

## СЫВОРОТОЧНЫЕ МАРКЕРЫ АПОПТОЗА ПРИ ТРАВМАТИЧЕСКОМ И ИШЕМИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Н. Н. Епифанцева<sup>2</sup>, Т. И. Борщикова<sup>1</sup>, П. Г. Ситников<sup>1</sup>, Ю. А. Чурляев<sup>1</sup>, И. К. Раткин<sup>3</sup>,  
Н. В. Никифорова<sup>3</sup>, Г. С. Суржикова<sup>2</sup>, С. А. Клочкова-Абельянц<sup>2</sup>, Г. Н. Аверченкова<sup>3</sup>

<sup>1</sup> НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского РАМН (Филиал), Новокузнецк

<sup>2</sup> ГОУ ДПО «Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей»

Федерального агентства по здравоохранению и соцразвитию,

<sup>3</sup> МЛПУ «Городская клиническая больница №29», Новокузнецк

### Serum Markers of Apoptosis in Traumatic and Ischemic Brain Injury

N. N. Yepifantseva<sup>2</sup>, T. I. Borshchikova<sup>1</sup>, P. G. Sitnikov<sup>1</sup>, Yu. A. Churlyayev<sup>1</sup>, I. K. Ratkin<sup>3</sup>,  
N. V. Nikiforova<sup>3</sup>, G. S. Surzhikova<sup>2</sup>, S. A. Klochkova-Abelyants<sup>2</sup>, G. N. Averchenkova<sup>3</sup>

<sup>1</sup> V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

<sup>2</sup> Novokuznetsk State Institute for Postgraduate Education of Physicians,

Federal Agency for Health Care and Social Development;

<sup>3</sup> City Clinical Hospital Twenty-Nine, Novokuznetsk

**Цель исследования:** изучить динамику и взаимосвязь сыровоточных показателей апоптотических процессов у нейро-реанимационных больных. **Материал и методы.** Обследовано 38 нейрореанимационных больных, 14 больных с тяжелой черепно-мозговой травмой (ТЧМТ), средний возраст 41,4±4,3 лет и 24 больных инсультами, средний возраст 53,8±2,5 года. Группа больных с инсультами была разделена на 2 подгруппы: с ишемическими – 11 человек (группа ИИ) и геморрагическими инсультами – 13 пациентов (группа ГИ). При поступлении степень утраты сознания по шкале ком Глазго в группе ТЧМТ составила 7,6±0,8 баллов, в группе с инсультами – 9,5±0,7 баллов, летальность – 28,6 и 37,5%, соответственно. Контрольную группу (КГ) составили 16 человек, средний возраст – 47,9±3,8 лет. На 1, 7, 14-е сутки острого периода заболеваний нейрореанимационным больным определяли уровни сыровоточных FAS антигена и его лиганда (sAPO-I/FAS и sFAS-L), caspase-1/ICE, sCD40 (тест-системы «Bender MedSystem», Австрия) и hTRAIL (тест-система «Biosource», Бельгия) твердофазным иммуноферментным методом. Использованы статистические методы: U-критерий Вилкоксона-Манна-Уитни, коэффициент корреляции Спирмана. **Результаты.** Во всех группах наблюдалось снижение hTRAIL. При инсультах с 1-х по 14-е сутки, а при ТЧМТ – с 7-х по 14-е сутки отмечается снижение сыровоточного sCD40. Повышение caspase-1/ICE отмечалось при ГИ в 1-е сутки, ИИ с 1-х по 7-е сутки и при ТЧМТ с 1-х по 14-е сутки. Наиболее выраженное повышение caspase-1/ICE в 1-ю неделю заболевания индуцировалось ишемическим повреждением головного мозга. Пролонгированное повышение до 2-х недель отмечено при ТЧМТ. Не выявлено повышения FAS-L в сыровотке крови у обследованных больных. Динамика sAPO-I/FAS различалась во всех группах. Наиболее выраженное снижение выявлено при ГИ, умеренное – при ИИ и отсутствовало при ТЧМТ. При ТЧМТ в 1-е сутки отмечено выраженное увеличение sAPO-I/FAS в сыровотке крови. При оценке взаимосвязей между сыровоточными показателями апоптоза выявлены различия в сопряженности между изученными показателями во всех группах больных и в контрольной группе. **Заключение.** Выявлены общие черты и различия в динамике сыровоточных апоптотических маркеров и их сопряженности в остром периоде тяжелой черепно-мозговой травмы, ишемического и геморрагического инсультов. **Ключевые слова:** тяжёлая черепно-мозговая травма, инсульт, апоптоз, APO-I/FAS, FAS-L, caspase-1/ICE, CD40, hTRAIL.

