

В.А. Черных¹, В.В. Ступак¹, С.С. Рабинович¹,
Е.Р. Черных², Н.В. Пронкина², Е.Я. Шевела²,
А.А. Останин², В.А. Козлов²

Феномен мобилизации костномозговых предшественников при черепно-мозговой травме

¹Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна, Новосибирск

²Научно-исследовательский институт клинической иммунологии, Новосибирск

Резюме. Представлены результаты мобилизации костно мозговых предшественников у пациентов с черепно-мозговой травмой, в том числе с благоприятным и неблагоприятным исходом, и оценено влияние отдельных факторов на эффективность мобилизации. Исследование основано на результатах проспективного исследования 36 пациентов с острой очаговой черепно-мозговой травмой и 30 сопоставимых по полу и возрасту здоровых доноров. Гемопоэтические и эндотелиальные предшественники в периферической крови оценивали, соответственно, по количеству CD34⁺CD45⁺ и CD34⁺CD144⁺-клеток, используя проточную цитофлуориметрию на 1–3 и 7–10 сутки. Пациенты с черепно-мозговой травмой характеризовались повышенным содержанием циркулирующих CD34⁺CD45⁺ и CD34⁺CD144⁺-клеток, возрастание которых происходило либо в виде ранней (на 1–3 сутки), либо поздней (на 7–10 сутки) мобилизации. Факторы травматического повреждения костей черепа и хирургического стресса значимо не влияли на уровень костномозговых предшественников. В то же время ранняя мобилизация CD34⁺CD45⁺-клеток у пострадавших с уровнем сознания >8 баллов находилась в обратной взаимосвязи с возрастом пациентов. Пациенты с благоприятным исходом характеризовались более высоким содержанием (в 2,7 раза; $p_U=0,008$) и частотой ранней мобилизации (в 2,3 раза; $p_{ТМФ}=0,02$) CD34⁺CD45⁺-клеток по сравнению с оппозитной группой и наличием прямой корреляции между количеством этих клеток и баллом по шкале исходов Глазго. Установлено, что травматическое повреждение вещества головного мозга индуцирует мобилизацию костномозговых предшественников, и уровень CD34⁺CD45⁺-клеток на 1–3 сутки тесно ассоциирован с исходом черепно-мозговой травмы.

Ключевые слова: черепно-мозговая травмы, исходы, костномозговые предшественники, CD34⁺CD45⁺-клетки, мобилизация, хирургический стресс, проточная цитофлуориметрия.

Введение. Мобилизация костномозговых предшественников (КМП), то есть их миграция из костного мозга в периферическую кровь, представляет универсальную реакцию на стресс-индуцирующие и повреждающие воздействия [7, 18, 21] и является одним из механизмов запуска репаративного ответа [6, 8, 14, 26,]. Повышенное содержание в периферической крови стволовых и прогениторных клеток описано при остром инфаркте миокарда, инсульте, сепсисе и, по данным ряда авторов, ассоциируется с более благоприятными исходами [2, 20, 27, 31]. Исследования на экспериментальных животных показали, что травматическое повреждение головного мозга также вызывает мобилизацию CD34⁺-клеток, которые способны мигрировать в зону повреждения [5], но у человека данный феномен остается практически не изученным.

Между тем исследование мобилизации КМП при черепно-мозговой травме (ЧМТ) открывает новые возможности для изучения роли этих клеток в нейропротекции и запуске/опосредовании репаративных процессов, а также для анализа клинических факторов, влияющих на интенсивность мобилизации КМП. Практический интерес к изучению циркулирующих стволовых клеток связан с изучением их прогностиче-

ской значимости. ЧМТ представляет исключительно гетерогенную патологию, что существенно затрудняет лечение и прогнозирование исходов [1, 12, 24,]. С этой точки зрения поиск новых биомаркеров, отражающих патофизиологические особенности ЧМТ и вносящих элемент персонализации, представляется важным шагом на пути развития новых методов прогноза при данной патологии [4, 34]. Традиционно поиск прогностических биомаркеров при ЧМТ связывают с исследованием нейроспецифических белков, уровень которых отражает тяжесть повреждений [15]. Учитывая, однако, что исход травмы определяется не только тяжестью первичных и вторичных повреждений, но и эффективностью механизмов нейропротекции и репарации, поиск биомаркеров, ассоциированных с запуском репаративного ответа, представляет значительный интерес [16, 22, 32].

Цель исследования. Изучить КМП в периферической крови пациентов с ЧМТ и выяснить, какие факторы (возраст, переломы костей черепа, фактор хирургического стресса) индуцируют и/или влияют на эффективность мобилизации КМП. Определить имеется ли взаимосвязь между количеством КМП и исходом ЧМТ.

