Nakanishi, T. Yoshimoto, H. Tsutsui, [et al.] // *Annu. Rev. Immunol.* – 2011. – Vol. 19. – P. 423–474.
102. Javidi, E. Autoimmunity After Ischemic Stroke and Brain Injury / E. Javidi, T. Magnus // *Front. Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 686.
103. Johnson, V. E. Traumatic brain injury and amyloid-beta pathology: a link to Alzheimer's disease? / V. E. Johnson, W. Stewart, D. H. Smith // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2010. – Vol. 5, № 11. – P. 361–370. – doi:10.1038/nrn2808.
104. Kalia, V. CD8 T-cell memory differentiation during acute and chronic viral infections / V. Kalia, S. Sarkar // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2010. – Vol. 684. – P. 79–95.
105. Keel, M. Pathophysiology of polytrauma / M. Keel, O. Trentz // *Injury*. – 2005. – Vol. 6, № 36. – P. 691–709.
106. Kim, H. J. The current state of biomarkers of mild traumatic brain injury / H. J. Kim, J. W. Tsao, A. G. Stanfill // *JCI Insight*. – 2018. – Vol. 1, № 3. – P. e97105.
107. Kleindienst, A. A critical analysis of the role of the neurotrophic protein S100B in acute brain injury / A. Kleindienst, M.R. Bullock // *J. Neurotrauma*. – 2006. – Vol. 8, № 23. – P. 1185–1200.

108. Kumar, R. G. Chronic inflammation after severe traumatic brain injury: characterization and associations with outcome at 6 and 12 months postinjury / R. G. Kumar, J. A. Boles, A. K. Wagner // *J. Head Trauma Rehabil.* – 2015. – Vol. 6, № 30. – P. 369–381.

109. Langeh, U. Targeting S100B Protein as a Surrogate Biomarker and its Role in Various Neurological Disorders / U. Langeh, S. Singh // *Curr. Neuropharmacol.* – 2021. – Vol. 9, № 2. – P. 265–277. – doi: 10.2174/1570159X18666200729100427.

110. Ladak, A. A. A review of the molecular mechanisms of traumatic brain injury / A. A. Ladak, S. A. Enam, M. T. Ibrahim // *World Neurosurg.* – 2019. – Vol. 131. – P.126–132.

111. Levin, H. S. The Galveston Orientation and Amnesia Test / H. S. Levin, V. M. O'Donnell, R. G. Grossman // *J. Nerv. Ment. Dis.* – 1979. – Vol. 11, №167. – P. 675–684.

112. Lindahl, H. Neuroinflammation Associated with Inborn Errors of Immunity / H. Lindahl, Y. T. Bryceson // *Front Immunol.* – 2022. – Vol. 12. – P. 827815.

113. Long-lasting blood-brain barrier dysfunction and neuroinflammation after traumatic brain injury / E. A. Vliet, X. E. Nnode-Ekane, L. J. Lehto, [et al.] // *Neurobiol. Dis.* – 2020. – Vol. 145. – P.105080. – doi: 10.1016/j.nbd.2020.105080.

114. Maas, A. I. Moderate and severe traumatic brain injury in adults / A. I. Maas, N. Stocchetti, R. Bullock // *Lancet Neurol.* – 2008. – Vol. 8. – P. 728-741. –doi: 10.1016/S1474-4422(08)70164-9.

115. MacVicar, B. A. Non-junction functions of pannexin-1 channels / B. A. MacVicar, R. J. Thompson // *Trends in Neurosciences.* – 2010. – Vol. 33, № 2. – P.93–102.

116. Management of pediatric mild traumatic brain injury: a neuropsychological review from injury through recovery / M. W. Kirkwood, K. O. Yeates, H. G. Taylor, [et al.] // *Clin. Neuropsychol.* – 2008. – Vol. 22, № 5. – P. 769–800.



