

Бичкова Н.Г.,
Присяжнюк А.П.,
Ахтемійчук О.С.

СТАН СИСТЕМНОГО ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ ПІСЛЯ ПЕРЕНЕСЕНОГО ГОСТРОГО ПОРУШЕННЯ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ ЗА ІШЕМІЧНИМ ТИПОМ НА РІЗНИХ ЕТАПАХ РЕАБІЛІТАЦІЇ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Резюме. В статті наведені дані про стан клітинного та гуморального імунітету і цитокінового статусу у хворих в різні реабілітаційні періоди після перенесеного ішемічного інсульту. Встановлено, що у хворих після перенесеного ішемічного інсульту зміни в імунному та цитокіновому статусах прямопропорційно залежать від періоду реабілітації.

Ключові слова: клітинний та гуморальний імунітет, цитокіни, ішемічний інсульт, періоди реабілітації.

Вступ. На сьогоднішній день цереброваскулярні захворювання завдяки високій розповсюдженості та значному рівню інвалідизації являють собою одну із важливих медико – соціальних проблем. Серед них значну частину складають гострі порушення мозкового кровообігу (ГПМК), які щорічно вражають від 5,6 до 7,0 млн. людей та забирають життя у 4,6 млн. чоловік на планеті. Аналогічна ситуація і на Україні, де щорічно фіксується понад 150 тисяч інсультів, а смертність від цереброваскулярної патології займає друге місце в структурі загальної смертності населення нашої країни [1]. Дослідженнями останнього часу доведено, що нейроімунні зв'язки при різних захворюваннях нервової системи можуть змінюватись, і, тим самим, призводити до порушень функції імунної системи, розвитку аутоімунних реакцій до антигенів мозку та впливати опосередковано на виникнення ГПМК, його перебіг та наслідки. Невидлячись на значні досягнення у вивченні патологічних процесів, що призводять до порушень функції імунної системи при виникненні ГПМК, його перебігу та ускладнень, багато питань залишаються невивченими, а значна їх частина потребує більш детального дослідження на сучасному методичному рівні. Зокрема це стосується вивчення особливостей запально-нейроімунних порушень у хворих після перенесеного ГПМК на різних етапах реабілітації, залежно як від ступеня неврологічного дефіциту, так і глибини змін в імунній системі, локалізації ішемічного інсульту, розробки показань до імунокорекції та її обґрунтування і вибору.

Мета роботи – визначити стан імунного та цитокінового статусу у хворих після перенесеного ГПМК за ішемічним типом на різних етапах реабілітації.

Матеріал та методи. Для вирішення поставленої мети було обстежено 195 хворих залежно від

періоду реабілітації, з них в періоді ранньої реабілітації (I період) – 64 особи (32,82%), в пізньому (II період) – 73 особи (37,44%), а в періоді резидуальних явищ (III період) – 58 осіб (29,74%). Одночасно було обстежено контрольну групу із 34 здорових осіб, рандомізованих за віком та статтю.

Комплексне дослідження включало клініко – анамнестичне обстеження, КТ головного мозку або МРТ, що дозволило виявити ознаки ішемічного ураження різної локалізації, розміру та давності ураження, а також дослідження стану системного імунітету. Вміст основних та активованих популяцій та субпопуляцій лімфоцитів вивчали непрямым імуофлюоресцентним методом за допомогою моноклональних антитіл на аналізаторі Facscan (Beckton Dickinson) [2]. Сироваткову концентрацію інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1 β), інтерлейкіну-6 (ІЛ-6), інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) та фактору некрозу пухлин- α (ФНП- α) вивчали імуоферментним методом за методикою, розробленою фірмою виробником, функціональну активність Т-лімфоцитів – за допомогою РБТЛ з ФГА [3], В-лімфоцитів – за продукцією сироваткових Іg G, Іg A, Іg M [4]. Концентрацію ЦІК визначали методом преципітації в розчині ПЕГ-6000 з виділенням фракцій ЦІК за молекулярною масою [5]. Вивчення фагоцитарної активності нейтрофілів оцінювали за ступенем поглинання часток латексу діаметром 1,2 мкм із обчисленням фагоцитарного індексу Гамбурга та фагоцитарного числа Райта [2]. Для оцінки обґрунтованості та достовірності отриманих результатів проводилась статистична обробка даних з використанням комп'ютерної програми Microsoft Excel.