**Objective:** to study the time course of changes and relationship of the serum indicators of apoptotic processes in neuroresuscitation patients. **Subjects and methods.** Thirty-eight neuroresuscitation patients, including 14 patients with severe brain injury (SBI) (mean age 41.4±4.3 years) and 24 patients with strokes (mean age 53.8±2.5 years), were examined. The group of patients with strokes was divided into 2 subgroups: 1) 11 patients with ischemic strokes (IS) and 2) 13 with hemorrhagic strokes (HS). The Glasgow coma scores for admission consciousness loss were 7.6±0.8 in the SBI group and 9.5±0.7 in the stroke group; mortality was 28.6 and 37.5%, respectively. A control group included 16 subjects (mean age 47.9±3.8 years). The investigators measured the serum levels of FAS antigen and its ligand (sAPO-I/FAS and sFAS-L), caspase-1/ICE, sCD40 (Bender MedSystem, Austria) and hTRAIL (Biosource, Belgium) by solid-phase immunoassay in neuroresuscitation patients on days 1, 7, and 14 of the acute period of diseases. They used statistical methods, such as Wilcoxon-Mann-Whitney U-test, Spearman's rank correlation test. **Results.** A reduction in hTRAIL was observed in all the

groups. There was a decrease in serum sCD40 in strokes on days 1 to 14 and in SBI on days 7 to 14. An increase in caspase-1/ICE was seen in HS in the first 24 hours, in IS on days 1 to 7, and in SBI on days 1 to 14. The most pronounced rise in caspase-1/ICE was induced by ischemic brain lesion within the first week of disease. A prolonged increase up to 2 weeks was

Адрес для корреспонденции (Correspondence to):

Чурляев Юрий Алексеевич  
E-mail: gunii@kuz.ru

noted in SBI. No rise in serum FAS-L was found in the examinees. The time course of changes in sAPO-I/FAS was different in all the groups. The most marked, moderate, and none reductions were revealed in HS, IS, and SBI, respectively. There was a pronounced serum sAPO-I/FAS increase in SBI within the first 24 hours. Assessment of correlations between the serum indicators of apoptosis revealed that there were differences in the association between the indices under study in all the patient groups and in the control group. **Conclusion.** There are general features and differences in the time course of changes in serum apoptotic markers and their association in the acute period of SBI, IS, and HS. **Key words:** severe brain injury, stroke, apoptosis, APO-I/FAS, FAS-L, caspase-1/ICE, CD40, hTRAIL.

Процессы программированной клеточной гибели (ПГК) играют важную роль в поддержании гомеостаза организма. Сегодня определено три типа ПГК: апоптоз, некроз и аутофагия. До недавнего времени развитие некроза клеток связывали только с прямым повреждением клеточной мембраны под действием различных факторов и противопоставляли апоптозу. Изучение механизмов некроза и апоптоза привело к пониманию того, что некроз, как и апоптоз, развивается в результате последовательной генетической программы, индуцированной стрессовыми факторами и является одной из форм ПГК [1, 2].

Исследованиями последних лет показано, что некроз и апоптоз являются патогенетическими звеньями развития острого воспаления у больных с травматическими и ишемическими повреждениями головного мозга [3–5]. Сигнальные пути инициации этих процессов часто оказываются общими, а реализация того или иного варианта ПГК зависит от особенностей метаболизма, концентрации АТФ, уровней активных форм кислорода (АФК) и азота ( $\text{NO}^\bullet$ ,  $\text{NO}_2^\bullet$ ,  $\text{ONOO}^-$ ). В очаге поражения при окклюзии сосудов или травматическом повреждении головного мозга происходит быстрая гибель клеток в результате развития некроза. В тканях, окружающих зону поражения, основная масса клеток умирает более медленно в результате апоптоза. Причиной запуска ПГК при травматическом, ишемическом и геморрагическом повреждении головного мозга может быть воздействие на геном клетки гормонов, нейромедиаторов, ишемии, медиаторов воспаления, оксидативного стресса, нарушение ионного и энергетического метаболизма. При инсульте изменение внутриклеточного метаболизма происходит преимущественно из-за отсутствия поступления кислорода и глюкозы к клеткам мозга и высвобождения глутамата, который оказывает нейротоксическое действие, при травме мозга — из-за физического повреждения клеток, высвобождения глутамата и развития ишемии [1]. Распространение воспалительных, апоптотических и окислительных метаболитов за пределы центральной нервной системы при травматических, ишемических и геморрагических повреждениях головного мозга может приводить к вовлечению периферических органов и тканей в воспаление и способствовать формированию вторичных осложнений основного заболевания. Процессы нарушения ПГК играют роль в стресс-индуцированной дисрегуляции иммунной системы, которая может приводить как к развитию иммунологической недостаточности, так и аутоагрессии, наблюдаемых при ТЧМТ и инсультах [6, 7].

В последние годы появилась возможность определения разнообразных сывороточных растворимых маркеров апоптоза, изученных в ряде научных работ у пациентов иммунологической, инфекционной, онкологической и наследственной патологией. Исследования, касающиеся

оценки значимости сывороточных растворимых маркеров апоптоза при травматических, ишемических и геморрагических повреждениях головного мозга, крайне малочисленны и фрагментарны.

Цель — изучение динамики и взаимосвязей сывороточных показателей апоптотических процессов у нейрореанимационных больных.