117. Martinez, F. O. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment / F.O. Martinez, S. Gordon // *F1000 Prime Rep.* – 2014. – Vol. 3. – P. 6–13.
118. Masel, B. E. Traumatic brain injury: a disease process, not an event / B.E. Masel, D.S. DeWitt // *J Neurotrauma.* – 2010. – Vol. 27. – P. 1529–1540.
119. Melikyan, Z. A. Neuroimaging and neuropsychological study of mild and moderate traumatic brain injury / Z. A. Melikyan, Yu. V. Mikadze, A. A. Potapov // *Zh. Nevrol. Psychiatr. Im S.S. Korsakova.* – 2010. – Vol. 110, № 12. – P. 100– 111.
120. Microglial polarization in TBI: Signaling pathways and influencing pharmaceuticals / Y. F. Li, X. Ren, L. Zhang, [et al.] // *Front Aging Neurosci.* – 2022. – Vol. 1, № 14. – P.901117.
121. Miossec, P. Targeting IL-17 and TH17 cells in chronic inflammation / P. Miossec, J. K. Kolls // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2012. – Vol. 1, № 11. – P. 763–776. – doi: 10.1038/nrd3794.
122. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician / M. F. Folstein, S. E. Folstein, P. R. McHugh, [et al.] // *Journal of psychiatric research.* – 1975. – Vol. 3, № 12. – P. 189–198.
123. Mitchell, A. J. A meta-analysis of the accuracy of the mini-mental state examination in the detection of dementia and mild cognitive impairment / A. J. Mitchell // *J. Psychiatr. Res.* – 2009. – Vol. 43. – P. 411– 431.
124. Monsour, M. The role of IL-6 in TBI and PTSD, a potential therapeutic target? / M. Monsour, D. M. Croci, S. Agazzi // *Clin. Neurol. Neurosurg.* – 2022. – Vol. 218. – P. 107280.
125. Mondello, S. Clinical utility of serum levels of ubiquitin C-terminal hydrolase as a biomarker for severe traumatic brain injury / S. Mondello, A. Linnet, A. Büki, [et al.] // *Neurosurgery.* – 2012. – Vol. 70, № 3. – P. 666– 675.
126. Myelin basic protein charge isomers change macrophage polarization / E. Tistsilashvili, M. Sepashvili, M. Chikviladze, [et al.] // *J. Inflamm Res.* – 2019. – Vol. 12. – P. 25–33.

127. Nasreddine, Z. The Montreal cognitive assessment (MoCA): a brief screening tool for mild cognitive impairment / Z. Nasreddine, N. Phillips, V. Bédirian // *J. Am. Geriatr. Soc.* – 2005. – Vol. 53. – P. 695–699.

128. Neuroinflammatory responses to traumatic brain injury: etiology, clinical consequences, and therapeutic opportunities / D. Lozano, G. S. Gonzales-Portillo, S. Acosta, [et al.] // *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* – 2015. – Vol. 11. – P. 97–106.

129. Neuroimmunology of Traumatic Brain Injury: Time for a Paradigm Shift / Y. N. Jassam, S. Izzy, M. Whalen, [et al.] // *Neuron.* – 2017. – Vol. 6. – P.1246–1265.

130. Nonsurviving Patients with Severe Traumatic Brain Injury Have Maintained High Serum sCD40L Levels / L. Lorente, M. M. Martín, A. F. González-Rivero, [et al.] // *World Neurosurg.* – 2019. – Vol. 126. – P. 1537–1541. – doi: 10.1016/j.wneu.2019.03.179.

131. O'Neil, M. E. Complications of Mild Traumatic Brain Injury in Veterans and Military Personnel: A Systematic Review / M. E. O'Neil, K. Carlson, D. Storzbach // *VA-ESP Project.* – 2013. – P. 5–225.

132. Ottens, A. K. Proteolysis of multiple myelin basic protein isoforms after neurotrauma: characterization by mass spectrometry / A. K. Ottens, E. C. Golden, L. Bustamante // *J. Neurochem.* – 2018. – Vol. 5, № 104. – P. 1404–1414.

133. Pathophysiology associated with traumatic brain injury: current treatments and potential novel therapeutics / M. L. Pearn, I. R. Niesman, J. Egawa, [et al.] // *Cell Mol. Neurobiol.* – 2017. – Vol. 4, № 37. – P. 571–585.

134. Prehospital resuscitation with hypertonic saline-dextran modulates inflammatory, coagulation and endothelial activation marker profiles in severe traumatic brain injured patients / S. G. Rhind, N. T. Crnko, A. J. Baker, [et al.] // *J. Neuroinflammation.* – 2010. – Vol. 7. – P. 5. – doi: 10.1186/1742-2094-7-5.

135. Production of neurotrophins by activated T cells: implications for neuroprotective autoimmunity / G. Moalem, A. Gdalyahu, Y. Shani, [et al.] // *J. Autoimmun.* – 2000. – Vol. 15, № 3. – P. 331–345.

136. Putatunda, R. B. Potential immunotherapies for traumatic brain and spinal cord injury / R. B. Putatunda, J. H. Wenhui // *Chinese Journal of Traumatology*. – 2018. – Vol. 21. – P. 125–136. – doi:10.1016/j.cjtee.2018.02.002.

137. Role of microglia in a mouse model of paediatric traumatic brain injury / V. Chhor, R. Moretti, T. Le Charpentier, [et al.] // *Brain Behav. Immun.* – 2016. – Vol. 63. – P. 197–209.

138. Regulation of learning and memory by meningeal immunity: a key role for IL-4 / N. C. Derecki, A. N. Cardani, C. H. Yang, [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2010. – Vol. 5. – P. 1067–1080. – doi: 10.1084/jem.20091419.