Материалы и методы. Работа основана на результатах проспективных исследований 36 пациентов (28 мужчин и 8 женщин в возрасте от 21 до 73 лет) с острой очаговой черепно-мозговой травмой и 30 сопоставимых по возрасту и полу здоровых доноров. Рекрутирование пациентов проводили из числа мужчин и женщин в возрасте старше 18 лет, отвечающих следующим критериям включения и исключения. Критерии включения: 1) острые очаговые повреждения головного мозга в виде ушибов головного мозга средней или тяжелой степени и/или сдавление головного мозга, обусловленное внутрочерепными гематомами, гидромами, вдавленными переломами; 2) давность ЧМТ на момент поступления от 6 до 72 ч. Критерии исключения: 1) терминальное состояние с прогнозируемой летальностью в течение 48 ч; 2) тяжелые экстракраниальные повреждения; 3) наличие вируса иммунодефицита человека или других тяжелых неконтролируемых инфекций; 4) декомпенсированные заболевания сердца, легких, почек и печени; 5) беременность; 6) прием гормональных или иммуносупрессивных препаратов; 7) трансфузии больших объемов крови перед исследованием (более 800 мл); 8) участие в других клинических испытаниях.

Всем пациентам при поступлении выполнялось неврологическое обследование, мультиспиральная компьютерная томография (Siemens somatom P-10-G emotion 16 или 64-срезовый компьютерный томограф GE Optima CT660) головного мозга и анализ крови. Тяжесть состояния оценивалась в соответствии со шкалой ком Глазго (ШКГ). Исходы ЧМТ оценивали по 5-балльной шкале исходов Глазго (ШИГ) при выписке из стационара (в среднем на 27 день). Пациенты с уровнем 4–5 баллов по ШИГ (умеренная инвалидизация и хорошее восстановление) были отнесены в группу с благоприятным исходом, с уровнем 1–3 балла (включающих летальный исход, вегетативный статус и грубую инвалидизацию) – в группу с неблагоприятным исходом.

Гемопозитические предшественники (ГП) и эндотелиальные предшественники (ЭП) оценивали цитофлуориметрически на проточном цитометре «FACS Calibur» фирмы «Becton Dickinson» (Соединенные Штаты Америки – США) с использованием программы CellQuestPro. Количество ГП определяли

по содержанию CD45⁺CD34⁺-клеток, используя PE-меченные анти-CD34 и FITC-меченные анти-CD45 моноклональные антитела фирмы «BD PharMingen», «San Diego», «CA» (США). ЭП оценивали по числу клеток, экспрессирующих маркеры гемопоэтических предшественников (CD34) и эндотелиальных клеток (VE-кадхерин/CD144) в гейте не-T-лимфоцитов с использованием PE-меченных анти-CD3, FITC-меченных анти-CD34 и APC-меченных анти-CD144 моноклональных антител фирмы «BD PharMingen» (США) в соответствии с рекомендациями S. Redondo [23]. Оценку КМП проводили дважды – на 1–3 сутки (но не ранее, чем через 6 ч посттравматического периода) и на 7–10 сутки с момента травмы.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft). Для оценки достоверности различий использовали точный критерий Фишера (ТКВ) – для дискретных переменных и критерий Манна – Уитни (для сравнения непрерывных переменных). Различия считали достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$. Для исследования ассоциаций количественных показателей использовали коэффициент корреляции Спирмена.

Результаты и их обсуждение. У большей части пострадавших регистрировалась закрытая изолированная ЧМТ с преобладанием среднетяжелой и тяжелой форм (уровень сознания по ШКГ менее 13 баллов). Десять пострадавших имели субарахноидальное кровоизлияние (САК), 22 – переломы костей свода и/или основания черепа (табл. 1).

Время с момента травмы до первого исследования КМП составило в среднем $31,7 \pm 3,2$ ч (от 11 до 72 ч), до второго обследования – $8,6 \pm 0,4$ суток. Повторную оценку КМП удалось провести у 22 из 36 пациентов в связи с летальным исходом 12 больных в ранние сроки и отказе от лечения 2 пациентов.

Чтобы выяснить, сопровождается ли ЧМТ мобилизацией КМП, сравнили содержание ГП и ЭП в периферической крови пациентов и здоровых доноров. Показано, что содержание ГП в периферической крови на 1–3 сутки было достоверно повышено и на уровне медианных значений практически в 2 раза превышало таковое у здоровых доноров. На 7–10 сутки количество CD34⁺CD45⁺-клеток 3-кратно превышало донорские значения ($p_u = 0,0001$) и было достоверно ($p_u = 0,04$) выше, чем на 1–3 сутки (рис. 1а). Пациенты с ЧМТ характеризовались также повышенным содержанием ЭП (рис. 1б). Наиболее выраженное возрастание CD34⁺CD144⁺-клеток регистрировалось на 1–3 сутки ($p_u = 0,04$), а к 7–10 дню их количество снижалось и значимо не отличалось от такового у доноров.