### Материалы и методы

Основную группу составили 38 нейрореанимационных больных: 14 больных с тяжелой черепно-мозговой травмой (ТЧМТ) — I группа и 24 больных инсультами — II группа. В группе больных с ТЧМТ мужчин было 12, женщин — 2, средний возраст составил  $41,4 \pm 4,3$  года. У 9-и больных травма была открытой и у 5-и закрытой. Среди внутричерепных повреждений — ушибы головного мозга тяжелой степени диагностированы у 4-х, внутричерепные гематомы на фоне ушиба головного мозга средней и тяжелой степени у 10-и больных (субдуральные — у 6-и, множественные — у 1-го, эпидуральные — у 3-х пострадавших). Больным с гематомами выполнены в условиях нейролептанальгезии оперативные вмешательства с удалением внутричерепных гематом. При поступлении степень утраты сознания по шкале ком Глазго в группе ТЧМТ составила в среднем  $7,6 \pm 0,8$  баллов, летальность — 28,6%.

Во II группе мужчин было 13, женщин — 11, средний возраст —  $53,8 \pm 2,5$  лет. Степень утраты сознания по шкале ком Глазго при поступлении составляла в среднем по II группе  $9,5 \pm 0,7$  баллов; летальность — 37,5%. Группа больных с инсультами была разделена на 2 подгруппы: с ишемическими — 11 человек (группа ИИ), и геморрагическими инсультами — 13 пациентов (группа ГИ).

Всем больным проводилось комплексное обследование, включающее в себя клиническую оценку неврологического статуса, компьютерную томографию головного мозга, измерение внутричерепного давления, определение газового, кислотно-основного состояния крови, биохимические и иммунологические исследования, общий анализ крови, ликвора, мочи. Комплекс лечения у всех пострадавших включал мероприятия, направленные на искусственное поддержание функции жизненно важных органов и систем (дыхания, кровообращения, метаболизма) и специфические, направленные на защиту головного мозга, нормализацию его кровообращения, гематоэнцефалического барьера, метаболизма и ликворциркуляции, лечение отека-набухания мозга, внутричерепной гипертензии.

Контрольную группу (КГ) составили 16 человек (мужчин — 9, женщин — 7), средний возраст по группе —  $47,9 \pm 3,8$  лет. Критериями исключения были: наличие сахарного диабета, декомпенсированных заболеваний сердца, онкологических заболеваний и ВИЧ-инфекции.

Исходя из задач исследования, на 1-е, 7-е, 14-е сутки острого периода определяли твердофазным иммуноферментным методом уровни в сыворотке крови растворимых FAS антигена и его лиганда (sAPO-I/FAS и sFAS-L), caspase-1/ICE, sCD40 (тест-системы «Bender MedSystem», Австрия), фактор некроза опухоли, зависимого апоптоз-индуцирующего лиганда (hTRAIL) (тест-система «Biosource», Бельгия).

Для анализа результатов использовали программу «STATISTICA 7». Достоверность различий оценивали по U-критерию Вилкоксона-Манна-Уитни. Интенсивность связей между показателями определялась с помощью рангового коэффициента корреляции Спирмана.

Динамика показателей апоптоза у больных с тяжелой черепно-мозговой травмой, ишемическим и геморрагическим инсультом

Показатель	Контрольная группа (n=16)	Значения показателей в группах на этапах исследования (X±m)		
		1-е сутки	7-е сутки	14-е сутки
<b>ТЧМТ (n=14)</b>				
Caspase-1/ICE, пг/мл	119,4±19,7	226,0±48,1 <sup>1</sup>	176,7±27,6	289,6±62,1 <sup>1</sup>
hTRAIL, пг/мл	415,8±43,5	162,2±29,1 <sup>4</sup>	124,2±25,2 <sup>4,9</sup>	233,5±41,0 <sup>2,9</sup>
sCD40, пг/мл	75,3±5,4	70,3±11,4 <sup>8</sup>	44,1±9,7 <sup>1</sup>	43±8,9 <sup>3</sup>
sAPO-I/Fas, пг/мл	70,0±12,1	206,0±51,3 <sup>1,11,7</sup>	63,6±17,9	99,2±19,8 <sup>7</sup>
<b>ИИ (n=11)</b>				
Caspase-1/ICE, пг/мл	119,4±19,7	374,4±77,2 <sup>3</sup>	296,1±96,1 <sup>2</sup>	77,8±29,6 <sup>9</sup>
hTRAIL, пг/мл	415,8±43,5	184,8±27,4 <sup>3</sup>	206,2±39,5 <sup>2,9</sup>	111,5±27,7 <sup>3,9</sup>
sCD40, пг/мл	75,3±5,4	39,7±11,6 <sup>1</sup>	45,5±8,9 <sup>3</sup>	35,9±8,8 <sup>3</sup>
sAPO-I/Fas, пг/мл	70,0±12,1	42,5±8,9 <sup>11</sup>	72,9±11,6	48,8±12,9
<b>ГИ (n=13)</b>				
Caspase-1/ICE, пг/мл	119,4±19,7	212,3±36,5	121,8±7,1 <sup>13</sup>	118,9±14,3
hTRAIL, пг/мл	415,8±43,5	285,1±68,9	153,8±38,0 <sup>3</sup>	202,4±40,2 <sup>2</sup>
sCD40, пг/мл	75,3±5,4	31,9±5,1 <sup>4,8</sup>	36,1±7,3 <sup>4</sup>	31,5±9,2 <sup>3</sup>
sAPO-I/Fas, пг/мл	70,0±12,1	27,6±5,0 <sup>4,7</sup>	29,3±8,6 <sup>1,14</sup>	25,1±2,6 <sup>3,7</sup>

**Примечание.**

Статистическая достоверность различий в сравнении с группой контроля, <sup>1</sup> –  $p < 0,05$ ; <sup>2</sup> –  $p < 0,02$ ; <sup>3</sup> –  $p < 0,01$ ; <sup>4</sup> –  $p < 0,001$ .