139. Regulatory B cells limit CNS inflammation and neurologic deficits in murine experimental stroke / X. Ren, K. Akiyoshi, S. Dziennis, [et al.] // *J. Neurosci.* – 2011. – Vol. 31. – P. 8556–8563.

140. Rodney, T. Pro- and anti-inflammatory biomarkers and traumatic brain injury outcomes: A review / T. Rodney, N. Osier, J. Gill // *Cytokine*. – 2018. – Vol. 110. – P. 248–256.

141. Role of microglia in a mouse model of paediatric traumatic brain injury / V. Chhor, R. Moretti, T. Le Charpentier, [et al.] // *Brain Behav. Immun.* – 2016. – Vol. 63. – P. 197–209.

142. S100B, GFAP, UCH-L1 and NSE as predictors of abnormalities on CT imaging following mild traumatic brain injury: a systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy / M. Amoo, J. Henry, P. J. O'Halloran, [et al.] // *Neurosurg Rev.* – 2022. – Vol. 45, № 2. – P. 1171–1193. – doi: 10.1007/s10143-021-01678-z.

143. S100beta induction of the proinflammatory cytokine interleukin-6 in neurons / Y. Li, S. W. Barger, L. Liu, [et al.] // *J. Neurochem.* – 2000. – Vol. 1, № 74. – P. 143–150.

144. Sedaghat, F. S100 protein family and its application in clinical practice / F. Sedaghat, A. Notopoulos // *Hippokratia*. – 2008. – Vol. 4, № 12. – P. 198–204.

145. Selective estrogen receptor modulators decrease reactive astrogliosis in the injured brain: effects of aging and prolonged depletion of ovarian hormones / G. Barreto,

M. Santos-Galindo, Y. Diz-Chaves, [et al.] // *Endocrinology*. – 2009. – Vol. 11, № 150. – P. 5010–5015.

146. Sivandzade, F. In-vitro blood-brain barrier modeling: A review of modern and fast-advancing technologies / F. Sivandzade, L. Cucullo // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2018. – Vol. 10, № 38. – P. 1667–1681. – doi: 10.1177/0271678X18788769.

147. Sivanandam, T. M. Traumatic brain injury: a risk factor for Alzheimer's disease / T. M. Sivanandam, M. K. Thakur // *Neurosci. Biobehav. Rev.* – 2012. – Vol. 5, № 36. – P. 1376–1381.

148. Sowa, J. E. Cellular, synaptic, and network effects of chemokines in the central nervous system and their implications to behavior / J. E. Sowa, K. Tokarski // *Pharmacol. Rep.* – 2021. – Vol. 73, № 6. – P. 1595–1625. – doi: 10.1007/s43440-021-00323-2.

149. Structure and function of the blood-brain barrier / N. J. Abbott, A. A. Patabendige, D. E. Dolman, [et al.] // *Neurobiol. Dis.* – 2010. – Vol. 1, № 37. – P. 13–25. – doi: 10.1016/j.nbd.2009.07.030.

150. Structural imaging of mild traumatic brain injury may not be enough: overview of functional and metabolic imaging of mild traumatic brain injury / S. S. Shin, J. W. Bales, C. Edward Dixon, [et al.] // *Brain Imaging Behav.* – 2013. – Vol. 2, № 11. – P. 591–610. – doi:10.1007/s11682-017-9684-0.

151. Sulzbacher, I. Expression of platelet-derived growth factor-AA and platelet-derived growth factor-alpha receptor in ameloblastomas / I. Sulzbacher, N. Wick, B. Pichlhofer, [et al.] // *J. Oral Pathol. Med.* – 2008. – Vol. 4. – P. 235–240. – doi: 10.1111/j.1600-0714.2008.00637.x.

152. Systems biomarkers as acute diagnostics and chronic monitoring tools for traumatic brain injury / K. K. Wang, A. Moghieb, Z. Yang, [et al.] // *SPIE Defense, Security, and Sensing*. – 2013. – Vol. 2. – P. 87230.

153. Systemic inflammation alters the neuroinflammatory response: a prospective clinical trial in traumatic brain injury / P. Lassarén, C. Lindblad, A. Frostell, [et al.] // *J. Neuroinflammation*. – 2021. – Vol. 18, № 1. – P. 221.

