



З. В. САЛІЙ, С. І. ШКРОБОТ

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет
ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України»

Взаємозв'язок клінічних та лабораторних показників у хворих з травматичною хворобою головного мозку

Мета — дослідити особливості процесів некрозу та апоптозу лейкоцитів периферичної крові залежно від провідного синдрому травматичної хвороби головного мозку.

Матеріали і методи. У 280 хворих з наслідками черепно-мозкової травми (ЧМТ) методом проточної цитофлуорометрії дослідили вміст у периферичній крові активних форм кисню і клітин, позитивних за проридію йодидом та аннексином V. Неврологічний статус оцінювали за Neurological Outcome Scale for Traumatic Brain Injury (NOS-TBI), стан когнітивної сфери — за Монреальською шкалою когнітивного дефіциту (MoCA). З метою скринінгу рівня тривожності та депресії всі пацієнти заповнювали опитувальник HADS.

Результати. У 138 (49,3%) пацієнтів незалежно від тяжкості первинного епізоду мало місце прогресування патологічного процесу: при легкій ЧМТ — у 44,2%, при ЧМТ середньої тяжкості — у 50,0%, при тяжкій ЧМТ — у 53,1%. Провідними синдромами травматичної хвороби головного мозку були синдром екстрапірамідної недостатності (1-ша група, n=36), когнітивних розладів (2-га група, n=42), судомний (3-тя група, n=32) та лікворно-гіпертензивний (4-та група, n=24). Прогресування провідного синдрому відбувалося на тлі активації процесів некрозу/апоптозу лейкоцитів периферичної крові.

Висновки. Достовірно вищий рівень клітин, позитивних за аннексином V, відзначено у пацієнтів із синдромом екстрапірамідної недостатності та когнітивного дефіциту. Незалежно від тяжкості ЧМТ високий вміст клітин, позитивних за проридію йодидом, виявлено за наявності лікворно-гіпертензивного синдрому в поєднанні із судомним (легка травма), синдромом когнітивної дисфункції (травма середньої тяжкості) та екстрапірамідної недостатності (тяжка травма). Установлено прямо пропорційну кореляцію між часткою клітин на стадії апоптозу та рівнем депресії за шкалою HADS (легка травма), а також терміном травми (травма середньої тяжкості).

Ключові слова: наслідки черепно-мозкової травми, синдроми, апоптоз, активні форми кисню, лейкоцити периферичної крові.

Пластична та енергетична перебудова головного мозку після черепно-мозкової травми (ЧМТ) триває багато років і є результатом двох протилежно спрямованих процесів: дегенеративно-деструктивного та регенеративно-репаративного.

У дослідженнях, проведених за останні 10 років, увагу приділено механізмам вторинного ушкодження головного мозку: ексайтотоксичності, накопиченню внутрішньоклітинного кальцію, продукції активних форм кисню (АФК), дисфункції мітохондрій, запальним змінам та активації проапоптотичних генів [3, 5]. Цей каскад біохімічних і молекуляр-

них подій лежить в основі нейродегенеративної патології, що стало приводом для вивчення ЧМТ як важливого чинника ризику розвитку хвороби Альцгеймера та інших видів деменції [9], хвороби Паркінсона, постконтузійної енцефалопатії тощо [6].

З огляду на схожість процесів синтезу й обміну дофаміну в клітинах імунної та нейрональної систем для дослідження механізмів патогенезу нейродегенеративних захворювань часто використовують лейкоцити периферичної крові [4]. Встановлено активацію апоптозу у фракціях лейкоцитів при хворобі Паркінсона [2]. Припускають [10], що апоптоз лейкоцитів периферичної крові є важливим біомаркером оцінки функціонального стану за цієї

© З. В. Салій, С. І. Шкробот, 2015

патології та може бути предиктором прогресування нейродегенеративного процесу.