Результати досліджень. В результаті проведених досліджень встановлено, що вміст лейкоцитів та лімфоцитів у хворих в різні періоди реабілітації після інсульту не відрізнявся від значень контрольної групи та між собою ($p > 0,1$). Дані

показники свідчили про те, що навіть у хворих у ранній реабілітаційний період не спостерігалось ознак гострої запальної реакції, які б проявилися лейкоцитозом або лімфопенією та нейтрофіліозом (табл. 1).

Вміст CD3+ лімфоцитів, CD4+ лімфоцитів та CD8+ лімфоцитів не мав вірогідних відмінностей ($p > 0,1$) від даних контрольної групи та між собою по періодам, що свідчить, на нашу думку, як про відсутність супресивного впливу на Т-ланку імунітету у даних хворих, так і про збереженість функціональної активності клітинної ланки імунної системи в усі періоди реабілітації після інсульту.

Поряд з кількісним складом основних імунорегуляторних субпопуляцій (Т-хелперів та Т-цитотоксичних лімфоцитів-супресорів), який не відрізнявся від даних у здорових осіб, спостерігалось їх нормальне співвідношення, яке не мало вірогідних відмінностей від даних контрольної групи ($p > 0,1$).

У хворих в різні періоди реабілітації після інсульту виявлено підвищення вмісту В-лімфоцитів порівняно з даними контрольної групи ($p > 0,1$).

Вміст CD16+ лімфоцитів не відрізнявся від значень контрольної групи ($p > 0,1$) у хворих в пер-

ший період та був вірогідно ($p < 0,01$) нижчим в другий та третій період. Вміст активованих лімфоцитів з фенотипом CD25+ у всіх групах хворих був вірогідно нижчим ($p < 0,01$) за показники контрольної групи і становив до 50% від рівня у здорових осіб.

Відносна кількість лімфоцитів, які експресують молекулу адгезії ICAM-1 (CD54+), була втричі меншою у хворих в ранній реабілітаційний період та вдвічі меншою від показників контрольної групи у хворих в 2 та 3 період хвороби, що свідчило про більш глибокі порушення процесів міжклітинної взаємодії імунокомпетентних клітин в ранній реабілітаційний період. Відносний вміст активованих CD95+ лімфоцитів, які експресують FAS-рецептор, був вірогідно вищим за показники здорових осіб в усіх групах хворих. При цьому вміст даної субпопуляції лімфоцитів в перший період захворювання був вірогідно вищим на 54% ($p > 0,01$), ніж в другий та третій.

Таким чином, проведений аналіз показників клітинної ланки імунітету в різні періоди реабілітації після ГПМК виявив, що вміст Т-лімфоцитів та їх основних імунорегуляторних субпопуляцій (CD4+ та CD8+ лімфоцитів) не мав вірогідних відмінностей від значень цих показників у здорових

Таблиця 1.

Стан клітинного імунітету у хворих після перенесеного ГПМК за ішемічним типом залежно від періоду реабілітації (M±m)

Імунологічні показники	Хворі, обстежені в I період (n=64)	Хворі, обстежені в II період (n=73)	Хворі, обстежені в III період (n=58)	Контрольна група (n=34)
Лейкоцити, $\times 10^9/\text{л}$	7,31±0,63	8,24±0,65	6,72±0,58	6,98±0,47
Лімфоцити, %	28,3±2,57	26,51±2,41	25,68±2,17	31,56±1,52
CD3+ лімфоцити, %	73,8±6,21	69,5±5,26	67,2±5,36	65,48±3,59
CD4+ лімфоцити, %	35,6±3,24	36,8±3,15	33,2±3,12	32,41±1,67
CD8+ лімфоцити, %	26,1±2,02	23,8±2,14	25,3±2,10	20,13±1,15
CD4/CD8	1,36±0,11	1,55±0,12	1,31±0,14	1,61±0,07
CD19+ лімфоцити, %	11,9±1,12*	12,4±1,14*	10,8±0,99	8,15±1,04
CD16+ лімфоцити, %	19,8±1,43	11,36±1,22*	12,72±1,2*	18,71±1,28
CD25+ лімфоцити, %	6,97±0,51*	6,78±0,57*	6,85±0,67*	12,53±0,69
CD54+ лімфоцити, %	3,62±0,34*	6,52±0,52*	6,44±0,43*	11,24±0,57
CD95+ лімфоцити, %	8,68±0,53*	6,29±0,48*	5,53±0,51*	3,38±0,18
РБТЛ з ФГА, %	79,52±2,36	81,94±3,69	83,64±3,71	75,21±1,40
Спонтанна РБТЛ, %	4,95±0,12*	4,52±0,19*	3,81±0,15*	2,83±0,12
Фагоцитарний індекс, %	78,93±1,65*	81,09±2,18*	82,51±3,4*	62,60±1,7
Фагоцитарне число	3,25±0,02*	3,41±0,04*	4,15±0,09*	6,31±0,22

Примітки: * $p < 0,05$ – вірогідність різниці показників відносно даних контрольної групи здорових осіб;

n – кількість обстежених.