Выявлено, что возрастание CD34⁺CD45⁺-клеток (>2980 кл/мл, т.е. выше верхней границы интерквартильного нормативного диапазона), свидетельствующее о мобилизации ГП, регистрировалось у 91% пациентов (рис. 2а). При этом у 45,5% пострадавших имела место ранняя мобилизация, т.е. количество

Таблица 1
Характеристика пациентов с ЧМТ, абс. (%)

Тип ЧМТ: изолированный/сочетанный	29 (80,6)/7 (19,4)
Характер ЧМТ: закрытая/открытая	26 (72,3)/10 (27,7)
Клин. формы: ушибы ГМ	15 (41,7)
средней/тяжелой степени	13 (36,2)/2 (5,6)
сдавлен. ГМ внутрочереп. гематомой	21 (58,4)
Уровень сознания, балл по ШКГ (13–15/9–12/ ≤ 8)	9 (25)/10 (27,8)/17 (47,2)
Переломы костей черепа	22 (61,2)
САК	19 (52,8)

Примечание: ГМ – головной мозг.

CD34⁺CD45⁺ ГП увеличивалось уже на 1–3 сутки и сохранялось повышенным на 7–10 сутки, а у оставшихся 45,5% пациентов – поздняя мобилизация, когда возрастание ГП происходило только на 7–10 сутки. Возрастание CD34⁺CD144⁺ ЭП выявлялось в целом у 59% пациентов и у большей части пациентов (в 41% случаев) наблюдалось при оценке ЭП на 1–3 сутки (рис. 2б).

Учитывая, что интенсивность мобилизации может быть подвержена влиянию возрастного фактора, была исследована взаимосвязь между уровнем циркулирующих КМП и возрастом пострадавших. Поскольку одним из факторов, ассоциированных с неблагоприятным прогнозом, является возраст старше 40 лет, анализировали количество КМП в группах пациентов до 40 и более лет (табл. 2).

Уровень ГП у пациентов моложе 40 лет существенно превышал таковой в оппозитной группе. Это проявлялось в виде выраженной тенденции на уровне абсолютного количества ГП ($p_U=0,06$) и достоверных различий на уровне частоты пациентов с мобилизацией ГП ($p_{ТМФ}=0,015$). Так, частота ранней мобилизации в группе до 40 лет более чем в 2 раза превышала таковую в группе старше 40 лет (58,9 и 26,4% соответственно). Пациенты данной группы характеризовались также более высоким (в 2 раза) содержанием CD34⁺CD144⁺-клеток, однако в последнем случае различия в сравниваемых возрастных группах не были достоверны.

Установлено, что пациенты обеих возрастных групп не различались по соотношению мужчин и женщин и тяжести ЧМТ (балл по ШКГ). Поэтому различия в количестве CD45⁺CD34⁺-клеток в данном случае действительно отражали возрастные особенности. Корреляционный анализ выявил наличие обратной связи между возрастом и абсолютным содержанием CD45⁺CD34⁺-клеток. В общей группе данная взаимосвязь была слабой и статистически недостоверной ($R_s=-0,3$; $p=0,085$; $n=36$), однако у пациентов с уровнем сознания >8 баллов она становилась более выраженной и статистически значимой ($R_s=-0,5$; $p=0,022$; $n=21$). Напротив, у пациентов с уровнем сознания <8 баллов эта зависимость полностью исчезала ($R_s=0,0036$; $p=0,99$; $n=15$). Значимой взаимосвязи между количеством CD34⁺CD144⁺-клеток и возрастом ни в общей группе, ни в группе пациентов с тяжестью ЧМТ >8 баллов не выявлялось.

Поскольку мобилизация КМП может индуцироваться переломами костей [13], а также факторами хирургического стресса [25], имеющими место при ЧМТ, представлялось важным выяснить, оказывают ли эти факторы существенное влияние на количество циркулирующих КМП при ЧМТ. Для этого сравнивали параметры мобилизации ГП и ЭП в группах, оппозитных по наличию переломов костей черепа, а также у пациентов с хирургическим и консервативным лечением (табл. 3).

Переломы костей черепа были зарегистрированы у 25 из 36 пострадавших. Среди них 11 пациентов

Таблица 2

Содержание ГП и ЭП в различных возрастных группах

Показатель	<40 лет, n=17	≥40 лет, n=19	p
Возраст, лет (медиана, мин.–макс.)	33 (21–39)	55 (40–73)	$p_U=0,000$
Мужчины/женщины	14/3	14/5	$p_{ТМФ}=0,69$
ШКГ, балл (медиана, LQ–UQ)	9 (6–12)	9 (6–14)	$p_U=0,49$
CD34 ⁺ CD45 ⁺ , кл/мл (медиана, LQ–UQ)	3247(1640–8400)	1573 (645–3040)	$p_U=0,06$
Доля пациентов с мобилизацией CD34 ⁺ CD45 ⁺ -клеток (>2980 кл/мл), абс. (%)	10/17 (58,9)	5/19 (26,4)	$p_{ТМФ}=0,015$
CD34 ⁺ CD144 ⁺ (медиана, LQ–UQ)	117 (0–378)	50,5 (0–172)	$p_U=0,36$
Доля пациентов с мобилизацией CD34 ⁺ CD144 ⁺ -клеток (>45 кл/мл), абс. (%)	11/17 (64,7)	9/19 (47,4)	$p_{ТМФ}=0,24$

Примечание: LQ–UQ – диапазон верхней и нижней квартилей.