Нами встановлена активація процесів некрозу та апоптозу лейкоцитів периферичної крові у хворих з наслідками ЧМТ і достовірна залежність цього процесу лише від варіанта перебігу травматичної хвороби головного мозку [1]. На відміну від гострого періоду ЧМТ [7], нами не зафіксовано статистично достовірного впливу тяжкості та катанезу перенесеної травми, а також віку хворого на збільшення вмісту лейкоцитів, мічених аннексином та пропідію йодидом, що спонукало до пошуку додаткових чинників.

Мета роботи — дослідити особливості процесів некрозу та апоптозу лейкоцитів периферичної крові залежно від провідного синдрому травматичної хвороби головного мозку.

Матеріали і методи

Обстежено 280 хворих з наслідками ЧМТ. Середній вік пацієнтів основної групи — $(42,54 \pm 0,59)$ року, середній катанез травми — $(8,02 \pm 0,49)$ року. Серед пацієнтів переважали чоловіки (233 (83,21 %)).

Дизайн дослідження передбачав вік пацієнтів від 18 до 60 років, формування груп з різною тяжкістю ЧМТ (легка (ЛЧМТ, $n = 95$), середньої тяжкості (СТЧМТ, $n = 72$), тяжка (ТЧМТ, $n = 113$)) і катанезом травми, відсутність в анамнезі даних про онкопатологію та соматичної патології в стадії декомпенсації.

Неврологічний статус оцінювали за Neurological Outcome Scale for Traumatic Brain Injury (NOS-TBI) [11], стан когнітивної сфери — за Монреальською шкалою когнітивного дефіциту (MoCA; www.mocatest). З метою скринінгу рівня тривожності та депресії всі пацієнти заповнювали опитувальник HADS.

Достовірної різниці за віком, терміном травми, результатами тестування за шкалами MoCA та HADS між пацієнтами з різною тяжкістю ЧМТ не було. Достовірно ($p < 0,05$) вище значення показника NOS-TBI у хворих з наслідками ТЧМТ було закономірним.

За результатами аналізу динаміки захворювання та анамнестичних даних, у 134 (47,9 %) пацієнтів

незалежно від тяжкості первинного епізоду прогресував патологічний процес у вигляді приєднання екстрапірамідної симптоматики, виникнення та поглиблення когнітивного дефіциту (до рівня помірного та вираженого когнітивного зниження), а також судомного та лікворно-гіпертензивного синдромів. Частка таких хворих становила: при ЛЧМТ — 44,2 %, при СТЧМТ — 50,0 %, при ТЧМТ — 53,1 %. Співвідношення в групі з прогресивним характером травматичної хвороби головного мозку: 30,4 % — ЛЧМТ, 26,1 % — СТЧМТ та 43,5 % — ТЧМТ.

Для оцінки апоптозу лейкоцитів крові використовували FITC (флуоресцеїн ізотіоціанат) — мічений аннексин V з набору реагентів Annexin V FITC (Beckman Coulter, США). Аналіз проб проводили на проточному цитометрі Epics XL (Beckman Coulter, США) з аргонним лазером. Дискримінаційний аналіз типу клітинної смерті охоплював: 2-й квадрант — клітини, позитивні за проридію йодидом (PI+) та аннексином V (AnV+) — FITC — пізня стадія апоптозу або некроз; 3-й квадрант — клітини, негативні за PI і аннексином V—FITC — життєздатні клітини; 4-й квадрант — клітини, позитивні за аннексином V—FITC і негативні за PI — рання стадія апоптозу. Отримані результати наведено у відсотках (відношення кількості аннексин-позитивних клітин до загальної кількості фракцій лейкоцитів).

Рівень продукції АФК аналізували за інтенсивністю світіння барвника дихлорфлуоресцеїну діацетату (Sigma Aldrich, США) на проточному цитофлуориметрі Epics XL (Beckman Coulter, США). Значення виражали у відсотках [8].

Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України» за допомогою програмного пакета Statsoft Statistica.