Статистическая достоверность различий у больных геморрагическим инсультом и ТЧМТ, <sup>5</sup> –  $p < 0,05$ ; <sup>6</sup> –  $p < 0,02$ ; <sup>7</sup> –  $p < 0,01$ ; <sup>8</sup> –  $p < 0,001$ .

Статистическая достоверность различий у больных ишемическим инсультом и ТЧМТ, <sup>9</sup> –  $p < 0,05$ ; <sup>10</sup> –  $p < 0,02$ ; <sup>11</sup> –  $p < 0,01$ ; <sup>12</sup> –  $p < 0,001$ .

Статистическая достоверность различий у больных геморрагическим и ишемическим инсультом, <sup>13</sup> –  $p < 0,05$ ; <sup>14</sup> –  $p < 0,02$ .

**Результаты и обсуждение**

Динамика сывороточных показателей апоптотических реакций при ТЧМТ, ишемических и геморрагических инсультах представлена в табл. 1. Выявлено, что при ТЧМТ и инсультах есть как общие, так и различающиеся тенденции изменения сывороточных «маркеров» апоптоза. Общей закономерностью явилось снижение в сравнении с контрольной группой hTRAIL (фактор некроза опухоли зависимого апоптоз-индуцирующего лиганда, Apo2L), причем при ТЧМТ и ишемическом инсульте оно было достоверным с 1-х по 14-е сутки заболевания. При геморрагическом инсульте в 1-е сутки это снижение проявлялось как тенденция, а на 7-е и 14-е сутки – было значимым.

Динамика sCD40, принадлежащего к семейству рецепторов TNF, также имела общие черты: он снижался по сравнению с контрольной группой при ИИ и ГИ с 1-х по 14-е сутки, а при ТЧМТ – с 7-х по 14-е сутки, причем в 1-е сутки sCD40 был достоверно выше при ТЧМТ, чем при инсультах.

Уровень sFAS-L («фактор смерти», гомолог TNF $\alpha$ , CD95L, CD178) у больных сравниваемых групп в сыворотке практически не определялся весь период наблюдений, так же как и в контрольной группе (был ниже границы чувствительности метода – 0,1 нг/мл). При этом динамика его растворимого рецептора sAPO-I/FAS (APO-I антиген, CD95) в сыворотке различалась во всех группах. При ТЧМТ в 1-е сутки было выявлено его выраженное повышение, как по сравнению с контрольной группой, так и с подгруппами с ИИ и ГИ. В дальнейшем при ТЧМТ этот показатель не отличался от такового в контрольной группе. При ишемическом инсульте на 1-е и 14-е сутки отмечалась тенденция к уменьшению sAPO-I/FAS, а при геморрагическом –

выраженное его снижение с 1-х по 14-е сутки. На 7-е сутки sAPO-I/FAS был при ГИ достоверно ниже, чем при ИИ (при  $p < 0,02$ ).

Динамика сывороточной caspase-1/ICE (ICE, IL-1 $\beta$  конвертирующий фермент, CASP-1, P45, КФ 3.4.22.36.) в сравниваемых группах имела наибольшие отличия. В группе больных ТЧМТ в 1-е сутки имело место повышение уровня caspase-1/ICE в 1,9 раз по сравнению с КГ ( $p < 0,05$ ), на 7-е сутки уровень ее несколько снижался, а на 14-е сутки травматической болезни вновь достоверно повышался до максимального в этой группе. При ИИ в 1-е сутки регистрировалось максимальное значение caspase-1/ICE, которое в 3 раза превышало его уровень в КГ (при  $p < 0,01$ ), сохранявшееся на 7-е сутки, с последующим резким снижением к 14-м суткам. Уровень caspase-1/ICE на 14-е сутки при ИИ становился значимо ниже по сравнению с таковым в 1-е и 7-е сутки (в 4,8 раза при  $p < 0,001$ ; в 3,8 раз при  $p < 0,05$ , соответственно). В группе больных с ГИ в 1-е сутки активность caspase-1 была достоверно выше, чем в контрольной группе, а с 7-х суток не отличалась от таковой. При сравнении этого показателя на 7-е сутки заболевания caspase-1 у больных с ГИ была значимо ниже, чем в группе с ИИ.

При оценке взаимосвязей между сывороточными показателями апоптоза выявлены различия в их сопряженности во всех группах больных и контрольной группе. При отсутствии воспалительных реакций в контрольной группе установлена сильная отрицательная корреляционная связь между индуктором апоптоза hTRAIL и «ловушкой» TNF-подобных лигандов в сыворотке sCD40 (табл. 2). Также в контрольной группе выявлена отрицательная достоверная связь между sAPO-I/FAS и caspase-1/ICE.