Таблица 3

Влияние травматического повреждения костей черепа и хирургического стресса на раннюю мобилизацию ГП и ЭП

Группа	CD34+CD45+ ГП		CD34+CD144+ ЭП	
	количество клеток, кл/мл	частота мобилизации, %	количество клеток, кл/мл	частота мобилизации, %
Переломы (+), n=25	1873 (949–5425)	48	53 (0–154)	48
Переломы (-), n=11	2247 823–6036	54,6	180 (23–1043)	72
p	$p_U=0,8$	$p_{ТКФ}=0,73$	$p_U=0,04$	$p_{ТКФ}=0,24$
Хирургич. леч. (+), n=19	2247 (823–6036)	52,6	147 (0–225)	57,9
Хирургич. леч. (-), n=17	1873 (714–5425)	47,1	78 (0–172)	52,9
p	$p_U=0,89$	$p_{ТКФ}=0,5$	$p_U=0,51$	$p_{ТКФ}=0,51$

Примечание: количество клеток представлено в виде медианы и интерквартильного диапазона.

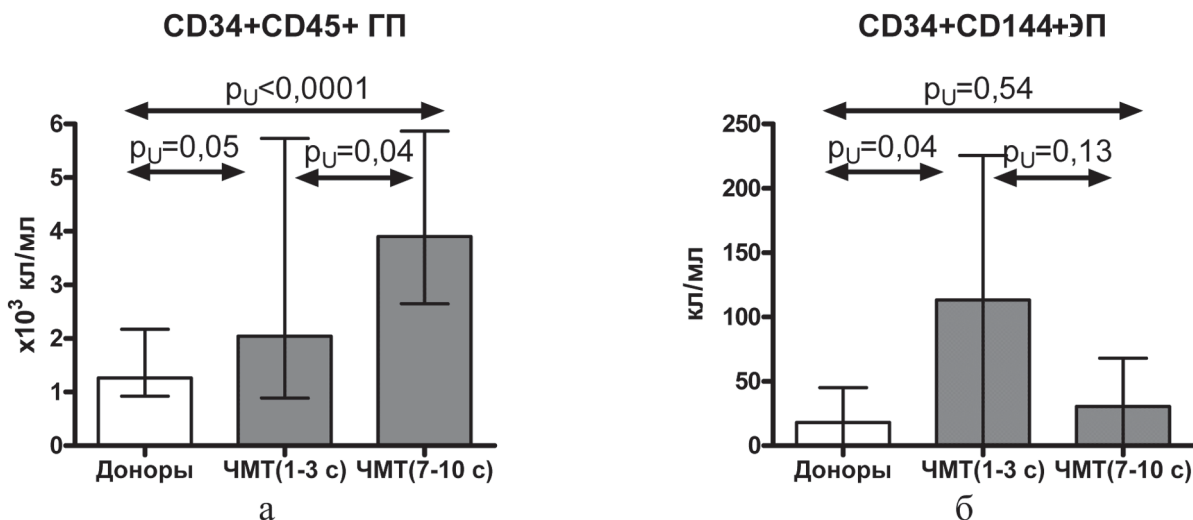


Рис 1. Содержание ГП (а) и ЭП (б) в периферической крови пациентов с ЧМТ и здоровых доноров (данные представлены в виде медиан и интерквартильных диапазонов)

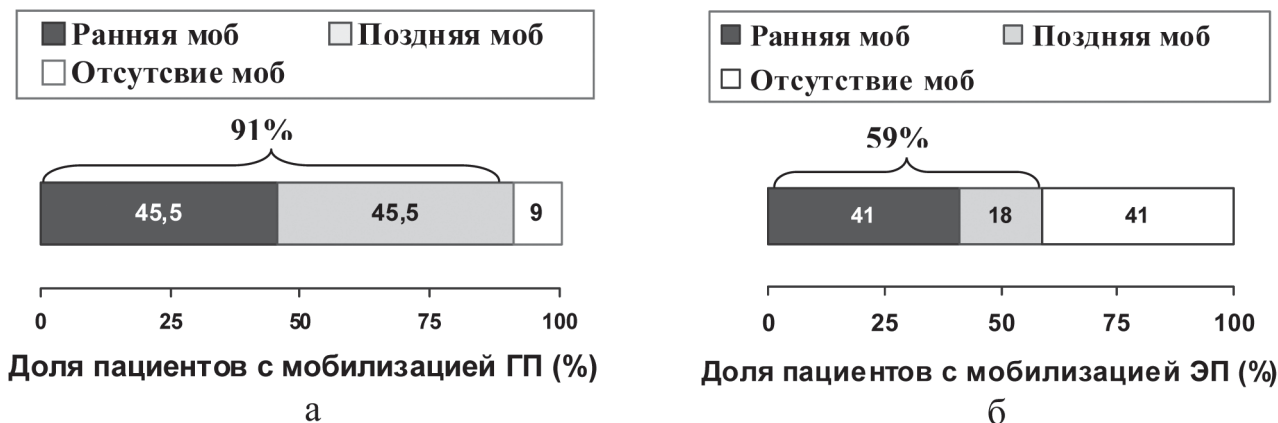


Рис 2. Частота пациентов с различными типами мобилизации гемопоэтических CD34⁺CD45⁺ (А) и эндотелиальных CD34⁺CD144⁺ (Б) предшественников

