

ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ БИОМАРКЕРОВ КЛЕТОЧНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ МОЗГА ПРИ ЛЕГКИХ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВЫХ ТРАВМАХ

Н.А. Ковтун^{1*}, М.И. Савельева², А.В. Трофименко³, С.С. Алексанин⁴, В.В. Бояринцев³

¹ ФГБУ «Клиническая больница №1» УД Президента РФ, Москва,

² ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва,

³ ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» УД Президента РФ, Москва,

⁴ ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург

EFFECTIVENESS OF POTENTIAL BIOMARKERS OF CELLULAR BRAIN DAMAGE IN MILD TRAUMATIC BRAIN INJURIES

N.A. Kovtun^{1*}, M.I. Savelyeva², A.V. Trophimenko³, S.S. Alexanin⁴, V.V. Boyarinцев³

¹Clinical Hospital No 1 of Department of President Affairs, Moscow, Russia,

²Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia,

³Central State Medical Academy of Department of President Affairs, Moscow, Russia,

⁴Russian Center for Emergency and Radiation Medicine named after A.M. Nikiforov EMERCOM of Russia, St.-Petersburg, Russia

E-mail: Kovtun.na@mail.ru

Аннотация

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) в целом и легкая ЧМТ в частности считаются «тихой эпидемией», поскольку многие острые и стойкие изменения в когнитивной, моторной и соматосенсорной функциях могут быть не совсем очевидны для внешних наблюдателей. Симптоматология, связанная с сотрясением мозга, носит в основном функциональный характер, поскольку стандартные методы нейровизуализации не обнаруживают структурных отклонений. Однако посмертный анализ мозга пациентов, недавно перенесших нетяжелую ЧМТ, но умерших от нетравматических причин, показал признаки повреждения аксонов. Диагностические и прогностические инструменты для стратификации риска у пациентов с легкими ЧМТ ограничены на ранних стадиях после травмы. В настоящее время существует необходимость в проверке и внедрении новых лабораторных инструментов диагностики легких ЧМТ в клиническую практику. **Цель исследования:** изучить изменение показателей белков крови - TAU-белка, GFAP, нейрофиламента (pNF-H) - у пациентов с легкими черепно-мозговыми травмами по сравнению с аналогичными показателями у пациентов признаками повреждения головного мозга и без таковых. **Материалы и методы.** Проспективное сравнительное исследование включало 121 человека в трех группах сравнения. Измерение уровня исследуемых биомаркеров в динамике проводили с использованием методики ИФА (иммуноферментный анализ). Основные лабораторные показатели, отражающие общее состояние пациента, определяли с использованием автоматических анализаторов. Все статистические расчеты были выполнены с использованием SPSS версии 20.0 и GraphPad Prism версии 5.0 (GraphPad Inc.). **Результаты исследования.** Обнаружено, что средние показатели всех трех изучаемых биомаркеров клеточного повреждения мозга достоверно преобладали в группе пациентов с легкими ЧМТ, но средние значения концентрации демонстрировали различную динамику в зависимости от времени отбора пробы. **Заключение.** Определение концентрации TAU-, GFAP- и pNF-белков улучшает диагностику легких, нетяжелых ЧМТ в качестве биомаркеров клеточного повреждения мозга.

Ключевые слова: биомаркеры клеточного повреждения мозга, TAU-белок, GFAP-белок, pNF-белок, черепно-мозговая травма.

Abstract

Traumatic brain injuries (TBI) in general, and mild TBI in particular, are considered to be a «silent epidemics» because many acute and persistent changes in cognitive, motor and somatosensory functions may not be obvious to outside observers. Symptomatology associated with concussion is, first of all, functional since standard imaging techniques cannot reveal structural abnormalities in the brain. However, the postmortem examination of brain in patients, who recently had moderate head injury but died of other, non-traumatic causes, noted signs of axon damage. Diagnostic and prognostic instruments for risk stratification in patients with mild TBI are limited to early stages after injury. Currently, there is a critical need in testing and implementing new laboratory diagnostic techniques in patients with mild head injuries. **Purpose:** To examine changes in blood proteins (TAU-protein, GFAP, Neurofilament (pNF-H)) in patients with mild traumatic brain injury and to compare them with those in patients with and without signs of brain damage. **Material and methods:** 121 people in three comparison groups were included into a prospective comparative study. Dynamic changes in the level of examined biomarkers were measured with ELISA test (enzyme-linked immunosorbent assay). Basic laboratory parameters indicating patient's general state were obtained with automatic analyzers. All statistical calculations were performed using SPSS version 20.0 and GraphPad Prism version 5.0 (GraphPad Inc.). **Results.** It was found out that average values of three studied biomarkers in cellular brain damage significantly prevailed in

patients with mild TBI, but they showed a different dynamics of average values if the time of sampling was different. **Conclusion:** Measuring TAU-, GFAP -, and pNF protein levels as biomarkers of cellular damage in brain injury improves diagnostics in patients with mild and moderate TBI.

Key words: biomarkers of cellular brain injury, TAU protein, GFAP protein, pNF-protein, traumatic brain injury.

Ссылка для цитирования: Ковтун Н.А., Савельева М.И., Трофименко А.В., Алексин С.С., Боярицев В.В. Оценка потенциальных биомаркеров клеточного повреждения мозга при легких черепно-мозговых травмах. Кремлевская медицина. Клинический вестник. 2020; 4: 34-46.

Растущая осведомленность о частоте сотрясения мозга и легких черепно-мозговых травм (ЧМТ) в контактных видах спорта в сочетании с появлением травм, полученных в боевых действиях, усилили необходимость понимания основных механизмов легкой травмы головного мозга и разработки потенциальных терапевтических вмешательств. ЧМТ в целом и легкая ЧМТ в частности считаются «тихой эпидемией», поскольку многие острые и стойкие изменения в когнитивной, моторной и соматосенсорной функциях могут быть не совсем очевидны для внешних наблюдателей. ЧМТ является одной из ведущих причин смертности и инвалидности от травм с ежегодной заболеваемостью около 500 на 100 000 человек, пострадавших в США [1-3]. Однако примерно 80% всех случаев ЧМТ классифицируются как легкие травмы головы [4]. Важно отметить, что эти значения являются заниженными, поскольку они не учитывают случаи ЧМТ, при которых человек не обращается за медицинской помощью [5]. Недавние оценки для исправления этого занижения привели к тому, что ежегодная заболеваемость составила около 3,8 млн человек [4, 6, 7]. Шкала комы Глазго (GCS), которая измеряет уровень сознания, была основным клиническим инструментом для оценки тяжести черепно-мозговой травмы легкой (GCS 13–15), средней (GCS 9–12) или тяжелой (GCS <8) степени [8]. Хотя эта система оценки служит надежным предиктором выживаемости пациентов [9], особенно в острой фазе травмы и для пациентов с более тяжелой травмой головы [10], она необязательно отражает лежащую в основе патологию головного мозга, потому что различные структурные аномалии могут давать сходную клиническую картину. Гендерные факторы также могут играть роль в эпидемиологии сотрясения мозга: сравнения аналогичных видов спортивных травм показали, что у женщин уровень сотрясения мозга почти в два раза выше, чем у мужчин [11, 12]. Важно отметить, что мужчины и женщины, получившие сотрясение средней степени, самостоятельно сообщают о различных симптомах, причем женщины чаще жалуются на сонливость и чувствительность к шуму, тогда как

мужчины - на когнитивный дефицит и амнезию [13]. Кроме того, у женщин имеются более выраженные постконтузионные симптомы через 3 мес после травмы [14].

На территории Российской Федерации используют шкалы военно-полевой хирургии (далее ВПХ) ВПХ-П(МТ), ВПХ-П(ОР), ВПХ-П(Р) для оценки травмы. Шкалы ориентированы на окончательный исход травмы, учитывают вероятность летальности и инвалидности, а также длительность утраты трудоспособности [15].