У нейрореанимационных больных связи между изучаемыми показателями изменялись. При ГИ связь

Взаимосвязь показателей апоптоза в группах нейрореанимационных больных и в контрольной группе

Показатель	Значения коэффициента корреляции ( <i>r</i> ) и уровня статистической значимости ( <i>p</i> ) в группах сравнения							
	КГ ( <i>n</i> =16)		ТЧМТ ( <i>n</i> =25)		ИИ ( <i>n</i> =20)		ГИ ( <i>n</i> =24)	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Caspase-1/ICE - hTRAIL	0,214	0,351	-0,005	0,980	<b>0,609</b>	<b>0,007</b>	<b>0,665</b>	<b>&lt;0,001</b>
Caspase-1/ICE - sCD40	-0,357	0,112	-0,081	0,699	0,007	0,977	-0,177	0,407
Caspase-1/ICE - sAPO-I/Fas	<b>-0,543</b>	<b>0,011</b>	-0,156	0,456	0,065	0,798	-0,392	0,058
hTRAIL - sCD40	<b>-0,786</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,109	0,605	0,046	0,848	<b>-0,455</b>	<b>0,015</b>
sCD40 - sAPO-I/Fas	-0,168	0,466	<b>0,425</b>	<b>0,030</b>	<b>0,791</b>	<b>&lt;0,001</b>	-0,057	0,772
sAPO-I/Fas - hTRAIL	-0,075	0,747	0,347	0,090	-0,082	0,731	-0,322	0,095

**Примечание.** Полужирным шрифтом выделены значимые корреляционные связи между показателями апоптоза в группах.

аналогичная таковой в контрольной группе между sCD40 и hTRAIL сохранялась, но ослабевала (в КГ  $r=-0,786$ , при  $p<0,001$ ; в группе ГИ  $r=-0,455$ , при  $p=0,015$ ), связь sAPO-I/FAS и caspase-1/ICE становилась при ГИ незначимой. Одновременно при ГИ, так же как и при ИИ, но не при ТЧМТ, появлялась достоверная связь caspase-1/ICE и hTRAIL, отражая общие механизмы апоптотических реакций при различных видах инсульта (см. рис. 1). В сопряженности показателей апоптоза при ТЧМТ не выявлено общих черт с ГИ, но установлена общность с ИИ, а именно при ИИ и ТЧМТ выявляется сильная и средней степени, соответственно, сопряженность между sCD40 и sAPO-I/FAS, возможно, отражая общие механизмы в развитии этих заболеваний (рис. 2).

По литературным данным низкий уровень сывороточного sAPO-I/FAS (CD95) коррелирует с повышением способности этой сыворотки к индукции апоптоза в чувствительных клетках [8]. В отличие от мембраносвязанного CD95, который при индукции его лигандом запускает апоптоз, sAPO-I/FAS, по-видимому, играет роль «ловушки» как сывороточного sFAS-L (CD95L), так и мембраносвязанного FAS-L, снижая вероятность запуска зависящего от него механизма апоптоза. В наибольшей степени дефицит сывороточного sAPO-I/FAS наблюдался при ГИ, в меньшей степени при ИИ и отсутствовал при ТЧМТ. Интересным представляется противоположная направленность растворимого APO-I/FAS и мембраносвязанной его формы на Т-лимфоцитах (CD95) при поражениях головного мозга. В группе с ТЧМТ нами установлено снижение в крови абсолютно количества CD95<sup>+</sup>-лимфоцитов ( $\times 10^9/\text{л}$ ) до  $0,19\pm 0,04$ ;  $0,23\pm 0,04$  и  $0,18\pm 0,04$ , соответственно, в 1-е, 7-е и 14-е сутки при  $0,64\pm 0,08$  в КГ ( $p<0,01$  в сравнении с КГ во все сроки исследования), что совпадало с результатами других исследований [9]. В остром периоде ишемического инсульта выявлено увеличение количества CD95<sup>+</sup>-лимфоцитов в крови [10]. В нашем наблюдении при ИИ количество его растворимой формы (sAPO-I/FAS) в сыворотке имело тенденцию к снижению. Таким образом, наблюдаемое в 1-е сутки при ТЧМТ выраженное повышение sAPO-I/FAS отражает воспаление-зависимое повышение экспрессии его на клетках-носителях в центральной нервной системе, но не на лимфоцитах и может играть свою роль в стимуляции апоптоза клеток иммунной системы с развитием Т-

и В-клеточного иммунодефицита, который имеет место у больных с ТЧМТ [7].

При различных поражениях мозга экспрессия компонентов системы FasL-Fas оказывается в нем повышенной. Как и другие члены семейства фактора некроза опухоли, FasL помимо апоптоза запускает механизмы воспалительной реакции, тем самым не только обеспечивает иммуносупрессивное состояние мозга, но и индуцирует гибель нейронов и воспаление при неврологических заболеваниях. Этот лиганд запускает в астроцитах синтез провоспалительных цитокинов и хемокинов, таких как IL-6, IL-8, MCP-1. По существу система FasL-Fas в астроцитах играет двойственную роль. Взаимодействие FasL с экспрессированными на них Fas может трансдуцировать провоспалительные сигналы, а экспрессированные на них FasL могут индуцировать Fas-опосредованный апоптоз окружающих Fas-чувствительных клеток (нейроны или олигодендроциты), приводя к нейродегенерации и демиелинизации [11].