Результати та обговорення

Провідними синдромами при прогресуванні травматичної хвороби головного мозку були: синдром екстрапірамідної недостатності (1-ша група, 36 хворих, 26,87 %), синдром когнітивних розладів (2-га група, 42 хворих, 31,34 %), судомний (3-тя гру-

Т а б л и ц я

Клініко-лабораторна характеристика хворих з травматичною хворобою головного мозку (розподіл за провідним синдромом)

Показник	1-ша група (n = 36)	2-га група (n = 42)	3-тя група (n = 32)	4-та група (n = 24)
Середній вік, роки	$46,08 \pm 1,33$	$43,74 \pm 1,53$	$41,91 \pm 1,67$	$41,85 \pm 1,52$
Термін травми, роки	$14,50 \pm 1,61$	$8,84 \pm 1,14$	$10,41 \pm 1,32$	$8,19 \pm 1,30$
NOS-TBI, бали	$3,72 \pm 0,39$	$4,12 \pm 0,45$	$2,84 \pm 0,35$	$3,19 \pm 0,34$
АФК+, %	$42,73 \pm 2,04$	$40,76 \pm 1,63$	$41,44 \pm 2,14$	$38,38 \pm 2,12$
PI+, %	$1,75 \pm 0,20$	$1,66 \pm 0,17$	$1,79 \pm 0,18$	$2,17 \pm 0,42$
An V+, %	$32,49 \pm 1,74$	$29,68 \pm 1,50^*$	$27,59 \pm 1,37^*$	$27,45 \pm 1,57^*$

* Різниця щодо 1-ї групи статистично значуща ($p < 0,05$).

па, 32 хворих, 23,88 %) та лікворно-гіпертензивний синдроми (4-та група, 24 хворих, 17,91 %). Загальну характеристику груп хворих, а також результати лабораторного дослідження наведено в таблиці.

Групи були репрезентативні за віком. Жінок у 1-й групі було 2,77 %, у 2-й — 9,52 %, у 3-й — 21,87 %, у 4-й — 23,08 %. Незважаючи на різницю в значень шкали NOS-TBI (найнижче — у 3-й групі, найвище — у 2-й групі), вона не була достовірною.

Концентрація лейкоцитів з підвищеним вмістом АФК+ та клітин на стадії некрозу достовірно не відрізнялася у групах, проте кількість лейкоцитів на стадії апоптозу в пацієнтів 1-ї групи була достовірно вищою за таку в решті груп. Катамнез захворювання у пацієнтів 1-ї групи був достовірно тривалішим, 38,89 % з них перенесли травму понад 20 років тому. Однак кореляційна залежність між значенням показником та AnV+ була обернено пропорційною ($r = -0,4$), що не пояснює достовірно вище значення AnV+ у 1-й групі групи.

Вияви екстрапірамідної недостатності у 1-й групі поєднувалися зі зниженням когнітивного функціонування за MoCA-тестом — $(21,03 \pm 0,52)$ бала. У 8 (22,22 %) пацієнтів діагностували виражене когнітивне зниження, у 25 (69,44 %) — легке. В середньому пацієнти продемонстрували субклінічний рівень тривожності та депресії — $(9,77 \pm 0,62)$ і $(9,91 \pm 0,57)$ бала відповідно. Встановлено обернено пропорційний кореляційний зв'язок помірної сили між результатами MoCA-тесту і вираженістю процесів тривожності ($r = -0,41$, $p = 0,013$) та депресії ($r = -0,45$, $p = 0,005$). Достовірного впливу лабораторних показників (АФК+, PI+, AnV+) на рівень неврологічного і когнітивного дефіциту не встановлено.

У пацієнтів 2-ї групи в динаміці спостереження прогресував когнітивний дефіцит. Так, середній результат MoCA-тесту становив $(17,26 \pm 0,26)$ бала, що було достовірно нижче за показники інших груп. У 66,66 % пацієнтів показники були в межах вираженого когнітивного зниження. За шкалою HADS тривожність у середньому оцінено $(9,78 \pm 0,46)$ бала, депресію — $(9,00 \pm 0,4)$ бала. 47,62 % пацієнтів мали вияви клінічно вираженої депресії. Концентрація клітин у фазі апоптозу збільшувалася зі зростанням катамнезу травми ($r = +0,46$, $p = 0,002$).