Симптоматология, связанная с сотрясением мозга, носит в основном функциональный характер, поскольку стандартные исследования нейровизуализации не обнаруживают структурных отклонений. Однако посмертный анализ мозга пациентов, перенесших недавно нетяжелую ЧМТ, но умерших от нетравматических причин, показал признаки повреждения аксонов [16, 17]. Специализированная функциональная магнитно-резонансная томография выявила снижение кортикального кровотока в средней дорсолатеральной префронтальной коре в течение острого постконтузионного периода у спортсменов, испытывающих трудности с памятью, а также паттерны активации, которые коррелируют с выраженностью симптомов и выздоровлением [18], тогда как диффузионная тензорная визуализация также выявила признаки микроструктурного повреждения белого вещества и повреждения аксонов в некоторых случаях длительного дефицита памяти [19–22]. Кроме того, исследования с использованием электроэнцефалографии и транскраниальной магнитной стимуляции показали, что острые и долговременные электрофизиологические изменения в активности мозга могут происходить в отсутствие явных нейропсихологических нарушений [23–25]. Отсутствие клинических инструментов для выявления неврологического или психологического дефицита, который влияет на ежедневное функционирование, оставляет пациентов с легкой ЧМТ практически без вариантов лечения. Подобная травма часто рассматривается как несерьезная, и поэтому поиск методов лечения легких ЧМТ ранее не проводился.

Диагностические и прогностические инструменты для стратификации риска у пациентов с легкими ЧМТ ограничены на ранних стадиях после травмы. При ряде других заболеваний органов, например, таких, как ишемия миокарда или дисфункция почек и печени, быстрая диагностика с использованием биомаркеров в анализах крови является клинически необходимой для постановки диагноза и лечения, в отличие быстрых и точных лабораторных инструментов для диагностики ЧМТ нет. За последнее десятилетие было проведено множество исследований, посвященных изучению перспективных биомаркеров. Несмотря на большое количество опубликованных научных работ [26, 27], по-прежнему не хватает биомаркеров, разрешенных для клинического применения у взрослых и детей [28, 29]. В настоящее время существует острая необходимость в проверке и внедрении потенциаль-

ных биомаркеров клеточного повреждения мозга в клиническую практику [30].

Цель исследования: изучить изменение показателей белков крови - ТАУ-белка, GFAP, нейрофиламента (pNF-H) - у пациентов с легкими черепно-мозговыми травмами по сравнению с аналогичными показателями пациентов с признаками повреждения головного мозга и без таковых.

Материалы и методы

В проспективное сравнительное исследование после подписания информированного согласия были включены 121 человек разного пола, из которых 77 пациентов с легкой закрытой ЧМТ (группа 1 - основная), 14 пациентов после оперативного вмешательства по поводу опухолевых образований головного мозга (группа 2 - сравнения) и 30 пациентов с соматическими забо-

Таблица 1

Обобщенные данные выборки исследуемые

Базовые характеристики и клинические исходы	ЧМТ – основная группа (n=77)	После операции по поводу опухоли мозга – группа сравнения (n=14)	Значение (p) по сравнению с основной группой	Относительно здоровые добровольцы – контрольная группа (n=30)	Значение (p) по сравнению с основной группой
Общие характеристики:					
Возраст (M±SD)	50.84±22.03	53.86±16.05	0.204	33.87±6.85	<0.001
Пол (% мужчин)	50.65	50	0.65	50	0.65
Лабораторные показатели (M±SD)					
Глюкоза крови	5.94±1.62	6.31±2.07	0.19	5.99±2.59	0.0011
Альбумин	37.01±6.38	36.2±5.31	0.958	37.9±4.65	0.797
Общий билирубин	14.12±7.64	9.33±4.75	0.103	10.56±6.36	0.286
АЛТ	25.43±29.8	27.64±19.90	0.163	45.77±52.75	<0.001
АСТ	31.55±44.6	16.45±5.28	<0.001	36.77±63.03	0.0172
Мочевина	5.58±2.21	6.49±2.17	0.971	4.55±1.126	0.00014
Креатинин	90.43±19.4	78.0±8.74	0.00603	87.43±14.23	0.0638
ЛДГ	433.9±312.8	662.5±392.44	0.436	815.29±1760.8	<0.001
КФК	561.4±1073.1	193.0±49.497	0.0731	513.61±1539.9	0.0642
Общий белок	68.64±7.16	65.45±8.51	0.382	70.89±5.195	0.0631
Патология, выявленная при инструментальных исследованиях (абс.ч/%)					
ЭКГ	8 (10.39)	3 (21.43)	<0.05	4 (13.33)	>0.05
МРТ	4 (5.19)	1 (7.14)	>0.05	1 (3.33)	>0.05
КТ	21 (27.27)	11 (78.57)	<0.05	0 (0)	<0.05
Клинические исходы (абс.ч/%)					
28-дневная летальность	2 (2.6)	1 (7.14)	>0.05	0 (0)	>0.05
Летальность более 28 дней	1 (1.3)	0 (0)	>0.05	0 (0)	>0.05
Благоприятный	74 (96.1)	13 (92.86)	>0.05	30 (100)	>0,05

леваниями без признаков клеточного повреждения мозга (группа 3 - контрольная), проходивших лечение на базе ФГБУ «Клиническая больница №1» УДП РФ. Обобщенные данные выборки, включающие базовые характеристики, данные рутинных лабораторных и инструментальных методов исследования, а также клинические исходы, представлены в табл. 1 в сравнительном аспекте в виде усредненных ($M \pm SD$) и частотных значений (абс.ч/%).

Для подтверждения роли изучаемых белков как наиболее перспективных биомаркеров клеточного повреждения мозга был проведен забор крови для определения TAU-, GFAP-, pNF-белков в динамике: в 1-й день (1-й забор), 2-й день (2-й забор) и 6-й день госпитализации (3-й забор) — для групп 1 и 3, а для группы 2 были выполнены только два забора крови: в день поступления в стационар (1-й забор) и на следующий день после проведения операции на головном мозге (2-й забор). Измерение уровня исследуемых биомаркеров в динамике проводили с использованием методики ИФА (иммуноферментный анализ).

Также осуществляли забор крови для определения уровня основных лабораторных показателей, отражающих общее состояние пациента общей анализ крови (ОАК), глюкоза, общий билирубин, АСТ, АЛТ, общий белок, мочевины, креатинина, а измерение проводили с использованием автоматических анализаторов.

Сбор данных по другим методам диагностики (КТ, МРТ) проводился с помощью анализа историй болезни, в которых отражены протоколы проведенных исследований медицинской информационной системы («Портал»), а также лабораторной информационной системы (ЛИС) «Алтэй».

Проведена оценка всех исследуемых клинико-лабораторных показателей в трех группах сравнения последовательно: сначала группа 1 (основная) сравнивалась с группой 3 (контрольная) — сравнение в двух группах с использованием критерия Фишера, а затем производилось сравнение в трех группах с использованием критериев Фридмана и Крускала - Уоллиса. Статистическая значимость была определена при $p < 0.05$. Все статистические расчеты были выполнены с ис-

Таблица 2

Результаты сравнения средних лабораторных показателей в основной группе 1 и контрольной группе

Параметр	Контрольная группа 3 (n=30)			Основная группа 1 (N=77)			f. тест (p)
	среднее	стд.Отк.	медиана	среднее	стд.Отк.	медиана	
Возраст, годы	33.87	6.85	34.50	50.84	22.03	47.00	<0.0001
TAU1	1.56	1.42	0.94	51.87	55.31	28.97	<0.0001
TAU2	1.75	2.47	0.82	22.52	36.30	12.08	<0.0001
TAU3	1.54	1.74	0.87	6.58	25.61	1.36	<0.0001
GFAP1	0.39	0.14	0.32	27.83	21.30	23.68	<0.0001
GFAP2	0.36	0.14	0.31	28.20	21.97	25.12	<0.0001
GFAP3	0.36	0.11	0.31	27.16	22.59	22.49	<0.0001
pNF1	0.24	0.31	0.16	49.93	58.40	41.53	<0.0001
pNF2	0.20	0.27	0.15	46.16	59.67	32.34	<0.0001
pNF3	0.28	0.36	0.17	25.22	57.31	13.90	<0.0001
Глюкоза	5.99	2.59	5.15	5.94	1.62	5.50	0.001142
Альб	37.90	4.65	37.10	37.01	6.36	36.00	0.797239
общий Билирубин	10.56	6.36	9.75	14.12	7.64	12.50	0.28563
АЛТ	45.77	52.75	29.00	25.43	29.80	20.00	<0.0001
АСТ	36.77	63.03	21.00	31.55	44.56	21.00	<0.0001
Мочевина	4.55	1.13	4.60	5.58	2.21	5.30	0.000136
Креатинин	87.43	14.23	89.00	90.43	19.41	88.00	0.063774
ЛДГ	815.29	1760.76	356.00	433.86	312.80	333.00	<0.0001
КФК	513.61	1539.86	113.00	561.41	1073.10	212.00	0.064197
Общий белок	70.89	5.20	72.50	68.64	7.16	69.00	0.063148