154. Systemic inflammatory response following acute traumatic brain injury / J. Lu, S. J. Goh, P. Y. Tng, [et al.] // *Front. Biosci.* – 2009. – Vol. 14. – P. 3795–3813.
155. Teasdale, G. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale / G. Teasdale, B. Jennett // *Lancet.* – 1974. – Vol. 2, № 72. – P. 81–84.
156. Traumatic brain injury, chronic traumatic encephalopathy, and Alzheimer disease / R. Al-Dahhak, R. Khoury, E. Qazi, [et al.] // *Clin. Geriatr. Med.* – 2018. – Vol. 4, № 34. – P. 617–635. – doi: 10.1016/j.cger.2018.06.008.
157. Traumatic Brain Injury and Risk of Neurodegenerative Disorder / B. L. Brett, R. C. Gardner, J. Godbout, [et al.] // *Biol. Psychiatry.* – 2022. – Vol. 9, № 5. – P. 498–507. – doi: 10.1016/j.biopsych.2021.05.025.
158. Th17 and Cognitive Impairment: Possible Mechanisms of Action. / V. Cipollini, J. Anrather, F. Orzi, [et al.] // *Front Neuroanat.* – 2019. – Vol. 54. – P. 95.
159. Th17 cells and inflammation in neurological disorders: Possible mechanisms of action / Y. Shi, B. Wei, L. Li, [et al.] // *Front Immunol.* – 2022. – Vol. 13. – P. 932152.
160. The frontal assessment battery (FAB) reveals neurocognitive dysfunction in substance-dependent individuals in distinct executive domains: Abstract reasoning, motor programming, and cognitive flexibility / P. J. Cunha, S. Nicastrì, A. G. de Andrade, [et al.] // *Addict. Behav.* – 2010. – Vol. 10, № 35. – P. 875–881.
161. The CXCL13/CXCR5 Immune Axis in Health and Disease-Implications for Intrathecal B Cell Activities in Neuroinflammation / C. Arrer, F. Otto, R. F. Radlberger, [et al.] // *Nat. Rev. Immunol.* – 2022. – Vol. 11. – P. 2649.
162. The Role of Blood Biomarkers for Magnetic Resonance Imaging Diagnosis of Traumatic Brain Injury / J. K. Yue, P. S. Upadhyayula, L. N. Avalos, [et al.] // *Medicina (Kaunas).* – 2020. – Vol. 56, № 2. – P. 87.
163. The international incidence of traumatic brain injury: a systematic review and meta-analysis / R. Nguyen, K.M. Fiest, J. McChesney, [et al.] // *J. Neurol. Sci.* – 2016. – Vol. 43. – P. 774–785.

164. The far-reaching scope of neuroinflammation after traumatic brain injury / D. W. Simon, M. J. McGeachy, H. Bayır, [et al.] // *Nat. Rev. Neurol.* – 2017. – Vol. 3, № 13. – P. 171–178.

165. The role of the choroid plexus in neutrophil invasion after traumatic brain injury / J. Szmydynger-Chodobska, N. Strazielle, B. J. Zink, [et al.] // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2009. – Vol. 29. – P. 1503–1516.

166. Thorough overview of ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 and glial fibrillary acidic protein as tandem biomarkers recently cleared by US Food and Drug Administration for the evaluation of intracranial injuries among patients with traumatic brain injury / K. W. Wang, F. H. Kobeissy, Z. Shakkour, J. A. Tyndall // *Acute Med. Surg.* – 2021. – Vol. 19, № 8. – P. 622. – doi: 10.1002/ams2.622.

167. Walsh, J. T. MHCII-independent CD4+ T cells protect injured CNS neurons via IL-4 / J. T. Walsh, S. Hendrix, F. Boato // *J. Clin. Invest.* – 2015. – Vol. 2, № 125. – P. 699–714.

168. Wan, Y. Y. Multi-tasking of helper T cells / Y. Y. Wan // *Immunology.* – 2010. – Vol. 130. – P. 166–171.

169. Wilson, T. Structured interviews for the Glasgow Outcome Scale and the extended Glasgow Outcome Scale: guidelines for their use / T. Wilson, L. E. Pettigrew, G. M. Teasdale // *J. Neurotrauma.* – 1998. – Vol. 15. – P. 573–585.

170. Witowski, J. Interleukin-17: a mediator of inflammatory responses / J. Witowski, K. Książek, A. Jörres // *Cell Mol. Life Sci.* – 2004. – Vol. 5, № 61. – P. 567–579.

171. White matter damage after traumatic brain injury: A role for damage associated molecular patterns / M. Braun, K. Vaibhav, N. M. Saad, [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* – 2017. – Vol. 1863. – P. 2614–2626. – doi: 10.1016/j.bbadis.2017.05.020.

172. Yasir, N. J. Neuroimmunology of Traumatic Brain Injury: Time for a Paradigm Shift / N. J. Yasir, S. Izzy, M. Whalen [et al.] // *Neuron.* – 2017. – Vol. 6, № 95. – P. 1246.