Отсутствие повышения сывороточного sFAS-L в нашем исследовании, свидетельствует, что ни ишемические, ни геморрагические, ни травматические повреждения головного мозга не приводят к повышенной его экспрессии на периферических клетках-носителях и/или его солибилизации и проникновению через гемато-энцефалический барьер из поврежденного мозга.

По имеющимся литературным данным взаимодействие мембраносвязанных CD40-CD40L имеет определяющее значение в развитии Т- и В-клеточного иммунного ответа, а именно для зависимой от Т-клеток пролиферации и дифференцировки В-клеток, активации антиген-презентирующих клеток и продукции цитокинов во многих типах клеток [12]. Отмечено значительное повышение CD40L на тромбоцитах и сывороточного sCD40L (CD154), а также CD40 на моноцитах у больных с острой церебральной ишемией. Дисрегуляция системы CD40 отмечалась в течение 3-х месяцев после острой мозговой ишемии и играла роль в поддержании провоспалительного и протромбогенного состояния [13, 14]. Снижение у нейрореанимационных больных сывороточного sCD40 может отражать уменьшение его экспрессии на Th2 клетках и свидетельствовать о нарушении кооперативного взаимодействия клеток иммунной системы, имеющей, с одной стороны, предохраняющее действие на клетки ЦНС, а с другой стороны, способство-

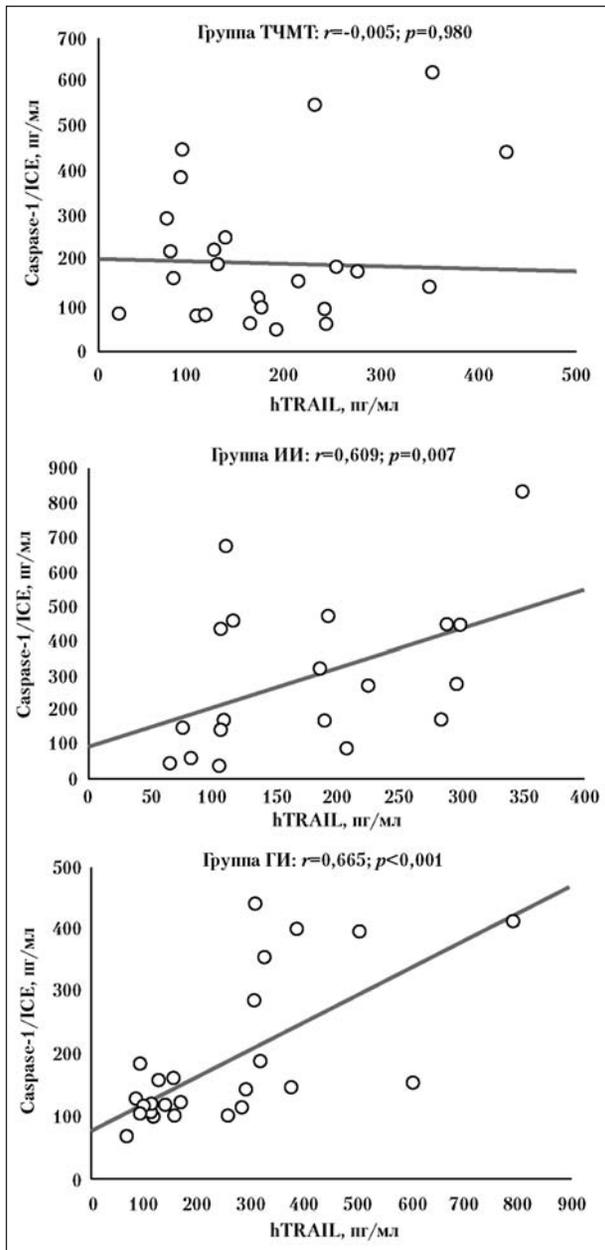


Рис. 1. Корреляционные связи Caspase-1/ICE и hTRAIL в группах нейрореанимационных больных.

вать развитию иммунологической недостаточности. Возможно, снижение определяемого сывороточного sCD40 у нейрореанимационных больных связано с повышенным взаимодействием с CD40L, с последующей элиминацией комплекса из кровотока макрофагальной системой. Можно думать об опосредованном активацией тромбоцитов повышении sCD40L при ИИ, ГИ и ТЧМТ. Активация тромбоцитов – неотъемлемый компонент острых травматических, ишемических и геморрагических повреждений головного мозга. Наблюдаемая корреляция между sCD40 и sAPO-I/FAS при ИИ и ТЧМТ может отражать общность некоторых механизмов в патогенезе этих заболеваний и путей апоптоза.