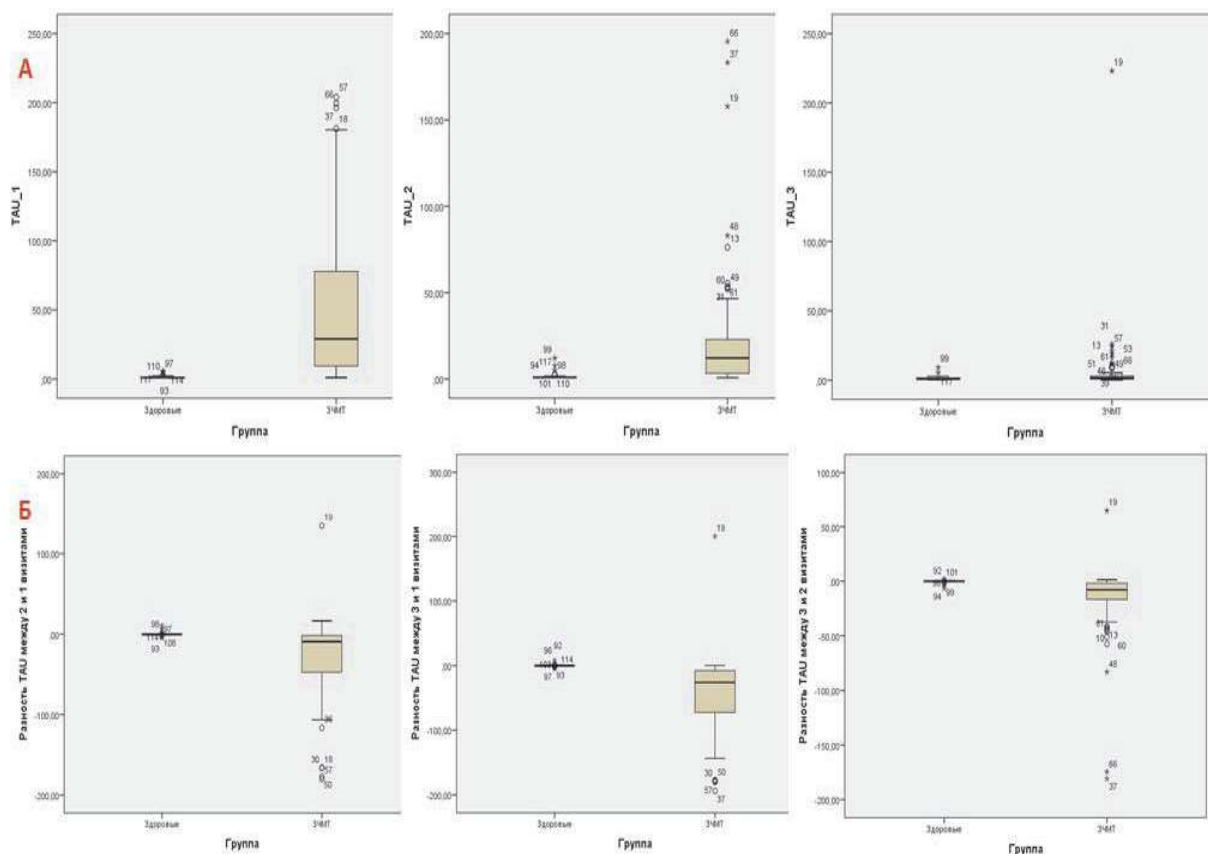


Рис. 1. Сравнение средних показателей концентрации в динамике (А) и разности концентраций TAU-белка между заборами крови (Б) по группам 1(ЗЧМТ) и 3 (пациенты без признаков повреждения головного мозга или «здоровые»).

пользованием SPSS версии 20.0 и GraphPad Prism версии 5.0 (GraphPad Inc.).

Результаты исследования

1. Оценка показателей концентрации потенциальных биомаркеров клеточного повреждения мозга (TAU-, GFAP- и pNF-белков в динамике) в основной и контрольной группах

При сравнении средних (среднее, стандартное отклонение и медиана) лабораторных показателей в основной группе 1 с ЗЧМТ и контрольной группе 3 (табл. 2), выявлены достоверные различия по всем изучаемым биомаркерам в динамике, а также по показателям уровня глюкозы крови, АЛТ и АСТ, мочевины и ЛДГ. При этом в основной группе 1 были достоверно выше средние показатели всех трех изучаемых биомаркеров (TAU-, GFAP- и pNF-белков в динамике) ($p < 0.0001$), глюкозы крови ($p = 0.001142$) и мочевины ($p = 0.000136$), однако показатели АЛТ и АСТ ($p < 0.0001$), а также ЛДГ ($p < 0.0001$) были достоверно ниже, чем в контрольной группе 3.

Далее проведено сравнение средних значений концентрации и разности концентраций TAU-белка в динамике у пациентов с легкими черепно-мозговыми травмами по сравнению с

пациентами без признаков повреждения головного мозга (рис. 1, А и Б). Так, в основной группе 1 средние показатели (А) были достоверно выше ($p < 0.0001$), чем в контрольной группе 3 (табл.3), независимо от времени забора крови. При оценке разности концентраций TAU-белка (Б) между забором крови: 2 и 1, 3 и 1, 3 и 2-м – получены максимальные значения разности концентраций в 3-й и 1-й пробах, несколько ниже значения разности во 2-й и 1-й пробах и минимальные значения разности концентраций в 3-й и 2-й пробах, причем все выявленные различия в полученных показателях достоверны ($p < 0.0001$).

При сравнении средних значений концентрации и разности концентраций GFAP-белка в динамике у пациентов с легкими ЧМТ по сравнению с пациентами без признаков повреждения головного мозга (рис. 2, А и Б) обнаружено достоверное преобладание количественных параметров концентрации данного биомаркера (А) у пациентов в основной группе 1, но не выявлено динамики изучаемых параметров в пробах, причем в обеих группах. При оценке разности концентраций GFAP-белка (Б) между пробами выявлено лишь незначительное недостоверное преобладание разности концентраций между 2-й и