173. Zetterberg, H. Fluid biomarkers for mild traumatic brain injury and related conditions / H. Zetterberg, K. Blennow // *Nat. Rev. Neurol.* – 2016. – Vol. 10, № 12. – P. 563–574.

174. Ziebell, J. M. Involvement of pro- and anti-inflammatory cytokines and chemokines in the pathophysiology of traumatic brain injury / J. M. Ziebell, M. C. Morganti-Kossmann // *Neurotherapeutics: the journal of the American Society for Experimental Neuro Therapeutics.* – 2010. – Vol. 7. – P. 22–30.

175. Zindel, J. DAMPs, PAMPs, and LAMPs in Immunity and Sterile Inflammation / J. Zindel, P. Kubersky // *Annu. Rev. Pathol.* – 2020. – Vol. 24, № 15. – P.493–518. – doi: 10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032847.

## ПРИЛОЖЕНИЯ

(1-9)

Приложение 1.

### Шкала ком Глазго

<b>1</b>	<b>Открывание глаз</b>	
	- спонтанное	4
	- в ответ на словесную инструкцию	3
	- в ответ на болевое раздражение	2
	- Отсутствие реакции открывания глаз	1
<b>2</b>	<b>Двигательная реакция</b>	
	- Целенаправленное (правильное) движение на словесную инструкцию	6
	- Целенаправленное движение в ответ на болевое раздражение	5
	- Нецеленаправленное движение в ответ на болевое раздражение	4
	- Стигательно – тонические рефлексы в ответ на болевое раздражение	3
	- Разгибательно – тонические рефлексы в ответ на болевое раздражение	2
	- Полное отсутствие движений	1
<b>3</b>	<b>Словесный ответ</b>	
	- Быстрый адекватный ответ (полная ориентировка)	5
	- Медленный ответ по существу	4
	- Неадекватный ответ (несоответствие реальным фактам, не по существу вопр.)	3
	- Непонятный (нечленораздельный) ответ	2
	- Отсутствие реакции на обращение	1




## Краткая шкала оценки психического статуса (Mini-Mental State Examination, MMSE)

ФИО: \_\_\_\_\_

Дата: \_\_\_\_\_

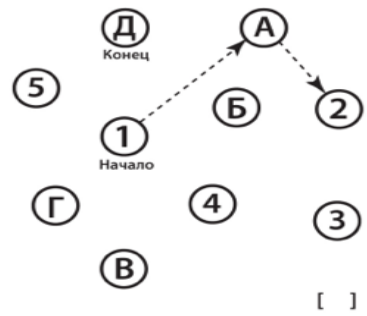
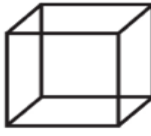

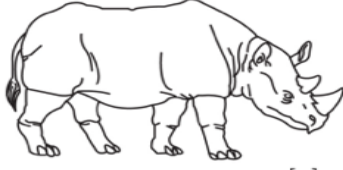
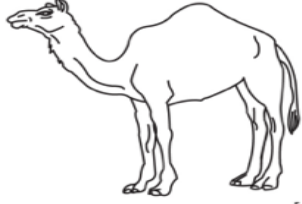
Пункт	Балл	Оценка
<b>А. Ориентация</b>		
1	1	
2	1	
3	1	
4	1	
5	1	
6	1	
7	1	
8	1	
9	1	
10	1	
<b>В. Немедленная память (запоминание)</b>		
11	3	
<b>С. Внимание и счет</b>		
12	5	
<b>Д. Воспроизведение слов</b>		
Назовите те три слова, которые я просил Вас запомнить		
13	1	
14	1	
15	1	

Е. Речь	Балл	Оценка
16 (Покажите наручные часы) Как это называется?	1	
17 (Покажите карандаш) Как это называется?	1	
18 Повторите за мной фразу: « <b>Никаких если, и или но</b> ». Только одна попытка	1	
19 Прочитайте слова, которые написаны на этом листе, и сделайте то, что написано. На бумаге написано « <b>Закройте глаза</b> ». Засчитывается правильный ответ, если пациент закрывает глаза	1	
20 Сейчас я дам Вам лист бумаги. Возьмите бумагу в правую руку, согните ее пополам двумя руками и положите на колени. Сначала прочитайте инструкцию полностью, затем передавайте бумагу. Не повторяйте инструкцию. (Засчитывается 1 балл за каждый правильно выполненный компонент задания.)	3	
21 Напишите на листе бумаги законченное предложение	1	
22 Вот рисунок, пожалуйста, скопируйте его на том же листе бумаги. Правильный ответ засчитывается, если два пятиугольника пересекаются, образуя при этом четырехугольник.	1	
		