осіб та характеризувався збереженням відносного та абсолютного вмісту. На нашу думку, це пов'язано з тим, що хворі проходили імунологічне обстеження не в гострий період ішемічного інсульту, коли інтенсивна терапія може чинити вплив на показники клітинної ланки імунітету та більш виражена загальна запальна реакція організму.

В той же час, нами виявлено зменшення кількості NK-клітин в пізній реабілітаційний період та період резидуальних явищ, що може бути пов'язано, насамперед, з проведенням профілактичного курсу лікування, а також зниження вмісту популяції В-лімфоцитів по мірі віддалення від моменту інсульту.

Отже, не дивлячись на збережений вміст основних популяцій лімфоцитів, їх здатність до активації і експресії при цьому α -ланцюга рецептора IL-2R була значно зменшена, що свідчить про пригнічення ранніх активаційних реакцій лімфоцитів у хворих, що перенесли ішемічний інсульт.

Вміст активованих лімфоцитів, які експресують FAS-рецептор та готові вступити в апоптоз, також залежав від періоду хвороби і був найвищим в перший період, що може бути пов'язано, на нашу думку, як з високою концентрацією у сироватці крові цих хворих прозапальних цитокінів, а саме ФНП- α , так і з короткими термінами, що пройшли після гострої фази захворювання та проведення масивної інтенсивної медикаментозної терапії (до 6 міс).

Дослідження функціональної активності Т-лімфоцитів за даними РБТЛ з ФГА та спонтанної РБТЛ показало, що по мірі віддалення часу від

моменту ГПМК зростала їх стимульована ФГА проліферативна активність.

Дослідження фагоцитарної ланки імунної системи показало, що у всіх пацієнтів після перенесеного ГПМК за ішемічним типом фагоцитарна активність нейтрофілів була підвищеною, а фагоцитарний індекс перевищував значення у здорових осіб від 29,54 % в I період до 10,97 % в третій, що, ймовірно, було обумовлено наявністю циркулюючих аутомозових антигенів, що стимулювало процеси фагоцитозу. В той же час поглинальна активність нейтрофілів та їх переважуюча здатність були зниженими по відношенню до даних у здорових осіб, складаючи 51,5% від норми в II період та 54,40% в III період реабілітації ($p < 0,01$), що, на наш погляд, може бути обумовлено недостатньою клінічною ефективністю застосованого лікувального комплексу і могло передбачати доцільність додаткового застосування імунокоригуючої терапії.

Дослідження концентрації сироваткових імуноглобулінів класів IgG, IgA та IgM показало, що рівень IgG – антитіл у пацієнтів з наслідками ішемічного інсульту зростав по мірі віддалення часу від моменту ГПМК (табл.2), перевищуючи дані у здорових осіб ($p < 0,01$), що може бути обумовлено як наявністю антигенемії, так і тривалістю запального процесу. Навпаки, вміст IgA у всі періоди реабілітації був зниженим – від 47,57% в I період до 67,0% в III-й, а IgM, перевищуючи дані здорових в I та II періоді, сягав норми в періоді резидуальних явищ ($p < 0,01$).

При дослідженні гуморальної ланки імунної системи хворих, що перенесли ішемічний інсульт,

Таблиця 2.

Стан гуморального імунітету у хворих після перенесеного ГПМК за ішемічним типом залежно від періоду реабілітації (M \pm m)

Імунологічні показники	Хворі, обстежені в I період (n=64)	Хворі, обстежені в II період (n=73)	Хворі, обстежені в III період (n=58)	Контрольна група (n=34)
ЦІК великомолекулярні, ум.од.	18,94 \pm 0,51*	23,68 \pm 0,57*	29,57 \pm 0,32*	51,70 \pm 3,12
ЦІК середньомолекулярні, ум.од.	61,79 \pm 2,91*	58,32 \pm 1,46*	51,93 \pm 1,28*	34,54 \pm 2,02
ЦІК дрібномолекулярні, ум.од.	54,79 \pm 2,37*	49,37 \pm 1,24*	38,97 \pm 0,84*	10,94 \pm 1,13
Ig G, г/л	10,56 \pm 0,49	12,43 \pm 0,45*	13,78 \pm 0,36*	10,76 \pm 0,44
Ig A, г/л	0,68 \pm 0,01*	0,72 \pm 0,02*	0,84 \pm 0,02*	2,06 \pm 0,13
Ig M, г/л	1,75 \pm 0,08*	1,59 \pm 0,04*	1,23 \pm 0,03	1,38 \pm 0,05

Примітки: * $p < 0,05$ – вірогідність різниці показників відносно даних контрольної групи здорових осіб; n – кількість обстежених.