У хворих 3-ї групи концентрація АФК+ та AnV+ також залежала від тривалості посттравматичного періоду ($r = +0,47$, $p = 0,07$ та $r = +0,37$, $p = 0,041$) і рівня депресії ($r = +0,26$, $p = 0,05$). Середній результат MoCA-тесту — $(22,44 \pm 0,41)$ бала. За шкалою HADS тривожність у середньому оцінено $(9,97 \pm 0,52)$ бала, депресію — $(7,34 \pm 0,55)$ бала. Зафіксовано обернено пропорційну залежність помірної сили між кількістю лейкоцитів на стадії апоптозу та результатом MoCA-тесту ($r = -0,35$, $p = 0,05$).

У 4-й групі діагностовано достовірно нижчий (порівняно з 1-ю групою) вміст AnV+. Рівень тривожності у цих пацієнтів був найвищим — $(10,14 \pm 0,67)$ бала, оцінка депресії — $(7,73 \pm 0,71)$ бала.

Отже, прогресування захворювання відбувалося на тлі активації процесів некрозу/апоптозу лейкоцитів периферичної крові, особливо значущими ці зміни були в групах із синдромами екстрапірамідної недостатності та когнітивного дефіциту.

При ЛЧМТ переважав синдром екстрапірамідної недостатності, а при ТЧМТ — синдром когнітивних розладів (рис. 1). Серед пацієнтів з наслідками СТЧМТ спостерігали рівномірний розподіл синдромів (екстрапірамідної недостатності, когнітивного дефіциту та судомного), при достовірно ($p < 0,05$) найнижчому відсотку хворих з виявами лікворно-гіпертензивного синдрому. Частка хворих з виявами екстрапірамідної недостатності зменшувалася в міру зростання тяжкості ЧМТ (від 35,71 % — при ЛЧМТ до 20 % — при ТЧМТ), а динаміка частки пацієнтів із синдромом когнітивних розладів була протилежною (19,04 % — при ЛЧМТ, 27,78 % — при СТЧМТ, 41,67 % — при ТЧМТ).

Другим за частотою синдромом у групі з наслідками ЛЧМТ був лікворно-гіпертензивний. Саме у пацієнтів цієї групи кризовий перебіг діагностували частіше, ніж при СТЧМТ та ТЧМТ.

Установлено (рис. 2), що:

- незалежно від тяжкості ЧМТ достовірно вищі значення AnV+ були у групах із синдромом екстрапірамідної недостатності та когнітивного дефіциту;
- найвищі показники AnV+ зафіксовано у хворих з наслідками ЛЧМТ (за винятком групи з провідним судомним синдромом).

У групі з наслідками ЛЧМТ та провідним синдромом екстрапірамідної недостатності виявлено обернено пропорційний зв'язок між вмістом клітин на стадії апоптозу (AnV+) і віком пацієнтів ($r = -0,56$, $p = 0,029$) та прямо пропорційний — з рівнем депресії за шкалою HADS ($r = +0,73$, $p = 0,002$).

У групі з наслідками СТЧМТ установлено кореляційну залежність між AnV+ і терміном травми

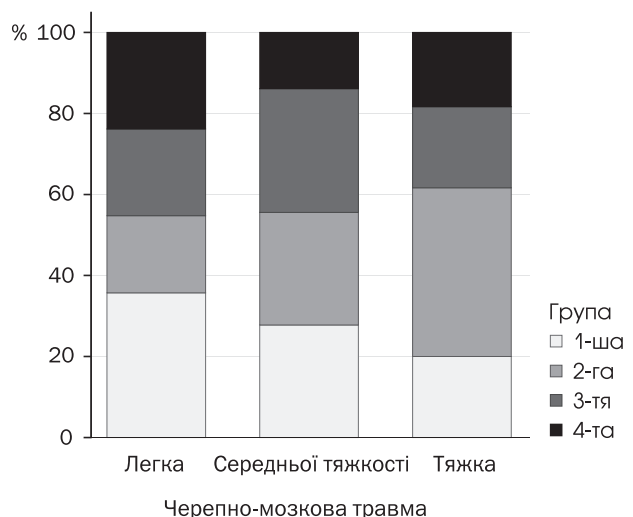


Рис. 1. Розподіл пацієнтів з різною тяжкістю черепно-мозкової травми за провідним синдромом