<b>Итоговая оценка</b>	<b>30</b>	

**Тест «Батарея лобной дисфункции»  
(Frontal Assessment Battery, FAB)**

Функция	Баллы	Комментарии
1. Концептуализация	0-3	Пациента спрашивают: «Что общего между яблоком и грушей?» Правильным считают ответ, который содержит категориальное обобщение («Это фрукты»). Если больной затрудняется или дает иной ответ, ему говорят правильный ответ. Потом спрашивают: «Что общего между пальто и курткой?»; «Что общего между столом и стулом?» Каждое категориальное обобщение оценивается в 1 балл.
2. Беглость речи	0-3	Просят закрыть глаза и в течение минуты называть слова на букву С. При этом имена собственные не засчитываются. Результат: более 9 слов за минуту – 3 балла, от 7 до 9 – 2 балла, от 4 до 6 – 1 балл, менее 4 – 0 баллов.
3. Динамический праксис	0-3	Больному предлагается повторить за врачом одной рукой серию из трех движений: <ul style="list-style-type: none"> <li>• кулак (ставится горизонтально, параллельно поверхности стола)</li> <li>• ребро (кисть ставится вертикально на медиальный край)</li> <li>• ладонь (кисть ставится горизонтально, ладонью вниз).</li> </ul> При первом предъявлении серии больной только следит за врачом, при втором предъявлении – повторяет движения врача, наконец, последующие две серии делает самостоятельно. При самостоятельном выполнении подсказки больному недопустимы. Результат: правильное выполнение трех серий – 3 балла, двух серий – 2 балла, одной серии (совместно с врачом) – 1 балл.
4. Простая реакция выбора	0-3	Дается инструкция: <u>Сейчас</u> я проверю Ваше внимание. Мы будем выстукивать ритм. Если я ударю один раз, Вы должны ударить два раза подряд. Если я ударю два раза подряд, Вы должны ударить только один раз». Выстукивается следующий ритм: 1-1-2-1-2-2-2-1-1-2. Оценка результата: правильное – 3 балла, не более 2 ошибок – 2 балла, много ошибок – 1 балл, полное копирование ритма врача – 0 баллов.
5. Усложненная реакция выбора	0-3	Дается инструкция: «Теперь если я ударю один раз, то Вы ничего не должны делать. Если я ударю два раза подряд, Вы должны ударить только один раз». Выстукивается ритм: 1-1-2-1-2-2-2-1-1-2. Оценка результата аналогично п. 4.
6. Исследование хватательных рефлексов	0-3	Больной сидит, его просят положить руки на колени ладонями вверх и проверяют хватательный рефлекс. Отсутствие хватательного рефлекса оценивается в 3 балла. Если больной спрашивает, должен ли он схватить, ставится оценка 2. Если больной хватает, ему дается инструкция не делать этого, и хватательный рефлекс проверяется повторно. Если при повторном исследовании рефлекс отсутствует, ставится 1, в противном случае – 0 баллов.