в періоді ранньої реабілітації виявлено наявність дисбалансу циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) за молекулярною масою, який зменшувався по мірі віддалення від моменту ГПМК, коли в периферичній крові хворих спостерігалось підвищення вмісту патогенних середньо- та дрібно-молекулярних ЦІК при зменшенні концентрації фізіологічних великомолекулярних (табл. 2).

Підвищення рівня високопатогенних ЦІК середнього розміру з константою седиментації 11-19S та малого розміру з константою седиментації 11S при дефіциті великомолекулярних (>19S) супроводжувалося зниженням метаболічної (поглинальної та переварюючої) функції нейтрофілів, що сприяло порушенню елімінації ЦІК із організму. Наявність в крові не елімінованих патогенних ЦІК призводить до блокування CD2- та CD3-рецепторів та Т-лімфоцитах, а при зниженні функції фагоцитарної системи вони виступають як патогенний агент, оскільки мають здатність активувати систему комплементу за альтернативним шляхом і, таким чином, сприяти підтримці запального процесу в організмі.

Одним із важливих параметрів стану гуморальної ланки імунітету у хворих після перенесеного ГПМК за ішемічним типом є сироваткова концентрація основних про-та протизапальних цитокінів (табл. 3).

В результаті проведених досліджень встановлено, що у хворих в ранній реабілітаційний період спостерігалось підвищення вмісту у сироватці крові прозапальних цитокінів: ФНП- α в 2,67 разів, ІЛ-1 β – 2,66 разів відносно даних контрольної групи, а рівень ІЛ-6 був майже в 10 разів вищим за значення у здорових осіб, при незначно збільшеній кількості протизапального цитокіну ІЛ-4 в 1,37 разів.

У пізній реабілітаційний період та період резидуальних явищ вміст прозапальних інтерлейкінів суттєво зменшувався: вдвічі для ФНП-

альфа – (до 53,42 \pm 9,3 пг/мл та 48,65 \pm 6,5 пг/мл відповідно періоду); та для ІЛ-1бета – (до 35,19 \pm 5,8 пг/мл та 43,96 \pm 6,3 пг/мл), а вміст ІЛ-6 зменшився майже в десять разів – до 15,38 \pm 2,4 пг/мл та 9,91 \pm 0,73 пг/мл. Концентрація ІЛ-4 в сироватці крові протягом всього періоду реабілітації залишалась стабільною та достовірно не відзнялась від значень у здорових осіб.

Таким чином, ранній реабілітаційний період характеризувався вірогідною активацією прозапальних цитокінів. При цьому спостерігалась як активація синтезу ФНП- α , яка призводила до посиленого апоптозу лімфоцитів та збільшення експресії FAS-рецептора, так і збільшення кількості ІЛ-1 β , який, за даними літератури, стимулює експресію лейкоцитарно-адгезивних молекул на поверхні ендотелію, що призводить до виходу із крові лейкоцитів та їх міграції в судинну стінку, що створює сприятливі умови до коагуляції та тромбозу. Саме посилена продукція ІЛ-1 β призводила до підвищення вмісту фібриногену та збільшення протромбінового індексу, що створювало сприятливі умови для гіперкоагуляції та було однією з патогенетичних умов розвитку гострого порушення мозкового кровообігу. Високий вміст ІЛ-6 у сироватці крові хворих в цей період свідчив про затухання запального процесу, оскільки даний інтерлейкін завершує розвиток запальної реакції.

В більш пізні терміни реабілітаційного періоду спостерігається нормалізація вмісту прозапальних цитокінів, що свідчить про завершення локальних запальних явищ та зменшення проапоптотичного впливу на лімфоцити. Паралельно спостерігалась і нормалізація показників фібринолітичної активності.

Таким чином, в результаті проведеної роботи встановлено імунологічні особливості перебігу раннього реабілітаційного періоду інсульту, які полягають у збереженій кількості Т-лімфоцитів, розвитку В-лімфоцитозу внаслідок збільшеного

Таблиця 3.