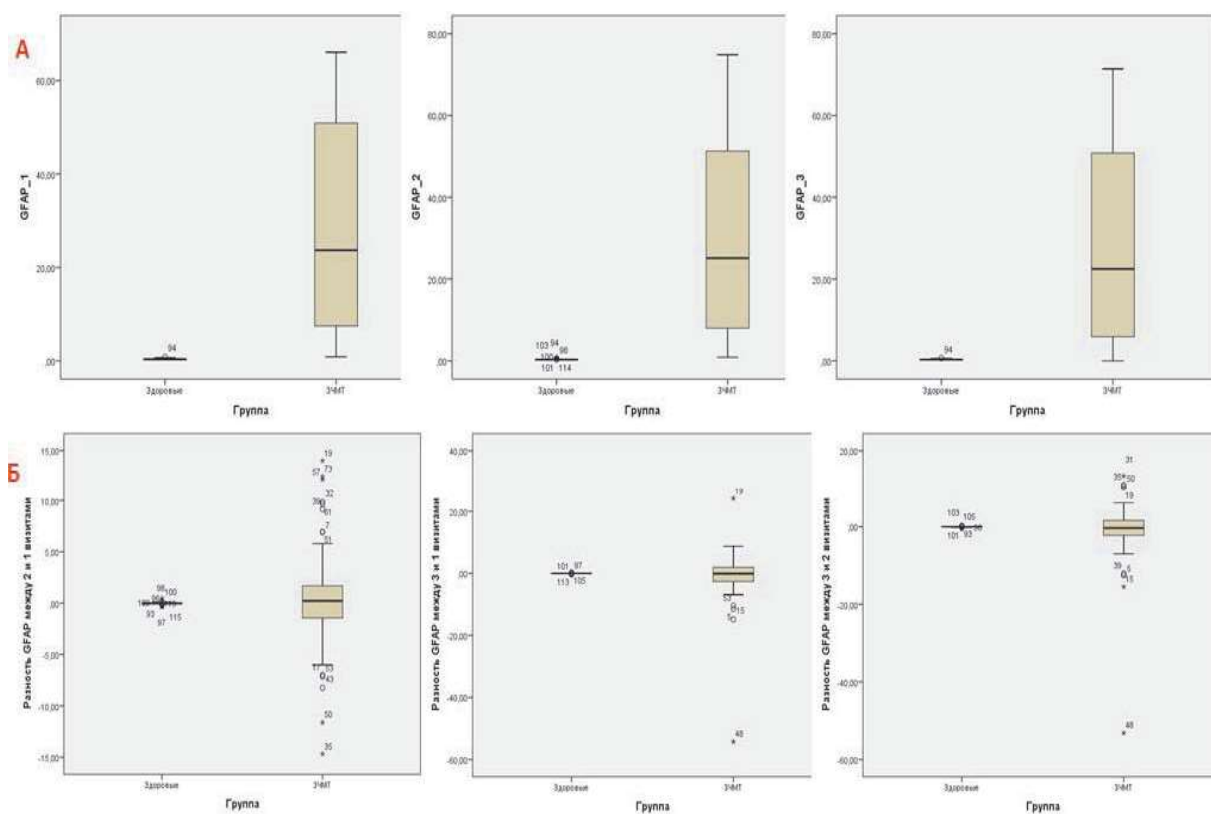


Рис. 2. Сравнение средних показателей концентрации (А) и разности концентраций GFAP-белка между заборами крови (Б) по группам 1(ЗЧМТ) и 3 («здоровые»).

1-й пробами, что свидетельствует о практически стабильной концентрации данного белка за наблюдаемый период времени.

При сравнении средних значений концентрации и разности концентраций pNF-белка в динамике у пациентов с легкими черепно-мозговыми травмами по сравнению со «здоровыми» (рис. 3, А и Б) также обнаружено достоверное преобладание количественных параметров концентрации данного биомаркера (А) у пациентов с легкими ЧМТ и выявлена достоверная динамика изучаемых параметров в пробах в основной группе. При оценке разности концентраций pNF-белка (Б) между пробами выявлено преобладание разности концентраций практически в равной степени между 2 и 1, 3 и 1, 3 и 2-й пробами, причем все выявленные различия в полученных показателях были достоверны ($p < 0.0001$).

Таким образом, средние показатели всех трех изучаемых биомаркеров клеточного повреждения мозга достоверно преобладали в группе пациентов с легкими ЗЧМТ, но демонстрировали различную динамику средних значений концентрации между пробами. Наиболее динамичными достоверными показателями обладал TAU-белок и в меньшей степени pNF-белок, а GFAP-белок практически не претерпел динамических изменений за наблюдаемый период времени.

2. Оценка показателей концентрации потенциальных биомаркеров клеточного повреждения мозга (TAU-, GFAP- и pNF-белков в динамике) в трех группах сравнения

Далее проведено сравнение полученных результатов определения средних значений концентрации изучаемых биомаркеров (TAU-, GFAP- и pNF-белков) в трех группах сравнения: у пациентов без признаков повреждения головного мозга («здоровые»), пациентов с легкими закрытыми черепно-мозговыми травмами (ЗЧМТ) и пациентов с оперативными вмешательствами на ЦНС.

По результатам проведенного сравнительного исследования средних показателей концентрации (среднее \pm стандартное отклонение) изучаемых биомаркеров (TAU-, GFAP-, pNF-белков в динамике) по пробам, а также других лабораторных параметров в изучаемых группах пациентов (табл. 3) обнаружено достоверное преобладание показателя TAU1 в группе пациентов с легкой ЗЧМТ по сравнению группой пациентов, перенёсших операцию на головном мозге, и группой «здоровых» ($p < 0.0001$); преобладание TAU2 в группе пациентов, перенёсших операцию на головном мозге, по сравнению с группой пациентов с легкой ЗЧМТ и «здоровых» ($p < 0.0001$); преобладание TAU3 в группе пациентов с легкой ЗЧМТ по сравнению со «здоровыми»

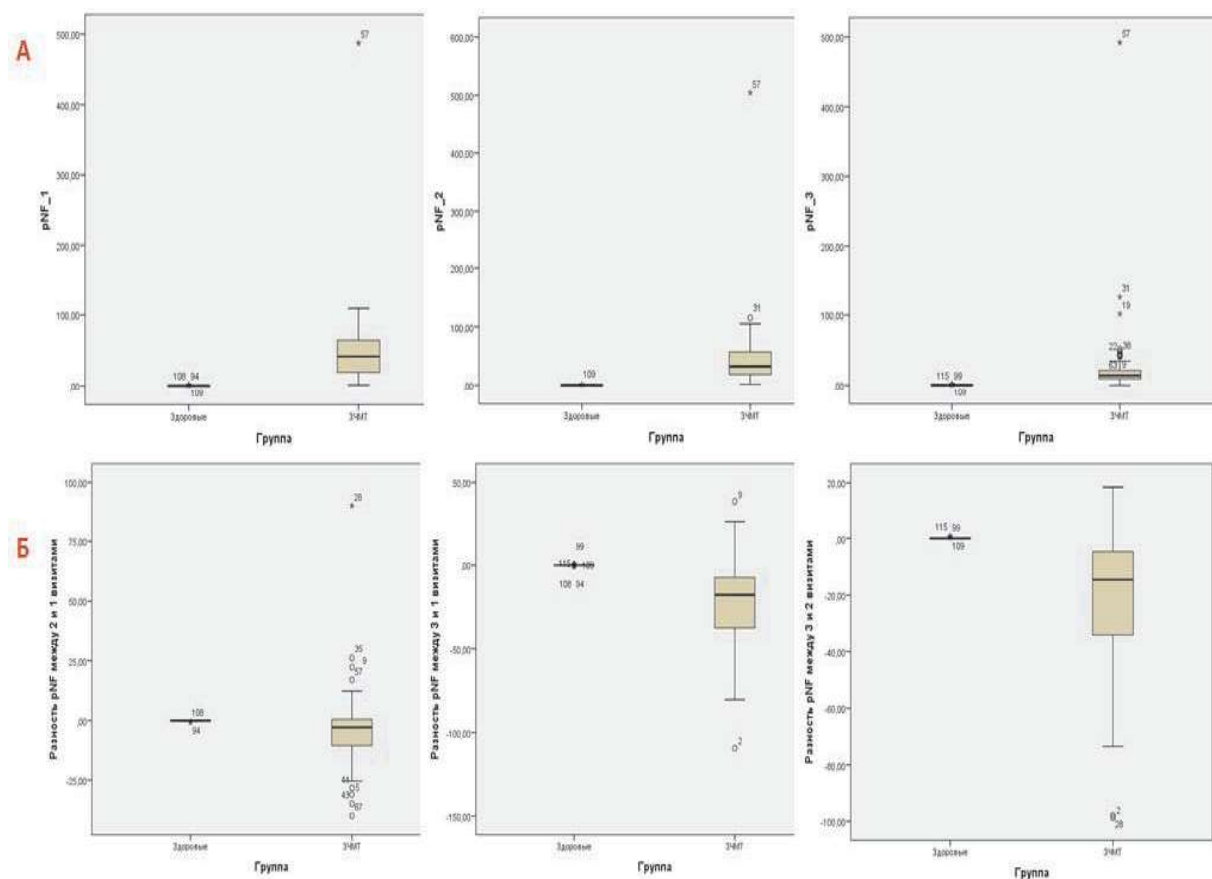


Рис. 3. Сравнение средних показателей концентрации (А) и разности концентраций pNF-белка между заборам крови (Б) по группам 1 (ЗЧМТ) и 3 («здоровые»).