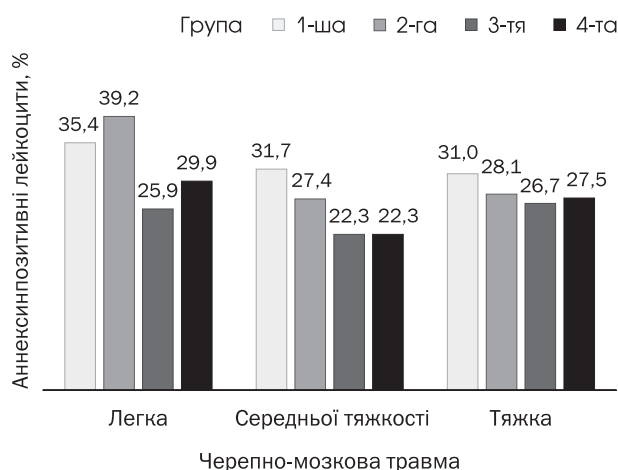


Рис. 2. Вміст аннексинпозитивних лейкоцитів периферичної крові залежно від клінічного варіанта наслідків черепно-мозкової травми

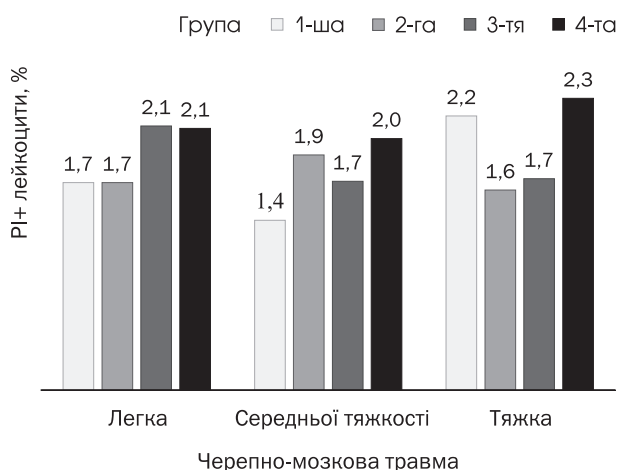


Рис. 3. Вміст PI+ лейкоцитів периферичної крові залежно від клінічного варіанта наслідків черепно-мозкової травми

($r = +0,77$, $p = 0,015$ (провідний синдром когнітивних розладів) і $r = +0,78$, $p = 0,007$ (провідний судомний синдром).

При дослідженні вмісту PI+ лейкоцитів периферичної крові залежно від провідного синдрому травматичної хвороби головного мозку (рис. 3) встановлено такі особливості:

- незалежно від тяжкості ЧМТ найвищі показники PI+ були за наявності лікворно-гіпертензивного синдрому в поєднанні із судомним (ЛЧМТ), синдромом когнітивної дисфункції (СТЧМТ) та екстрапірамідної недостатності (ТЧМТ);

- у хворих із провідним синдромом екстрапірамідної недостатності (ЛЧМТ) встановлено обернено пропорційну залежність між PI+ і терміном травми ($r = -0,49$, $p = 0,15$), а також результатом MoCA-тесту ($r = -0,57$, $p = 0,025$).

У хворих із наслідками ТЧМТ та провідним лікворно-гіпертензивним синдромом залежність між

PI+ та неврологічним дефіцитом за NOS-TBI була обернено пропорційною ($r = -0,71$, $p = 0,014$).