имели переломы свода черепа и 14 – свода и основания черепа. Хирургическое вмешательство в виде резекционно-декомпрессивной трепанации и удаления внутримозговой гематомы на момент оценки КМП было проведено 19 пациентам.

Пациенты с переломами костей черепа не отличались более высокой частотой ранней мобилизации ГП и абсолютным количеством CD34⁺CD45⁺-клеток по сравнению с оппозитной группой. Более того, содержание CD34⁺CD144⁺-клеток в этой группе было даже выше, чем у пациентов с отсутствием переломов. Значимых различий в абсолютном количестве и частоте мобилизации КМП в группах с хирургическим и консервативным лечением также не обнаружено. Таким образом, наличие повреждений костей черепа и фактор хирургического вмешательства не оказывали дополнительного стимулирующего влияния на мобилизацию КМП. Следовательно, можно полагать, что возрастание КМП при ЧМТ индуцировано в первую

очередь травматическим повреждением вещества головного мозга.

Поскольку мобилизация КМП рассматривается в качестве одного из механизмов репаративного ответа, который может существенным образом влиять на характер восстановления и исходы ЧМТ, одним из ключевых фрагментов исследования стало изучение взаимосвязи между количеством циркулирующих КМП и исходом ЧМТ. Благоприятный исход наблюдался у 19 из 36 пациентов. Неблагоприятный исход был зарегистрирован у 17 пациентов. Одиннадцать пострадавших умерли, в том числе 7 в сроки до 14 суток. Шесть пациентов при выписке имели грубую инвалидизацию, обусловленную гемипарезом (5 пациентов) в сочетании с выраженными когнитивными и психическими расстройствами (3 пациента) и общей мозговой симптоматикой (1 пациент).

Показано, что медианные значения гемопоэтических и эндотелиальных предшественников при обсле-

довании на 1–3 и 7–10 сутки в группе с благоприятным исходом были выше, чем в группе с неблагоприятным исходом. Однако достоверные и наиболее выраженные различия выявлялись только в отношении ранней мобилизации ГП (рис. 3).

Аналогичным образом при анализе частоты мобилизации КМП доля пациентов с ранней мобилизацией CD34⁺CD45⁺-клеток в группе с благоприятным исходом была более чем в 2 раза выше, чем в оппозитной группе (68,5 против 29,5%; $p_{\text{ТМФ}}=0,02$). Таким образом, из двух типов КМП, определяемых на 1–3 и 7–10 сутки, количество CD34⁺CD45⁺ ГП в первые 3 суток после ЧМТ представлялось наиболее значимым маркером в прогностическом плане. Это также подтверждалось выявлением достоверной корреляционной связи между количеством ГП и баллом по ШИГ ($R_s=0,4$; $p=0,01$).

Следовательно, пациенты с ЧМТ характеризуются возрастанием в периферической циркуляции CD34⁺CD45⁺ и CD34⁺CD144⁺-клеток, что свидетельствует о мобилизации КМП. Данные о мобилизации гемопоэтических предшественников при ЧМТ получены впервые. Кроме того, выявлены различия в кинетике мобилизации ГП и показана гетерогенность пациентов по данному показателю. Относительно эндотелиальных предшественников, в литературе имеются единичные сообщения, опубликованные одной группой китайских исследователей, которые показали возрастание ранних ЭП (CD34⁺CD133⁺) к 7 суткам после ЧМТ и их взаимосвязь с характером неврологических изменений в ранние сроки [10, 11]. Расхождение этих данных с нашими исследованиями в отношении кинетики возрастания ЭП может объясняться тем, что нами исследовалась другая субпопуляция клеток – CD34⁺CD144⁺, представляющая более поздние ЭП.

Выявлена корреляционная взаимосвязь между количеством ГП и возрастом пациентов. Она отчетливо проявлялась у пострадавших с легкой и среднетяже-

лой ЧМТ, но отсутствовала в группе пострадавших с тяжелой ЧМТ. Согласно данным литературы [17, 19], эффективность мобилизации КМП с возрастом может снижаться, что связано с повышенной продукцией у пожилых людей провоспалительных цитокинов [3], регулирующих миграцию и выживаемость КМП. Полученные нами данные впервые показывают взаимосвязь между количеством ГП и возрастом при ЧМТ и демонстрируют, что тяжесть ЧМТ может нивелировать возрастные особенности.