($p=0.03154$). При оценке биомаркера GFAP в динамике выявлено, что все три измерения данного белка значимо преобладали в основной группе 1 (<0.0001), при этом далее по убыванию шли параметры GFAP1 и GFAP2 группы 2 (операции на головном мозге), а затем группы 3 «здоровых», кроме измерений GFAP3, которые проводились только в основной группе 1 и контрольной группе. При оценке биомаркера pNF1 и pNF2, наоборот, выявлено выраженное достоверное преобладание средних величин в группе оперативных вмешательств по сравнению с группой пациентов с легкой ЗЧМТ (<0.0001), а затем и с группой «здоровых» добровольцев (<0.0001).

Следует отметить, что при оценке разности измерений средних значений концентрации изучаемых биомаркеров (TAU-, GFAP-, pNF-белков) обнаружено достоверное преобладание разности концентраций между 1-й и 2-й пробой TAU-белка в группе пациентов с легкой ЗЧМТ (<0.0001) и pNF-белка в группе пациентов с оперативными вмешательствами на головном мозге (<0.0001). С учетом того, что в группе пациентов, перенёвших операцию на головном мозге, не проводилось третьего измерения изучаемых биомаркеров, то при сравнении разностей TAU-

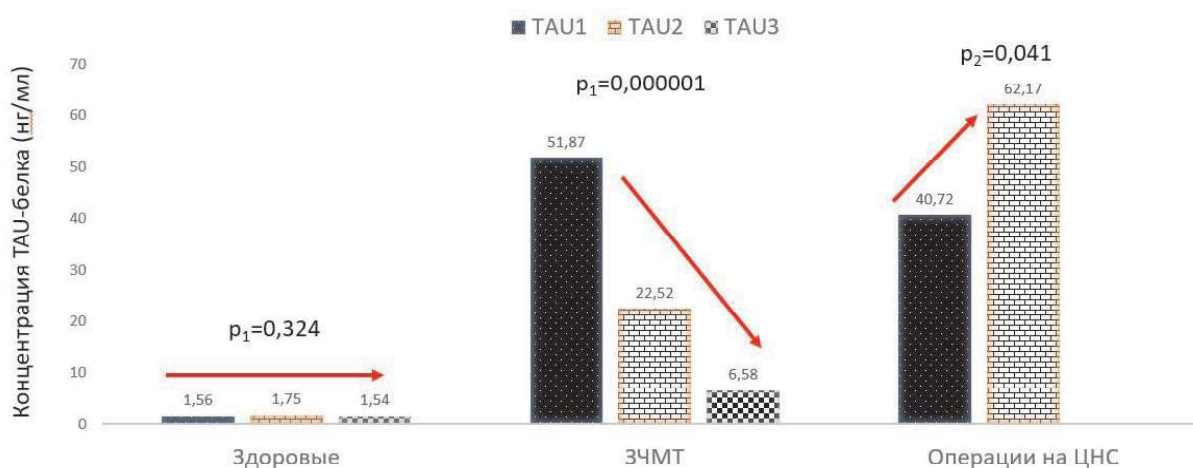
и pNF-белков между пробами 1 и 3, 2 и 3-й закономерно преобладали показатели в группе пациентов с легкой ЗЧМТ над «здоровыми».

Анализ других биохимических показателей по средним значениям (табл. 3) обнаружил значимое доминирование показателей билирубина в группе ЗЧМТ ($p=0.01874$), АЛТ ($p=0.05$) и АСТ ($p=0.03414$) в группе «здоровых» и мочевины в группе оперативных вмешательств на головном мозге ($p=0.01128$). По другим изучаемым лабораторным и клиническим параметрам различий в группах сравнения не обнаружено.

При оценке динамики средних показателей концентраций изучаемых потенциальных биомаркеров клеточного повреждения мозга (рис. 4) отмечено разнонаправленное преобладание изучаемых белков в разных группах сравнения. Так, например, в первой пробе концентрация TAU-белка является максимальной в группе пациентов с легкой ЗЧМТ и минимальной в группе «здоровых», группа пациентов, перенесших операцию на головном мозге, занимает промежуточное положение. Во второй пробе максимальная концентрация TAU-белка наблюдается после оперативного вмешательства на головном мозге, что объясняется наличием клеточно-

Результаты сравнения средних показателей концентрации изучаемых биомаркеров (TAU-, GFAP-, pNF-белков) в исследуемых группах

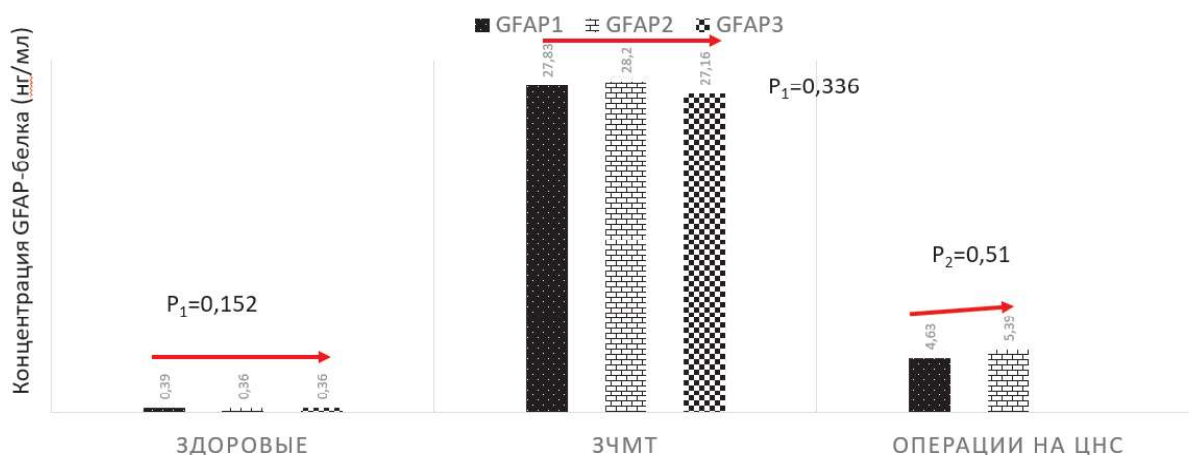
Параметр	«Здоровые» (n=30)		ЗЧМТ (n=77)		Операция на ЦНС (n=14)		p (критерий Крускала-Уоллеса)
	среднее	стд.откл.	среднее	стд.откл.	среднее	стд.откл.	
Возраст, годы	33.8667	6.84676	50.8442	22.02753	53.8571	16.05211	0.00028
TAU1	1.56	1.42	51.87	55.31	40.72	50.80	<0.0001
TAU2	1.75	2.47	22.52	36.30	62.17	63.54	<0.0001
TAU3	1.54	1.74	6.58	25.61			0.03154
GFAP1	0.39	0.14	27.83	21.30	4.63	2.90	<0.0001
GFAP2	0.36	0.14	28.20	21.97	5.39	3.38	<0.0001
GFAP3	0.36	0.11	27.16	22.59			<0.0001
pNF1	0.24	0.31	49.93	58.40	74.09	89.08	<0.0001
pNF2	0.20	0.27	46.16	59.67	207.80	177.77	<0.0001
pNF3	0.28	0.36	25.22	57.31			<0.0001
Глюкоза	5.99	2.59	5.94	1.62	6.31	2.07	0.43765
Альбумин	37.90	4.65	37.01	6.36	36.20	5.31	0.81417
Общий билирубин	10.56	6.36	14.12	7.64	9.33	4.75	0.01874
АЛТ	45.77	52.75	25.43	29.80	27.64	19.90	0.05
АСТ	36.77	63.03	31.55	44.56	16.45	5.28	0.03414
Мочевина	4.55	1.13	5.58	2.21	6.49	2.17	0.01128
Креатинин	87.43	14.23	90.43	19.41	78.00	8.74	0.05676
ЛДГ	815.29	1760.76	433.86	312.80	662.50	392.44	0.43804
КФК	513.61	1539.86	561.41	1073.10	193.00	49.50	0.11855
Общий белок	70.89	5.20	68.64	7.16	65.45	8.51	0.07950
САД	126.87	13.09	126.95	14.27	121.50	7.63	0.35418
ДАД	77.70	13.61	74.77	9.51	75.14	9.56	0.95354