Вміст інтерлейкінів у сироватці крові хворих на ішемічний інсульт в різні періоди реабілітації (M \pm m)

Показник	Хворі в I період (n=64)	Хворі в II період (n=73)	Хворі в III період (n=58)	Контрольна група (n=34)
ФНП- α , пг/мл	112,9 \pm 6,7	53,42 \pm 9,3	48,65 \pm 6,5	42,31 \pm 4,9
ІЛ-1 β , пг/мл	104,7 \pm 9,4*	35,19 \pm 5,8	43,96 \pm 6,3	39,42 \pm 4,52
ІЛ-6, пг/мл	96,8 \pm 8,5*	15,38 \pm 2,4	9,91 \pm 0,73	10,31 \pm 2,3
ІЛ-4, пг/мл	35,11 \pm 2,4*	29,23 \pm 7,5	21,21 \pm 5,4	25,42 \pm 3,3

Примітки: * - вірогідність різниці показника з контрольною групою (p<0,01); n - кількість хворих

вмісту ІЛ-4, посиленому апоптозі лімфоцитів внаслідок гіперпродукції ФНП- α , значному пригніченні активаційних процесів у лімфоцитах за участю альфа-ланцюга рецептора ІЛ-2 та молекули міжклітинної адгезії ІСАМ-1; різко збільшеному вмісті всіх трьох прозапальних цитокінів – ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6 та схильності до гіперкоагуляції, а також високій концентрації патогенних ЦИК.

Імунологічними особливостями пізнього реабілітаційного періоду та періоду резидуальних явищ є: збережений вміст Т-лімфоцитів та їх основних субпопуляцій CD4+ та CD8+ лімфоцитів; В-лімфоцитозу; NK-клітин, пригнічення активаційних процесів в лімфоцитах, що супроводжується зменшенням відсоткового вмісту CD25+ та CD54+ лімфоцитів та незначне збільшення кількості лімфоцитів, готових до апоптозу.

Особливостями цитокінового статусу в пізньому реабілітаційному періоді та періоді резидуальних явищ є: поступова нормалізація продукції прозапальних цитокінів при відносно стабільній концентрації ІЛ-4 в сироватці крові протягом всього періоду реабілітації.

Висновки.

1. У хворих після перенесеного ГПМК за ішемічним типом зміни в імунному та цитокіновому статусах прямопропорційно залежать від періоду реабілітації.

2. Імунологічні особливості перебігу раннього реабілітаційного періоду інсульту полягають у збереженні кількості Т-лімфоцитів, розвитку В-лімфоцитозу внаслідок збільшеного вмісту ІЛ-4, посиленому апоптозі лімфоцитів за рахунок гіперпродукції ФНП- α , достовірно збільшеному вмісті всіх прозапальних цитокінів та пригніченні ранніх активаційних процесів за рахунок зниження кількості CD25+ та CD54+ лімфоцитів.
3. В пізній реабілітаційний період та період резидуальних явищ спостерігається пригнічення активаційних процесів в лімфоцитах, що супроводжується зменшенням відсоткового вмісту CD25+ та CD54+ лімфоцитів при підвищенні CD95+ лімфоцитів, кількість яких зменшується по мірі віддалення часу від моменту ГПМК та поступовою нормалізацією рівня всіх прозапальних цитокінів при стабільній концентрації ІЛ-4.

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО ОСТРОГО НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ ПО ИШЕМИЧЕСКОМУ ТИПУ В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ РЕАБИЛИТАЦИИ

Бычкова Н.Г., Присяжнюк А.П., Ахтемийчук О.С.

Резюме. В статье приведены данные о состоянии клеточного и гуморального иммунитета и уровня цитокинов в сыворотке крови больных в разные реабилитационные периоды после ишемического инсульта. Установлено, что у больных после перенесенного ишемического инсульта изменения в иммунном и цитокіновом статусах прямопропорционально зависят от периода реабилитации.

Ключевые слова: клеточный и гуморальный иммунитет, цитокины, ишемический инсульт, периоды реабилитации.

THE STATE OF SYSTEM IMMUNITY FOR PATIENTS AFTER ISCHEMIC STROKE IN DIFFERENT REHABILITATION PERIOD

Bychkova N.G., Prysajnyuk A.P., Ahtemiychuk O.S.

Summary. The article contains the data of cell and humoral immune and cytokine level in serum of patients after ischemic stroke in different rehabilitation period. It was shown that for patients after the carried ischemic stroke changes in immune and cytokine statuses depends on the period of rehabilitation.

Key words: cell immune, humoral immune, cytokines, ischemic stroke, period of rehabilitation

Список літератури в редакції.