Висновки

Прогресування провідного синдрому травматичної хвороби головного мозку відбувалося на тлі активації процесів некрозу/апоптозу лейкоцитів периферичної крові. Достовірно вищі значення ANV+ були в пацієнтів із синдромом екстрапірамідної недостатності та когнітивного дефіциту. Незалежно від тяжкості ЧМТ найвищі значення PI+ були за наявності лікворно-гіпертензивного синдрому в поєднанні із судомним (легка травма), синдромом когнітивної дисфункції (травма середньої тяжкості) та екстрапірамідної недостатності (тяжка травма). Встановлено прямо пропорційний кореляційний зв'язок між часткою клітин на стадії апоптозу та рівнем депресії за шкалою HADS (легка травма) і терміном травми (травма середньої тяжкості).

Література

1. Салій З. В. Клініко-лабораторні співвідношення при черепно-мозковій травмі // Science Rise. — 2015. — № 8/3 (13). — С. 58—64.
2. Calopa M., Bas J., Callén A., Mestre M. Apoptosis of peripheral blood lymphocytes in Parkinson patients // Neurobiol. Dis. — 2010. — Vol. 38, N 1. — P. 1—7.
3. Cheng G., Kong R. H., Zhang L. M., Zhang J. N. Mitochondria in traumatic brain injury and mitochondrial-targeted multipotential therapeutic strategies // Br. J. Pharmacol. — 2012. — Vol. 167. — P. 699—719.
4. Cosentino M., Marino F., Bombelli R. et al. Endogenous catecholamine synthesis, metabolism, storage and uptake in human neutrophils // Life Sci. — 1999. — Vol. 64. — P. 975—981.
5. De Calignon A., Fox L. M., Pitstick R. et al. Caspase activation precedes and leads to tangles // Nature. — 2010. — Vol. 464. — P. 1201—1204.
6. Gardner R. C., Yaffe K. Epidemiology of mild traumatic brain injury and neurodegenerative disease // Mol. Cell. Neurosci. — 2015. — Vol. 66 (Pt B). — P. 75—80.
7. Hung-Chen Wang, Tzu-Ming Yang, Yu-Jun Lin et al. Serial serum leukocyte apoptosis levels as predictors of outcome in acute traumatic brain injury // BioMed. Res. International. — 2014. — Article ID 720870.
8. Li W., Liu H., Zhou J.-S. et al. Caveolin-1 inhibits expression of antioxidant enzymes through direct interaction with nuclear erythroid 2 p45-related factor-2 (Nrf2) // J. Biol. Chem. — 2012. — Vol. 287, N 25. — P. 20922—20930.
9. Vincent A. S., Roebuck-Spencer T. M., Cernich A. Cognitive changes and dementia risk after traumatic brain injury: implications for aging military personnel // Alzheimers Dement. — 2014. — N 10 (suppl. 3). — S. 174—187.
10. Wei-Che Lin, Nai-Wen Tsai, Yung-Cheng Huang et al. Peripheral leukocyte apoptosis in patients with parkinsonism: correlation with clinical characteristics and neuroimaging findings // BioMed Res. Intern. — 2014. — Vol. 2014. — Article ID 635923.
11. Wilde E. A., McCauley S. R., Kelly T. M. et al. Feasibility of the Neurological Outcome Scale for Traumatic Brain Injury (NOS-TBI) in adults // J. Neurotrauma. — 2010. — Vol. 27, N 6. — P. 975—981.

З. В. САЛІЙ, С. І. ШКРОБОТ

ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет
им. И. Я. Горбачевского МОЗ Украины»

Взаимосвязь клинических и лабораторных показателей у больных с травматической болезнью головного мозга

Цель — исследовать особенности процессов некроза и апоптоза лейкоцитов периферической крови в зависимости от ведущего синдрома травматической болезни головного мозга

Материалы и методы. У 280 больных с последствиями черепно-мозговой травмы (ЧМТ) методом проточной цитофлуориметрии исследовали содержание в периферической крови активных форм кислорода и клеток, положительных по проридию йодиду и аннексину V. Неврологический статус оценивали по Neurological Outcome Scale for Traumatic Brain Injury (NOS-TBI), состояние когнитивной сферы — по Монреальской шкале когнитивного дефицита (MoCA). С целью скрининга уровня тревожности и депрессии все пациенты заполняли опросник HADS.