Снижение растворимого hTRAIL, одного из самых распространенных мембранных смертельных лигандов, у больных с ТЧМТ и инсультами указывает, с

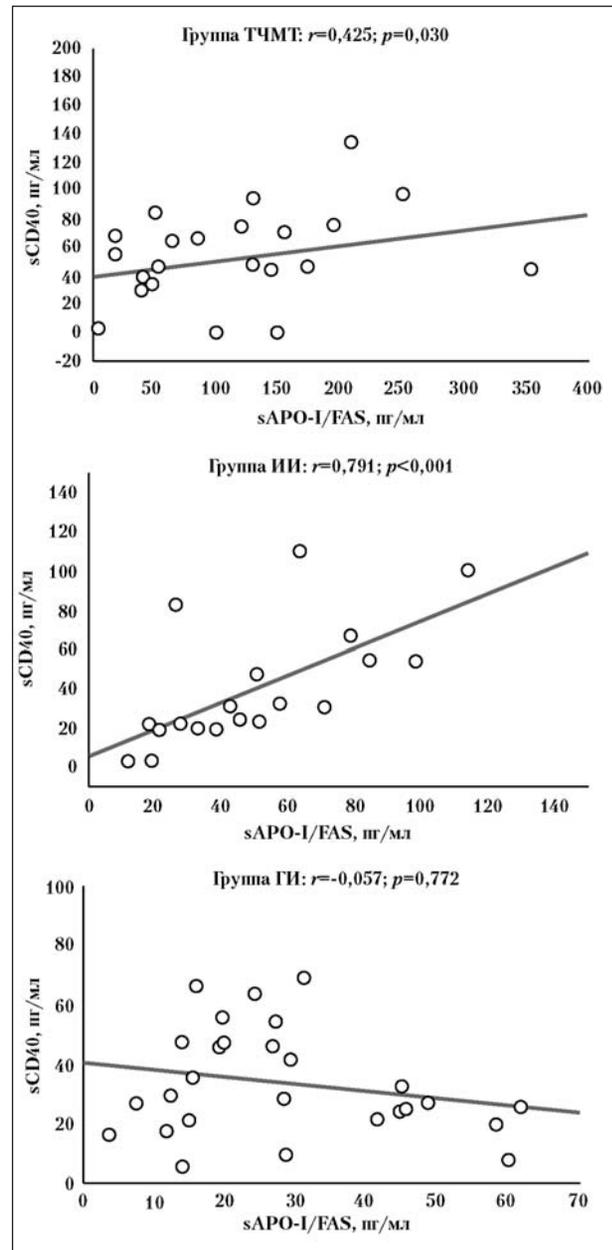


Рис. 2. Корреляционные связи sCD40 и sAPO-I/FAS в группах нейрореанимационных больных.

одной стороны, о воспалительном снижении его экспрессии на клетках органов и тканей, с другой стороны, о повышенной его рецепции, обусловленной увеличением hTRAIL-специфических активных (DR5, DR4) и неактивных (DcR2, DcR1) рецепторов. Связывание мембранного и растворимого hTRAIL с DR5, DR4 запускает механизм hTRAIL-опосредованного апоптоза. Соединение этого лиганда с DcR2 и DcR1, у которых отсутствует или функционально не активен домен смерти, приводит к снижению hTRAIL и предотвращению апоптоза. В литературе нам не встретилось данных об изучении экспрессии активных и неактивных рецепторов TRAIL на клетках ЦНС и крови при ТЧМТ и инсультах, поэтому механизм снижения этого лиганда является предметом дальнейших исследований.

Caspase-1 относится к семейству каспаз — внутриклеточных протеаз, играющих важную роль в воспалительных и апоптотических реакциях. Caspase-1 является IL-1 $\beta$  конвертирующим ферментом (ICE), катализирующим превращение его в зрелый цитокин. Влияя на количество активного IL-1 $\beta$ , ICE модулирует его участие, как в воспалительных, так и в апоптотических реакциях. Выявленное нами повышение caspase-1 в сыворотке крови у больных с ТЧМТ и инсультами в 1-е сутки отражает воспалительную и ишемическую индукцию синтеза IL-1 $\beta$ , как ни парадоксально, наиболее выраженную не при ТЧМТ, а при ИИ. В то же время при ТЧМТ ее повышение наблюдается длительно — по 14-е сутки острого периода, в то время как при ИИ — по 7-е сутки, а при ГИ к 7-м суткам уровень фермента уже не отличается от такового в контрольной группе. По-видимому, ишемия является одним из наиболее мощных индукторов повышенного синтеза ICE, в то время как тяжелое травматическое повреждение головного мозга пролонгирует повышенный его синтез. Обсуждается роль IL-1 и ICE в гемопоэзе, атеросклерозе, нейродегенеративных заболеваниях, изучается введение ингибиторов ICE для нейропротекции при нейродегенеративных заболеваниях [15]. Пролонгированное повышение caspase-1 при ТЧМТ и ИИ, возможно, оказывает влияние на усиление нейродегенеративных процессов при этих заболеваниях [16, 17]. При инсультах, независимо от их этиологии, выраженная сопряженность сывороточных caspase-1 и hTRAIL, несмотря на имеющиеся различия в динамике этих показателей, может отражать связь TRAIL-опосредованного апоптоза и ICE при локальной воспалительной реакции. В условиях системного воспаления при тяжелой травме головного мозга эта связь утрачивается.