## Монреальская шкала оценки когнитивных функций (Montreal Cognitive Assessment)

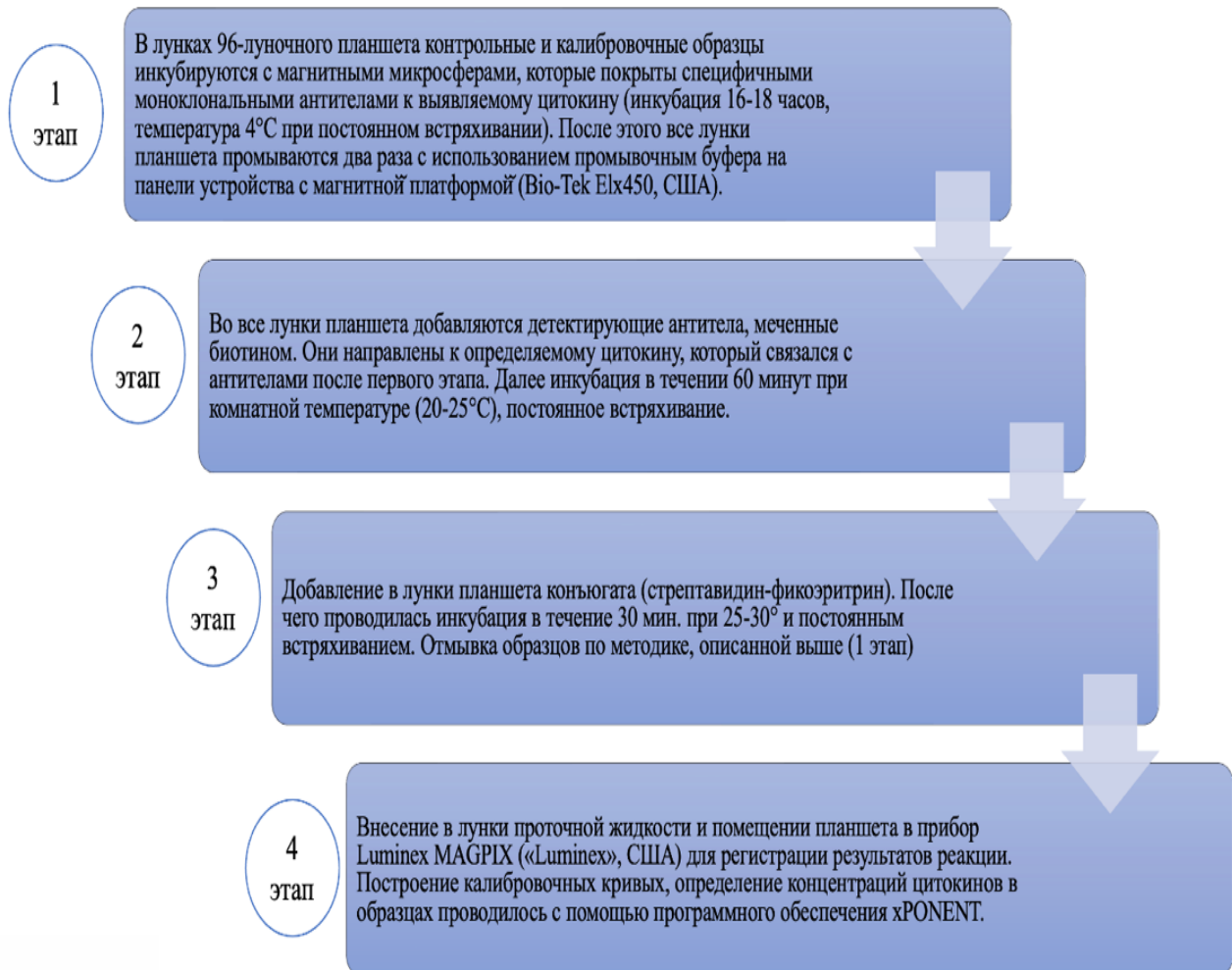
<b>Монреальская шкала оценки когнитивных функций</b>		ИМЯ: _____	Дата рождения: _____		БАЛЛЫ			
		Образование: _____	Пол: _____	ДАТА: _____				
<b>Зрительно-конструктивные/исполнительные навыки</b>  Скопируйте куб <input type="checkbox"/>		Нарисуйте ЧАСЫ (Десять минут двенадцатого) (3 балла)  _____ _____ _____ _____ _____			[ ] /5			
<b>НАЗЫВАНИЕ</b>								
 <input type="checkbox"/>	 <input type="checkbox"/>	 <input type="checkbox"/>	_____/3					
<b>ПАМЯТЬ</b>		Прочтите список слов, испытуемый должен повторить их. Делайте 2 попытки. Попросите повторить слова через 5 минут.	ЛИЦО	БАРХАТ	ЦЕРКОВЬ	ФИАЛКА	КРАСНЫЙ	нет баллов
		Попытка 1						
		Попытка 2						
<b>ВНИМАНИЕ</b>		Прочтите список цифр (1 цифра/сек). Испытуемый должен повторить их в прямом порядке. [ ] 2 1 8 5 4 Испытуемый должен повторить их в обратном порядке. [ ] 7 4 2						___/2
Прочтите ряд букв. Испытуемый должен хлопнуть рукой на каждую букву А. Нет баллов при > 2 ошибок.		[ ] ФБАВМНАА ЖКЛБАФАКДЕАААЖАМОФААБ					___/1	
Серийное вычитание по 7 из 100.		[ ] 93	[ ] 86	[ ] 79	[ ] 72	[ ] 65	___/3	
4-5 правильных отв.: 3 балла, 2-3 правильных отв.: 2 балла, 1 правильный отв.: 1 балл, 0 правильных отв.: 0 баллов.								
<b>РЕЧЬ</b>		Повторите: Я знаю только одно, что Иван – это тот, кто может сегодня помочь. [ ] Кошка всегда пряталась под диваном, когда собаки были в комнате. [ ]						___/2
Беглость речи/ за одну минуту назовите максимальное количество слов, начинающихся на букву Л		[ ] _____ (N ≥ 11 слов)					___/1	
<b>АБСТРАКЦИЯ</b>		Что общего между словами, например, банан-яблоко = фрукты	[ ] поезд - велосипед		[ ] часы - линейка			___/2
<b>ОТСРОЧЕННОЕ ВОСПРОИЗВЕДЕНИЕ</b>		Необходимо назвать слова БЕЗ ПОДСКАЗКИ	ЛИЦО [ ]	БАРХАТ [ ]	ЦЕРКОВЬ [ ]	ФИАЛКА [ ]	КРАСНЫЙ [ ]	Баллы только за слова БЕЗ ПОДСКАЗКИ
<b>ДОПОЛНИТЕЛЬНО ПО ЖЕЛАНИЮ</b>		Подсказка категории						
Множественный выбор								
<b>ОРИЕНТАЦИЯ</b>		[ ] Дата	[ ] Месяц	[ ] Год	[ ] День недели	[ ] Место	[ ] Город	___/6
© Z.Nasreddine MD Version 7.1		www.mocatest.org		Норма 26 / 30		КОЛИЧЕСТВО БАЛЛОВ ___/30		
Проведено: _____		перевод: Посохина О. В. Смирнова А. Ю.		Добавить 1 балл, если образование ≤ 12				