Выяснение роли отдельных факторов, способных индуцировать мобилизацию КМП при ЧМТ показало, что переломы костей черепа и фактор хирургического стресса не усиливали интенсивность мобилизации КМП. Это позволило сделать заключение, что травматические переломы костей черепа и фактор хирургического стресса у человека не являются ведущими в индукции мобилизации КМП при ЧМТ и возрастание в циркуляции КМП обусловлено в первую очередь повреждением вещества головного мозга.

Сопряженность ранней мобилизации CD34⁺CD45⁺ ГП с благоприятным исходом ЧМТ позволяет рассматривать содержание циркулирующих ГП, оцениваемых в первые 3 суток посттравматического периода, в качестве потенциального биомаркера функционального восстановления. Участие КМП в репаративном ответе при повреждении нервной ткани связывают с несколькими возможными механизмами – активацией ангиогенеза и нейрогенеза, стимуляцией образования новых синаптических связей [33, 9, 28]. Кроме того, КМП могут оказывать нейропротективный эффект, обусловленный противовоспалительной и иммуномодулирующей активностью стволовых и прогениторных клеток [30]. Узкое «терапевтическое окно» нейропротективного эффекта при повреждении центральной нервной системы [29] может отчасти объяснять отсутствие достоверных различий в количестве

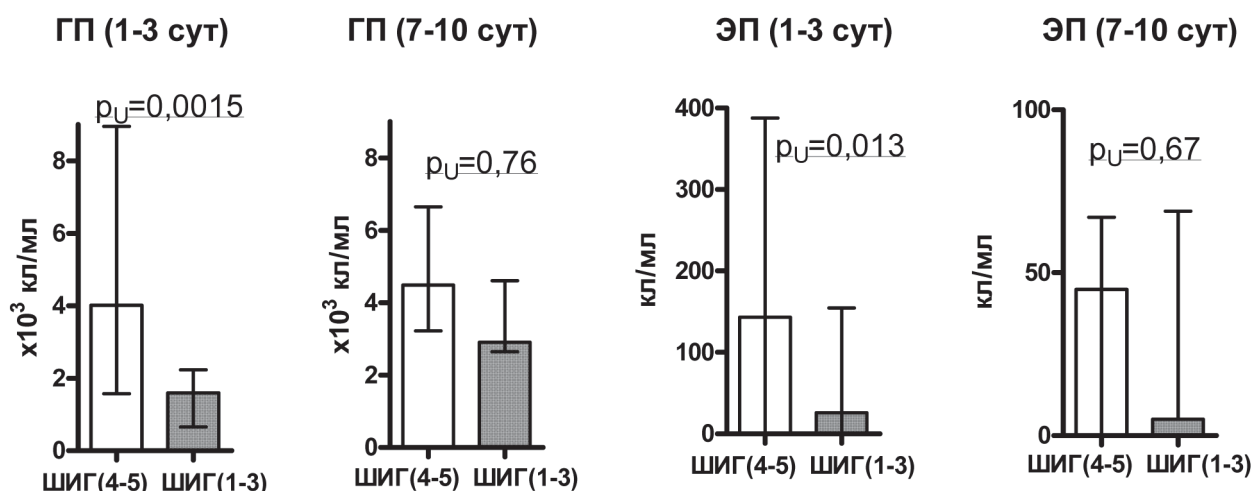


Рис. 3. Количество ГП и ЭП, оцениваемых на 1–3 и 7–10 сутки в группах пациентов с благоприятным (ШИГ 4–5) и неблагоприятным (ШИГ 1–3) исходом (данные представлены в виде медиан и интерквартильных диапазонов)

КМП при анализе поздней мобилизации. Другая причина нивелирования различий в количестве ГП в эти сроки может быть связана с летальным исходом значительной части пациентов до момента повторного обследования.

Заключение. Пациенты в остром периоде очаговой ЧМТ характеризуются повышенным содержанием циркулирующих CD34⁺CD45⁺ и CD34⁺CD144⁺-клеток, возрастание которых может происходить в виде ранней (на 1–3 сутки) и поздней (на 7–10 сутки) мобилизации. Количество циркулирующих гемопоэтических предшественников не подвержено значимому влиянию факторов травматического повреждения костей черепа и хирургического стресса, однако у пострадавших с уровнем сознания >8 баллов находится в обратной взаимосвязи с возрастом пациентов. При этом ранняя мобилизация CD34⁺CD45⁺-клеток сопряжена с благоприятным исходом стационарного лечения.