Примечание: p_1 – критерий Фридмана; p_2 – критерий Вилкоксона

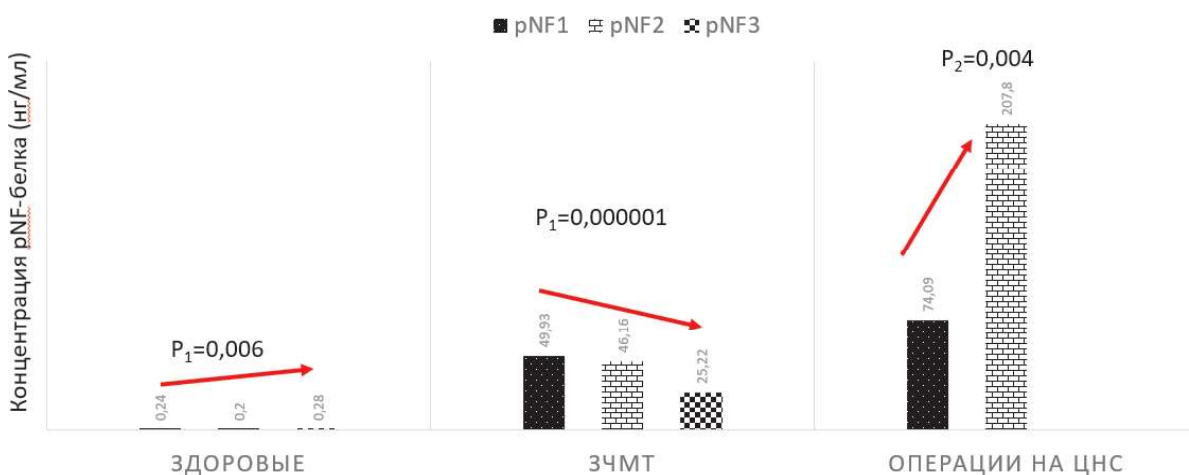
Рис. 4. Оценка динамики концентраций TAU-белка по средним значениям в трех группах сравнения: «здоровые», ЗЧМТ и операции на ЦНС (стрелкой указаны разнонаправленные тренды динамики концентраций).

го повреждения при черепно-мозговой травме уже в первой пробе и его появлением только во второй пробе после проведенного оперативного вмешательства. В целом динамика концентраций



Примечание: p_1 – критерий Фридмана; p_2 – критерий Вилкоксона

Рис. 5. Оценка динамики концентраций GFAP-белка по средним значениям в трех группах сравнения: «здоровые», ЗЧМТ и операции на ЦНС (стрелкой указаны однонаправленные тренды динамики концентраций).



Примечание: p_1 – критерий Фридмана; p_2 – критерий Вилкоксона

Рис. 6. Оценка динамики концентраций pNF-белка по средним значениям в трех группах сравнения: «здоровые», ЗЧМТ и операции на ЦНС (стрелкой указаны разнонаправленные тренды динамики концентраций).

TAU-белка имеет достоверные различия только в основной группе пациентов с легкой ЗЧМТ ($p=0.00001$, критерий Фридмана) и группе пациентов, перенесших оперативные вмешательства на головном мозге ($p=0.041$, критерий знаковых рангов Вилкоксона), с подтверждением разнонаправленных трендов динамики концентраций.

GFAP-белок, наоборот, продемонстрировал практически однотипную недостоверную динамику средних значений концентраций по каждой группе сравнения, но средние показатели в основной группе 1 пациентов с легкой ЗЧМТ были выше, чем в группе 2 пациентов, перенесших операции на головном мозге, и группе 3 «здоровых» (рис. 5).

При оценке динамики концентраций в целом по группам сравнения и сравнении концентраций pNF-белка в пробах (рис. 6) выявлено значитель-

ное преобладание средних значений во 2-й пробе в группе 2, что свидетельствует о более значительном повышении концентрации данного белка после проведения оперативного вмешательства на головном мозге и большей выраженности повреждения клеток головного мозга. Тогда как в 1-й пробе отмечается слабовыраженное, но достоверное преобладание средних показателей pNF-белка, которые имеют низкие количественные показатели в основной группе 1, над группой 2 пациентов, перенесших операцию на головном мозге, и контрольной группой 3. В целом динамика концентраций pNF-белка имеет достоверные различия во всех группах сравнения: в основной группе 1 (пациенты с легкой ЗЧМТ) ($p=0.000001$, критерий Фридмана), группе 2 (пациенты после оперативного вмешательства на головном мозге) ($p=0.004$, критерий Вилкоксона) и контрольной группе 3 («здоровые»)

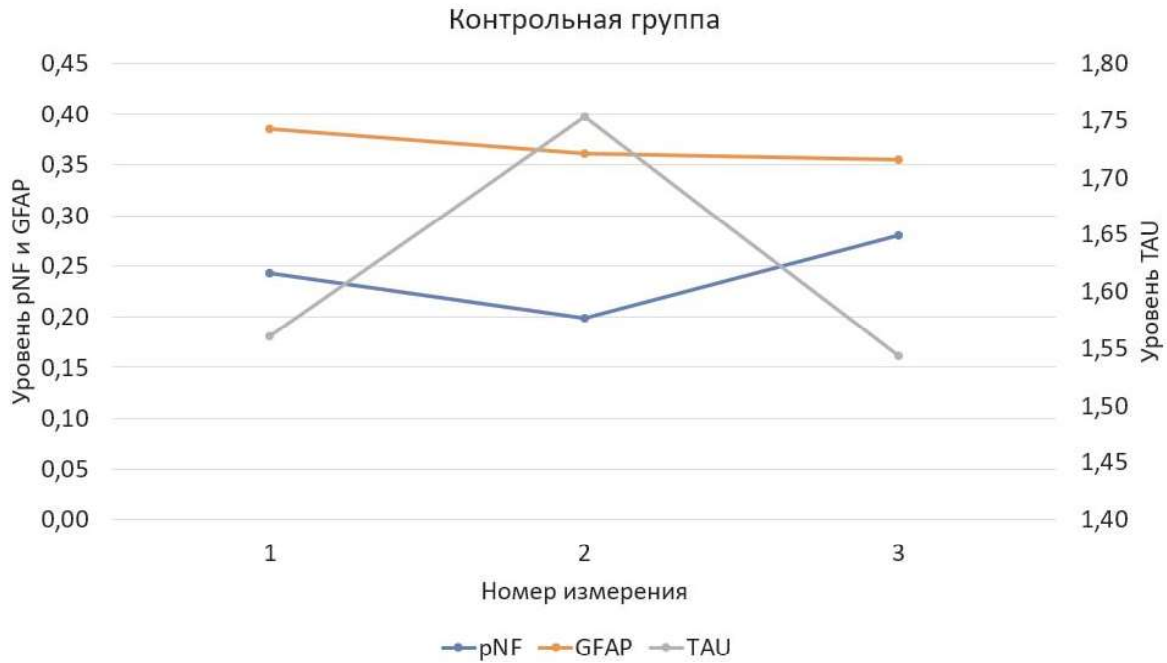


Рис. 7. Динамика концентраций TAU-, GFAP- и pNF-белков в контрольной группе 3 (пациенты без признаков повреждения головного мозга).

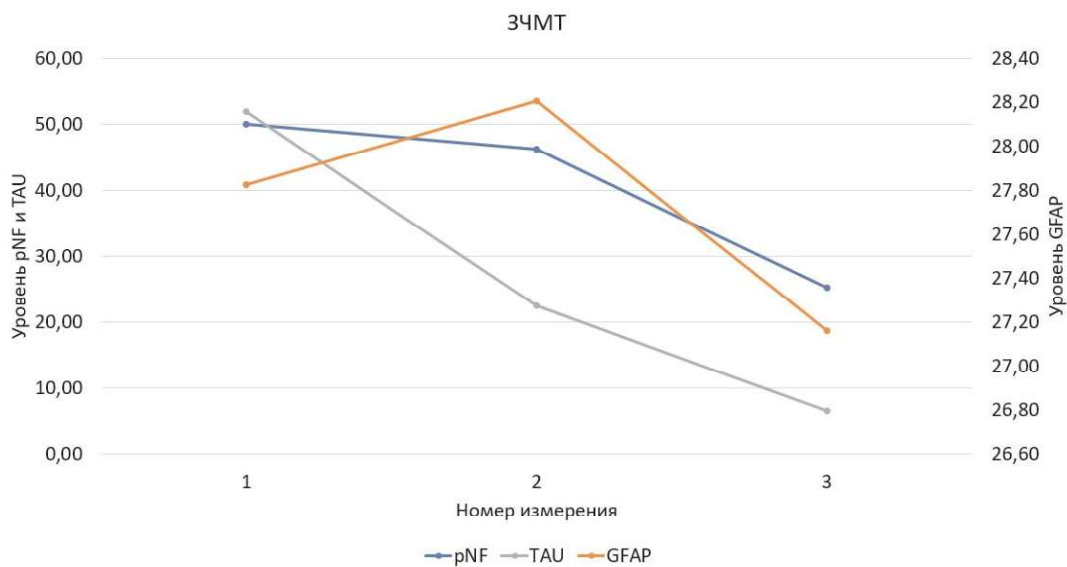


Рис. 8. Динамика концентраций TAU-, GFAP- и pNF-белков в основной группе (легкие ЗЧМТ).