**Тест на ориентацию и амнезию (Galveston orientation and amnesia test)**

<b>Вопрос</b>	<b>Балл ошибки</b>	<b>Примечания</b>
Как Ваше имя?	-2	
Где Вы родились?	-4	
Где Вы живете?	-4	
Где Вы находитесь сейчас?	-5	
Город	-5	
Больница		
Когда Вы поступили в больницу?	-5	
Как Вы добрались до больницы?	-5	
Какое первое событие после травмы Вы можете припомнить?	-5	
Можете Вы описать его детали?	-5	
Можете ли Вы вспомнить последнее событие до травмы?	-5	
Можете ли Вы описать его детали?	-5	
Сколько сейчас времени?	-5	
Какой сегодня день недели?	-3	
Какое сегодня число?	-5	
Какой сейчас месяц года?	-15	
Какой сейчас год?	-30	
Общая ошибка		
Итоговый балл (100-общая ошибка)		

**Тест Уровни когнитивных функций медицинского центра Ранхо Лос Амигос  
(Rancho Los Amigos medical center levels of cognitive functioning)**

Уровень	Краткая характеристика	Описание
I	Нет реакции	Кажется, что больной находится в глубоком сне, не реагирует на внешние стимулы
II	Генерализованная реакция	Кажется, что больной отдыхает, реагирует нецеленоправленными движениями на болевые стимулы
III	Локализованный ответ	Наблюдаются спонтанные целенаправленные движения, иногда выполнение команд
IV	Спутанность – ажитация	Сознание спутанно, амнезия, нарушение внимания, возможна агрессия
V	Спутанность – неадекватность	Нет ажитации, спутанность, амнезия
VI	Спутанность – адекватность	Безинициативен при выполнении действий, и в решениях, выполняет действия по команде
VII	Автоматизм – адекватность	Способен выполнять повседневные дела, независим в самообслуживании в пределах физических возможностей, требуется наблюдение
VIII	Адекватное поведение	Независим дома и за его пределами, возможны когнитивные нарушения

**Этапы определения итоговой концентрации цитокинов в ЦСЖ**

### Расширенная шкала исходов Глазго

Исход	Балл
Смерть	1
Вегетативное состояние (сохранен режим сна и бодрствования, гемодинамика и дыхание стабильные, контакт невозможен, отсутствуют произвольные движения, зондовое питание)	2
Нейромышечная несостоятельность: пациент в сознании, однако тяжелая неврологическая симптоматика вынуждает продолжать лечение в отделении реанимации	3
Тяжелая несостоятельность: имеется грубый неврологический дефект, из-за которого пациенту необходим посторонний уход	4
Умеренная несамостоятельность: психический статус в пределах нормы. При этом пациент не в состоянии выполнять ряд необходимых действий. Нуждается в амбулаторном наблюдении	5
Легкая несамостоятельность: психический статус в пределах нормы. Больной сам себя обслуживает, может ходить сам или с посторонней поддержкой. Нуждается в специальном трудоустройстве	6
Хорошее восстановление: пациент постепенно возвращается к прежней жизни. Имеются незначительные неврологические нарушения. Передвигается самостоятельно	7
Полное восстановление	8

### Модифицированная шкала Рэнкина

Кол-во баллов	Симптомы
0	Нет симптомов
1	Отсутствие существенных нарушений жизнедеятельности, несмотря на наличие некоторых симптомов: способен выполнять все повседневные обязанности.
2	Легкое нарушение жизнедеятельности: неспособен выполнять некоторые прежние обязанности, однако справляется с собственными делами без посторонней помощи.
3	Умеренное нарушение жизнедеятельности: требуется некоторая помощь, однако способен ходить без посторонней помощи.
4	Выраженное нарушение жизнедеятельности: неспособен ходить без посторонней помощи, неспособен справляться со своими физическими потребностями без посторонней помощи.
5	Тяжелое нарушение жизнедеятельности: прикован к постели, недержание мочи и кала, требует постоянной помощи и присмотра персонала.
6	Смерть пациента.