Литература

1. Потапов, А.А. Современные подходы к изучению и лечению черепно-мозговой травмы / А.А. Потапов [и др.] // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. – 2010. – Т. 4, № 1. – С. 4–12.
2. Badami, C.D. Hematopoietic progenitor cells mobilize to the site of injury after trauma and hemorrhagic shock in rats / C.D. Badami [et al.] // *J. Trauma*. – 2007. – Vol. 63, № 3. – P. 596–600.
3. Fagiolo, U. Increased cytokine production in mononuclear cells of healthy elderly people / U. Fagiolo [et al.] // *Eur. j. immunol.* – 1993. – Vol. 23, № 9. – P. 2375–2378.
4. Feala, J.D. Systems biology approaches for discovering biomarkers for traumatic brain injury / J.D. Feala [et al.] // *J. Neurotrauma*. – 2013. – Vol. 30, № 13. – P. 1101–1116.
5. Guo, X. Correlation of CD34⁺ cells with tissue angiogenesis after traumatic brain injury in a rat model / X. Guo [et al.] // *J. Neurotrauma*. – 2009. – Vol. 26, № 8. – P. 1337–1344.
6. Hannoush, E.J. Impact of enhanced mobilization of bone marrow derived cells to site of injury / E.J. Hannoush [et al.] // *J. Trauma*. – 2011. – Vol. 71, № 2. – P. 283–289.
7. Hoggatt, J. Many mechanisms mediating mobilization: an alliterative review / J. Hoggatt, L.M. Pelus // *Curr Opin Hematol.* – 2011. – Vol. 18. – P. 231–238.
8. Korblyng, M. Adult stem cells for tissue repair – a new therapeutic concept? / M. Korblyng, Z. Estrov // *New Engl J Med*. – 2003. – Vol. 349, №6. – P. 570–582.
9. Lin, C.-H. Role of HIF-1-activated Epac1 on HSC-mediated neuroplasticity in stroke model / C.-H. Lin [et al.] // *Neurobiology of Disease*. – 2013. – Vol. 58. – P. 76–91.
10. Liu, L. Endothelial progenitor cells correlate with clinical outcome of traumatic brain injury / L. Liu [et al.] // *Crit care med.* – 2011. – Vol. 39, № 7. – P. 1760–1765.
11. Liu, L. Changes in circulating human endothelial progenitor cells after brain injury / L. Liu [et al.] // *J. Neurotrauma*. – 2007. – Vol. 24, № 6. – P. 936–943.
12. Maas, A.I. Prognosis and clinical trial design in traumatic brain injury: the IMPACT study / A.I. Maas [et al.] // *J. Neurotrauma*. – 2007. – Vol. 24, № 2. – P. 232–238.
13. Matsumoto, T. Fracture induced mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for bone healing / T. Matsumoto [et al.] // *J. cell. physiol.* – 2008. – Vol. 215, № 1. – P. 234–242.
14. Matsumoto, T. Therapeutic potential of vasculogenesis and osteogenesis promoted by peripheral blood CD34-positive cells for functional bone healing / T. Matsumoto [et al.] // *Am. j. pathol.* – 2006. – Vol. 169, № 4. – P. 1440–1457.
15. Mondello, S. Bloodbased diagnostics of traumatic brain injuries / S. Mondello [et al.] // *Expert rev mol diagn.* – 2011. – Vol. 11, № 1. – P. 65–78.
16. Mondello, S. Increased levels of serum MAP-2 at 6-months correlate with improved outcome in survivors of severe traumatic brain injury / S. Mondello [et al.] // *Brain injury*. – 2012. – Vol. 26, № 13/14. – P. 1629–1635.
17. Morris, C.L. Mobilization of CD34⁺ cells in elderly patients (>=70 years) with multiple myeloma: influence of age, prior therapy, platelet count and mobilization regimen / C.L. Morris [et al.] // *J. Haematol.* – 2003. – Vol. 120, № 3. – P. 413–423.
18. Nervi, B. Cytokines and hematopoietic stem cell mobilization / B. Nervi, D.C. Link, J.F. DiPersio // *J. cell. biochem.* – 2006. – Vol. 99, № 3. – P. 690–705.
19. Pozotrigio, M. Factors impacting stem cell mobilization failure rate and efficiency in multiple myeloma in the era of novel therapies: experience at Memorial Sloan Kettering Cancer Center / M. Pozotrigio [et al.] // *Bone marrow transplant.* – 2013. – Vol. 48, № 8. – P. 1033–1039.
20. Rafat, N. Increased circulating endothelial progenitor cells in septic patients: correlation with survival / N. Rafat [et al.] // *Crit care med.* – 2007. – Vol. 35, № 7. – P. 1677–1684.
21. Ratajczak, M.Z. The role of innate immunity in trafficking of hematopoietic stem cells—an emerging link between activation of complement cascade and chemotactic gradients of bioactive sphingolipids / M.Z. Ratajczak [et al.] // *Adv exp med biol.* – 2012. – Vol. 946. – P. 37–54.
22. Ray, S.K. Molecular mechanisms in the pathogenesis of traumatic brain injury / S.K. Ray, C.E. Dixon, N.L. Banik // *Histol histopathol.* – 2002. – Vol. 17, № 4. – P. 1137–1152.
23. Redondo, S. High-reproducible flow cytometric endothelial progenitor cell determination in human peripheral blood as CD34⁺/CD144⁺/CD3-lymphocyte subpopulation / S. Redondo [et al.] // *J. immunol methods.* – 2008. – Vol. 335, № 1, 2. – P. 21–27.
24. Saatman, K.E. Workshop scientific team and advisory panel members. Classification of traumatic brain injury for targeted therapies / K.E. Saatman [et al.] // *J. Neurotrauma*. – 2008. – Vol. 25, № 7. – P. 719–738.
25. Schillaci, G. Endothelial progenitor cells are mobilized after major laparotomic surgery in patients with cancer / G. Schillaci [et al.] // *Int j. immunopathol pharmacol.* – 2009. – Vol. 22, № 4. – P. 1035–1041.
26. Shah, S. Mobilization of bone marrow cells to the site of injury is necessary for wound healing / S. Shah [et al.] // *J. Trauma*. – 2009. – Vol. 67, № 2. – P. 315–321.
27. Sobrino, T. The increase of circulating endothelial progenitor cells after acute ischemic stroke is associated with good outcome / T. Sobrino [et al.] // *Stroke*. – 2007. – Vol. 38. – P. 2759–2764.
28. Tate, C.C. Mesenchymal stromal cells to treat brain injury / C.C. Tate, C.C. Case // *Advanced topics in neurological disorders*, Chapter in «Neurological Disorders», InTech. – 2012. – P. 45–78.
29. Wada, N. Immunomodulatory effects of stem cells / N. Wada, S. Gronthos, P.M. Bartold // *Periodontol.* – 2013. – Vol.63, № 1. – P. 198–216.
30. Walker, P.A. Progenitor cells as remote «bioreactors»: Neuroprotection via modulation of the systemic inflammatory response / P.A. Walker [et al.] // *World j. stem cells*. – 2011. – Vol. 3, № 2. – P. 9–19.
31. Wojakowski, W. Mobilization of CD34/CXCR4⁺, CD34/CD117⁺, c-met⁺ stem cells, and mononuclear cells expressing early cardiac, muscle, and endothelial markers into peripheral blood in patients with acute myocardial infarction / W. Wojakowski [et al.] // *Circulation*. – 2004. – Vol. 110, № 20. – P. 3213–3220.
32. Xiong, Y. Emerging treatments for traumatic brain injury / Y. Xiong, A. Mahmood, M. Chopp // *Expert opin emerg drugs*. – 2009. – Vol. 14, № 1. – P. 67–84.