## Заключение

Выявлены общие черты и различия в динамике сывороточных апоптотических маркеров в остром пе-

риод ТЧМТ, ишемического и геморрагического инсультов. Общей закономерностью было снижение в сыворотке hTRAIL и FAS-L. В рассмотренных группах нейроанимационных больных наблюдалось сходство и в изменении уровней в сыворотке крови растворимого рецептора CD40 и caspase-1/ICE. Снижение sCD40 отмечалось при ишемическом и геморрагическом инсультах с 1-х по 14-е сутки, а при ТЧМТ — с 7-х по 14-е сутки. Повышение caspase-1/ICE отмечалось при геморрагическом инсульте в 1-е сутки, ишемическом инсульте — с 1-х по 7-е сутки, при ТЧМТ — с 1-х по 14-е сутки. Наиболее выраженное увеличение уровня фермента в 1-ю неделю заболевания индуцировалось ишемией, а пролонгированное до 2-х недель — травматическим повреждением головного мозга. Динамика sAPO-I/FAS различалась во всех группах. Снижение показателя отмечалось весь период наблюдения при геморрагическом инсульте, умеренное снижение как тенденция — в 1-е и 14-е сутки — при ишемическом инсульте. При ТЧМТ в 1-е сутки наблюдалось выраженное увеличение sAPO-I/FAS с нормализацией показателя в дальнейшем.

При оценке связей между сывороточными показателями апоптоза выявлены различия в группах больных и в контрольной группе. При отсутствии воспалительных реакций в контрольной группе установлена сильная отрицательная корреляция между hTRAIL и sCD40, а так же — отрицательная достоверная связь между sAPO-I/FAS и caspase-1/ICE. Только при геморрагическом инсульте сопряженность изучаемых показателей частично сохраняла черты таковых в контрольной группе — оставалась связь между sCD40 и hTRAIL. Одновременно при геморрагических и ишемических инсультах, но не при ТЧМТ, появлялась достоверная связь caspase-1/ICE и hTRAIL. В сопряженности показателей апоптоза при ТЧМТ не выявлено общих черт с геморрагическим инсультом, но установлена общность с ишемическим инсультом, а именно, при ИИ и ТЧМТ появлялась связь между sCD40 и sAPO-I/FAS.

## Литература

1. Москалева Е. Ю., Северин С. Е. Возможные механизмы адаптации клетки к повреждениям, индуцирующим программированную гибель. Связь с патологией Патол. физиология и эксперим. терапия 2006; 2: 2–16.
2. Sperandio S., de Belle I., Bredesen D. E. An alternative, nonapoptotic form of programmed cell death. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2000; 97 (26): 14376–14381.
3. Zhang X., Chen Y., Jenkins L. W. et al. Bench-to-bedside review: Apoptosis/programmed cell death triggered by traumatic brain injury. Crit. Care 2005; 9 (1): 66–75.
4. Скворцова В. И. Участие апоптоза в формировании инфаркта мозга. Журн. невролог. психиатрии. Приложение «Инсульт». 2001; 2: 12–18.
5. Голубев А. М., Москалева Е. Ю., Северин С. Е., Веснянко Т. П. Апоптоз при критических состояниях. Общая реаниматология. 2006; II (5–6): 184–190.
6. Жданов Г. Н., Герасимова М. М. Иммунологические критерии в прогнозировании течения и исхода ишемического инсульта. Невролог. журн. 2005; 1 (10): 19–21.
7. Шевченко К. В., Четвертных В. А., Крацов Ю. И. Иммунопатологические изменения при тяжелой черепно-мозговой травме. Иммунология 2009; 3 (30): 180–184.
8. Aguilar-Lemarroy A., Romero-Ramos J. E., Olimon-Andalon V. et al. Apoptosis induction in Jurkat cells and sCD95 levels in women's sera are related with the risk of developing cervical cancer. BMC Cancer 2008; 8: 99.
9. Леонов А. В., Иванов Г. К. Апоптоз при тяжелой черепно-мозговой травме и его изменения при иммуномодуляции ронколейкином. Иммунология 2006; 4 (27): 246–248.
10. Герасимова М. М., Медведева С. Л. Моноклональные антитела CD95 в остром периоде ишемического инсульта при артериальной гипертонии. Журн. невролог. психиатрии. Приложение «Инсульт» 2004; 11: 60–63.
11. Харченко Е. П. Иммунная привилегия мозга: новые факты и проблемы. Иммунология 2006; 1 (27): 51–56.
12. Xu Y., Song G. The role of CD40-CD154 interaction in cell immunoregulation. J. Biomed. Sci. 2004; 11(4): 426–438.
13. Garlich C. D., Kozina S., Fateh-Moghadam S. et al. Upregulation of CD40-CD40 ligand (CD154) in patients with acute cerebral ischemia. Stroke 2003; 34 (6): 1412–1418.
14. Ishikawa M., Vowinkel T., Stokes K. Y. et al. CD40/CD40 ligand signaling in mouse cerebral microvasculature after focal ischemia/reperfusion. Circulation 2005; 111 (13): 1690–1696.
15. Livingston D. J. In vitro and in vivo studies of ICE inhibitors. J. Cell. Biochem. 1997; 64 (1): 19–26.
16. Martinou J. C., Sadoul R. ICE-like proteases execute the neuronal death program. Curr. Opin. Neurobiol. 1996; 6 (5): 609–614.
17. Vasilakos J., Shivers B. Watch for ICE in neurodegeneration. Mol. Psychiatry 1996; 1 (1): 72–76.

Поступила 01.09.09