Результаты. У 138 (49,3%) пациентов независимо от тяжести первичного эпизода установлено прогрессирование патологического процесса: при легкой ЧМТ — у 44,2%, при ЧМТ средней тяжести — у 50,0%, при тяжелой ЧМТ — у 53,1%. Ведущими синдромами травматической болезни головного мозга были синдром экстрапирамидной недостаточности (1-я группа, n=36), синдром когнитивных расстройств (2-я группа, n=42), судорожный (3-я группа, n=32) и ликворно-гипертензивный (4-я группа, n=24). Прогрессирование ведущего синдрома травматической болезни происходило на фоне активации процессов некроза/апоптоза лейкоцитов периферической крови.

Выводы. Достоверно более высокий уровень значения клеток, положительных по аннексину V, отмечен у пациентов с синдромом экстрапирамидной недостаточности и когнитивного дефицита. Независимо от тяжести ЧМТ высокое содержание клеток, положительных по проридию йодиду, выявлено при наличии ликворно-гипертензивного синдрома в сочетании с судорожным синдромом (легкая травма), синдромом когнитивной дисфункции (травма средней тяжести) и экстрапирамидной недостаточности (тяжелая травма). Установлена прямо пропорциональная корреляция между долей клеток в стадии апоптоза и уровнем депрессии по шкале HADS (легкая травма), а также катамнезом травмы (травма средней тяжести).

Ключевые слова: последствия черепно-мозговой травмы, синдромы, апоптоз, активные формы кислорода, лейкоциты периферической крови.

Z. V. SALII, S. I. SHKROBOT

I. Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University of Health Ministry of Ukraine

Clinical and laboratory correlation in patients with consequences of traumatic brain injury

Objective — to find out the peculiarities of peripheral blood leukocytes' necrosis and apoptosis according to the leading syndrome of traumatic brain disease

Methods and subjects. In 280 patients with consequences of traumatic brain injury (TBI) the content of APK, PI+ and AnV+ in peripheral blood was examined by flow cytometry. Neurological status was evaluated by means of Neurological Outcome Scale for Traumatic Brain Injury (NOS-TBI), cognitive status was evaluated by means of Montreal Cognitive Assessment scale (MoCA). For screening of anxiety and depression all patients filled out a questionnaire of HADS.

Results. In 138 (49.3%) patients a progression of the pathological process has been observed regardless of the severity of the initial episode. The proportion of these patients was: mild TBI — 44.2%, moderate severity of TBI — 50.0%, severe TBI — 53.1%. The leading syndromes of traumatic brain disease were: extrapyramidal insufficiency (1st group, 36 patients, 26.87%), syndrome of cognitive decline (2nd group, 42 patients, 31.34%), seizures (3rd group 32 patients, 23.88%) and CSF-hypertensive syndrome (4th group, 24 patients, 17.91%). Progression of the leading syndrome at traumatic brain disease has been accompanied by activation of necrosis/apoptosis of peripheral blood leukocytes.

Conclusions. Significantly higher values of AnV+ were observed in patients with extrapyramidal insufficiency and cognitive decline. Regardless of the TBI severity the highest rates of PI+ were diagnosed in case of CSF-hypertensive syndrome in combination with seizures (LTBI), cognitive decline (MTBI) and extrapyramidal insufficiency (STBI). A direct correlation was established between the percentage of cells in the stage of apoptosis and the level of depression according to the scale of HADS (LTBI) and term of injury (MTBI).

Key words: consequences of traumatic brain injury, syndromes, apoptosis, reactive oxygen species, leukocytes.