33. Xiong, Y. Angiogenesis, neurogenesis and brain recovery of function following injury / Y. Xiong, A. Mahmood, M. Chopp // *Curr opin investig drugs.* – 2010. – Vol. 11, № 3. – P. 298–308.
34. Zhang, Z. Systems biology and theranostic approach to drug discovery and development to treat traumatic brain injury / Z. Zhang [et al.] // *methods mol. biol.* – 2010. – Vol. 662. – P. 317–329.

V.A. Chernykh, V.V. Stupak, S.S. Rabinovich, E.R. Chernykh, N.V. Pronkina, E.Ya. Shevela, A.A. Ostanin, V.A. Kozlov

Bone marrow-derived progenitor cell mobilization in traumatic brain injury

Abstract. *The aim of the current paper is to investigate the phenomenon of bone marrow progenitor cells mobilization in patients with traumatic brain injury, including those with favorable and unfavorable outcome, and to analyze the influence of some factors on the effectiveness of mobilization. The study is based on the results of a prospective study of 36 patients with acute focal traumatic brain injury and 30 age- and sex-matched healthy individuals. Hematopoietic and endothelial progenitor cells in peripheral blood, were evaluated by the number of CD34⁺CD45⁺ and CD34⁺CD45⁺-клеток CD34⁺CD144⁺-cells by flow cytometry on day 1–3 and 7–10. Patients with traumatic brain injury were characterized by increased number of circulating CD34⁺CD45⁺ and CD34⁺CD144⁺-cells, which appeared either at day 1–3 (early mobilization) or at day 7–10 (late mobilization). Skull fractures and surgical stress did not affect significantly the level of bone marrow progenitor cells. At the same time, early mobilization of CD34⁺CD45⁺-cells in patients with consciousness level >8 inversely correlated with age. Favorable outcome of traumatic brain injury was associated with higher number (2,7-fold; $p_0=0,008$) and early mobilization rate (2,3 times; $p_{TMF}=0,02$) of CD34⁺CD45⁺-cells compared to the opposite group and there was a direct correlation between the number of these cells and a Glasgow outcome scale scores. The data obtained indicate that brain tissue damage induces mobilization of bone marrow progenitor cells and the level of CD34⁺CD45⁺-cells at day 1–3 is associated with the traumatic brain injury outcome.*

Key words: *traumatic brain injury, outcomes, bone marrow progenitor cells, CD34⁺CD45⁺-cells, mobilization, surgical stress, flow cytometry.*

Контактный телефон: 8-383-236-03-29; e-mail: v_a_cher@mail.ru