($p=0.006$) с подтверждением разнонаправленных трендов динамики концентраций.

Проведена оценка динамики исследуемых потенциальных биомаркеров клеточного повреждения мозга в каждой группе сравнения. Так, в группе пациентов без признаков повреждения головного мозга (контрольная группа 3), что отражено графически на рис. 7, отмечается незначительная динамика низких показателей концентраций TAU-, GFAP- и pNF-белков, что подтверждает наличие процессов апоптоза в неповрежденной мозговой ткани.

В группе легких ЗЧМТ (рис.8) отмечается выраженная динамика всех трех изучаемых потен-

циальных биомаркеров: однонаправленная для TAU- и pNF-белков, причем с более резким снижением концентрации TAU-белка; и разнонаправленная для GFAP-белка с повышением концентрации во 2-й пробе и снижением в 3-й пробе.

В группе пациентов с оперативными вмешательствами на головном мозге (рис. 9) по причине только двух измерений исследуемых потенциальных биомаркеров выявлено однонаправленное повышение концентраций всех изучаемых белков клеточного повреждения мозга, причем более выраженное для pNF- и GFAP-белков и менее выраженное для TAU-белка.

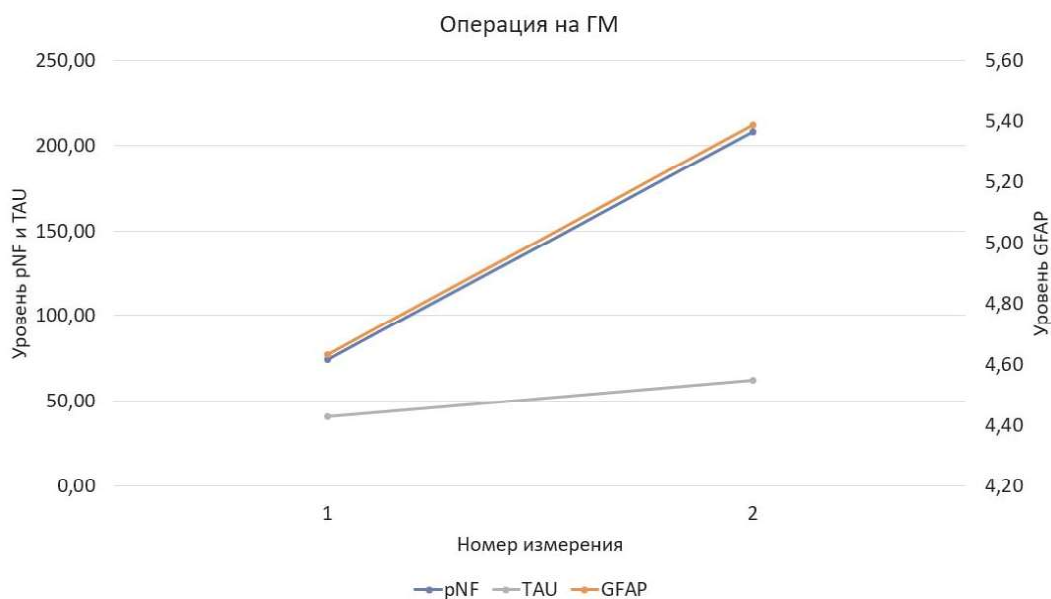


Рис. 9. Динамика концентраций TAU-, GFAP- и pNF-белков во 2-й группе сравнения (операции на головном мозге)

Выводы

1. Доказано, что у пациентов с легкой ЗЧМТ достоверно преобладали средние показатели всех трех изучаемых биомаркеров (TAU, GFAP и pNF в динамике) ($p < 0.0001$) и мочевины ($p = 0.000136$), однако показатели АЛТ и АСТ ($p < 0.0001$), а также ЛДГ ($p < 0.0001$) были достоверно ниже, чем в группе пациентов без клеточного повреждения головного мозга.

2. Обнаружено, что при легких ЗЧМТ наблюдается постепенное снижение уровня средних значений концентрации всех изучаемых биомаркеров, более выраженное для TAU-белка, в меньшей степени - для pNF-белка и практически не выраженное для GFAP-белка, по сравнению с группой пациентов без клеточного повреждения головного мозга.

3. Выявлена достоверная разнонаправленная динамика двух изучаемых биомаркеров при сравнении средних значений концентраций в группе с ЗЧМТ и группе перенесших операции на головном мозге, что подтверждает роль травмы в повышении концентрации исследованных белков:

- TAU1 ЗЧМТ > TAU1 операции на головном мозге, TAU2 ЗЧМТ < TAU2 операции на головном мозге ($p < 0.05$);
- pNF1 ЗЧМТ = pNF1 операции на мозге, pNF2 ЗЧМТ < pNF2 операции на мозге ($p < 0.05$).

4. Обнаружено, что определение концентрации TAU-, GFAP- и pNF-белков в качестве биомаркеров клеточного повреждения мозга улучшает диагностику легких ЗЧМТ. Однако в динамике (до 7 сут наблюдения в стационаре) могут оцениваться только два биомаркера: TAU- и

pNF-белки, так как концентрация GFAP-белка за данный период снижается незначительно.

Заключение

При проведении оценки показателей концентраций изучаемых биомаркеров (TAU-, GFAP- и pNF-белков в динамике) в основной (ЗЧМТ) и контрольной группах (без клеточного повреждения головного мозга) обнаружено, что средние показатели всех трех изучаемых биомаркеров клеточного повреждения головного мозга достоверно преобладали в группе пациентов с легкими ЗЧМТ, но демонстрировали различную динамику средних значений концентрации между пробами, что подтверждает роль данных белков в патогенезе ЗЧМТ. Наиболее динамичными достоверными показателями обладал TAU-белок и в меньшей степени – pNF-белок, а GFAP-белок практически не претерпел динамических изменений в процессе наблюдения, поэтому именно TAU-белок, по-видимому, можно считать основным биомаркером ЗЧМТ. Кроме того, выявлены достоверные различия в данных группах сравнения по показателям уровня глюкозы крови, АЛТ и АСТ, мочевины и ЛДГ. Так, в основной группе у пациентов с легкой ЗЧМТ достоверно преобладали средние показатели глюкозы крови ($p = 0.001142$) и мочевины ($p = 0.000136$), однако показатели АЛТ и АСТ ($p < 0.0001$), а также ЛДГ ($p < 0.0001$) были достоверно ниже, чем в контрольной группе, что, возможно, связано с наличием соматической патологии, приемом лекарственных средств, преморбидным фоном пациентов обеих групп. Однако повышенные показате-

тели глюкозы и креатинина в группе пациентов с ЗЧМТ могут косвенно подтверждать и тяжесть течения ЗЧМТ.

Сравнение полученных результатов определения средних значений концентрации изучаемых биомаркеров (TAU-, GFAP- и pNF-белков), а также их динамики в зависимости от времени взятия пробы во всех трех группах сравнения демонстрирует подтверждение роли данных белков в возможности оценки клеточного повреждения мозговой ткани. И при легких ЗЧМТ, и при травмах, связанных с оперативным вмешательством на головном мозге, отмечается достоверное увеличение концентраций всех трех потенциальных биомаркеров клеточного повреждения мозга. Однако при анализе динамики концентраций в трех группах сравнения достоверные различия получены только для двух белков — TAU- и pNF, что свидетельствует о более стойком содержании GFAP-белка в крови при травматических повреждениях головного мозга.

Таким образом, результаты проведенного исследования потенциальных биомаркеров клеточного повреждения мозга, а именно TAU-, GFAP- и pNF-белков, дают возможность усовершенствовать диагностику легких ЗЧМТ в рутинной клинической практике и тем самым повысить качество оказания медицинской помощи.

Литература

- Sosin D. M., Sacks J. J., Smith S. M. Head injury-associated deaths in the United States from 1979 to 1986 // *Jama*. — 1989. — V. 262. — №. 16. — P. 2251-2255. doi:10.1001/jama.1989.03430160073033.
- Kraus J. F., McArthur D. L. Epidemiologic aspects of brain injury // *Neurologic clinics*. — 1996. — V. 14. — №. 2. — P. 435-450. doi: 10.1016/S0733-8619(05)70266-8.
- Rutland-Brown W., Langlois J.A., Thomas K.E., Xi Y.L. Incidence of traumatic brain injury in the United States, 2003 // *The Journal of head trauma rehabilitation*. — 2006. — V. 21. — №. 6. — P. 544-548. doi:10.1089%2Fneu.2013.3306.
- Bazarian J. J., McClung J., Shah M. N., Cheng Y. T., Flesher W., Kraus J. Mild traumatic brain injury in the United States, 1998–2000. *Brain Inj.* 2005;19:85–91. doi:10.1080/02699050410001720158
- Faul M. et al. Traumatic brain injury in the United States // *emergency department visits, hospitalizations and deaths 2002–2006*. — 2010. — P. 2010. doi:10.1001%2Fjamapsychiatry.2018.4288.
- Ropper A. H., Gorson K. C. Concussion // *New England Journal of Medicine*. — 2007. — V. 356. — №. 2. — P. 166-172. doi: 10.1056/NEJMc064645.
- Halstead M. E. et al. Sport-related concussion in children and adolescents // *Pediatrics*. — 2010. — V. 126. — №. 3. — P. 597-615. doi: 10.1542/peds.2010-2005.
- Teasdale G, Jennett B. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. *Lancet*. 1974;2:81–84. doi: 10.1016/s0140-6736(74)91639-0
- Steyerberg E. W. et al. Predicting outcome after traumatic brain injury: development and international validation of prognostic scores based on admission characteristics // *PLoS Med*. — 2008. — V. 5. — №. 8. — P. e165. doi: 10.1371/journal.pmed.0050165
- Saatman K. E. et al. Classification of traumatic brain injury for targeted therapies // *Journal of neurotrauma*. — 2008. — V. 25. — №. 7. — P. 719-738. doi: 10.1016/j.nurt.2009.11.002
- Dick R. W. Is there a gender difference in concussion incidence and outcomes? // *British journal of sports medicine*. — 2009. — V. 43. — №. Suppl 1. — P. i46-i50. doi: 10.1136/bjism.2009.058172
- Lincoln A. E. et al. Trends in concussion incidence in high school sports: a prospective 11-year study // *The American journal of sports medicine*. — 2011. — V. 39. — №. 5. — P. 958-963. doi: 10.1177%2F0363546510392326.
- Frommer L. J., Gurka K. K., Cross K. M., Ingersoll C. D., Comstock R. D., Saliba S. A. Sex differences in concussion symptoms of high school athletes. *J Athl Train*. 2011;46:76–84. doi: 10.4085/1062-6050-46.1.76
- Bazarian J. J. et al. Sex differences in outcome after mild traumatic brain injury // *Journal of neurotrauma*. — 2010. — V. 27. — №. 3. — P. 527-539. doi: 10.1089/neu.2009.1068.
- Гуманенко Е. К., Бояринцев В. В., Супрун Т. Ю. Объективная оценка тяжести травм // *Клиническая медицина и патофизиология*. — 1996. — №. 1. [Gumanenko E.K., Boyarintsev V.V., Suprun T.Yu. The objective assessment of injury severity // *Klinicheskaya medicina i patofiziologia*. — 1996. — №. 1. In Russian].
- Blumbergs P. C. et al. Staining of amyloid precursor protein to study axonal damage in mild head injury // *The Lancet*. — 1994. — V. 344. — №. 8929. — P. 1055-1056. doi: 10.1016/S0140-6736(94)91712-4.
- Blumbergs P. C. et al. Topography of axonal injury as defined by amyloid precursor protein and the sector scoring method in mild and severe closed head injury // *Journal of neurotrauma*. — 1995. — V. 12. — №. 4. — P. 565-572. doi: 10.1089/neu.1995.12.565.
- Chen J. K. et al. Functional abnormalities in symptomatic concussed athletes: an fMRI study // *Neuroimage*. — 2004. — V. 22. — №. 1. — P. 68-82. doi: 10.1016/j.neuroimage.2003.12.032.
- Arfanakis K. et al. Diffusion tensor MR imaging in diffuse axonal injury // *American Journal of Neuroradiology*. — 2002. — V. 23. — №. 5. — P. 794-802. doi:10.1523%2FJNEUROSCI.3647-07.2007.
- Niogi S. N. et al. Extent of microstructural white matter injury in postconcussive syndrome correlates with impaired cognitive reaction time: a 3T diffusion tensor imaging study of mild traumatic brain injury // *American Journal of Neuroradiology*. — 2008. — V. 29. — №. 5. — P. 967-973. doi: 10.3174/ajnr.A0970.
- Smits M. et al. Microstructural brain injury in post-concussion syndrome after minor head injury // *Neuroradiology*. — 2011. — V. 53. — №. 8. — P. 553-563. doi: 10.1007/s00234-010-0774-6.
- Wilde E. A. et al. Diffusion tensor imaging of acute mild traumatic brain injury in adolescents // *Neurology*. — 2008. — V. 70. — №. 12. — P. 948-955. doi: 10.1212/01.wnl.0000305961.68029.54.
- De Beaumont L. et al. Long-term electrophysiological changes in athletes with a history of multiple concussions // *Brain Injury*. — 2007. — V. 21. — №. 6. — P. 631-644. doi: 10.1080/02699050701426931.
- De Beaumont L. et al. Long-term and cumulative effects of sports concussion on motor cortex inhibition // *Neurosurgery*. — 2007. — V. 61. — №. 2. — P. 329-337. doi: 10.1227/01.NEU.0000280000.03578.B6.
- Gosselin N. et al. Neurophysiological anomalies in symptomatic and asymptomatic concussed athletes // *Neurosurgery*. — 2006. — V. 58. — №. 6. — P. 1151-1161. doi: 10.1227/01.NEU.0000215953.44097.FA.
- Kochanek P. M. et al. Biomarkers of primary and evolving damage in traumatic and ischemic brain injury: diagnosis, prognosis, probing mechanisms, and therapeutic decision making // *Current*

opinion in critical care. — 2008. — V. 14. — №. 2. — P. 135-141. doi: 10.1097/MCC.0b013e3282f57564.

27. Papa L. et al. Elevated levels of serum glial fibrillary acidic protein breakdown products in mild and moderate traumatic brain injury are associated with intracranial lesions and neurosurgical intervention // *Annals of emergency medicine.* — 2012. — V. 59. — №. 6. — P. 471-483. doi: 10.1016/j.annemergmed.2011.08.021.

28. Papa L. et al. Systematic review of clinical research on biomarkers for pediatric traumatic brain injury // *Journal of neurotrauma.* — 2013. — V. 30. — №. 5. — P. 324-338. doi: 10.1089/neu.2012.2545.

29. Papa L. et al. Serum levels of Ubiquitin C-terminal Hydrolase (UCH-L1) distinguish mild traumatic brain injury (TBI) from trauma controls and are elevated in mild and moderate TBI

patients with intracranial lesions and neurosurgical intervention // *The journal of trauma and acute care surgery.* — 2012. — V. 72. — №. 5. — P. 1335. doi: 10.1097%2FTA.0b013e3182491e3d.

30. Papa L., Edwards D., Ramia M. Exploring serum biomarkers for mild traumatic brain injury // *Brain neurotrauma: molecular, neuropsychological, and rehabilitation aspects.* — CRC Press/Taylor & Francis, 2015. doi: 10.1089%2Fneu.2013.3245
