

doi: 10.17116/jnevro20151158166-72

## Биомаркеры повреждения мозга при черепно-мозговой травме у детей

В.Г. ПИНЕЛИС<sup>1</sup>, Е.Г. СОРОКИНА<sup>1\*</sup>, Ж.Б. СЕМЕНОВА<sup>2</sup>, О.В. КАРАСЕВА<sup>2</sup>, С.В. МЕЩЕРЯКОВ<sup>2</sup>, Т.А. ЧЕРНЫШЕВА<sup>2</sup>, Е.Н. АРСЕНЬЕВА<sup>1</sup>, Л.М. РОШАЛЬ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научный центр здоровья детей», Москва; <sup>2</sup>ФГБУ «НИИ неотложной детской хирургии и травматологии» Департамента здравоохранения Москвы

### Biomarkers in children with traumatic brain injury

V.G. PINELIS, E.G. SOROKINA, J.B. SEMENOVA, O.V. KARASEVA, S.V. MESCHERYAKOV, T.A. CHERNISHEVA, E.N. ARSENEIEVA, L.M. ROSHAL

Research Center of Children Health, Moscow; Institute of Urgent Children Surgery and Traumatology, Moscow

**Цель исследования** — определение содержания биомаркеров, обладающих диагностической и прогностической значимостью в оценке тяжести повреждения мозга, у детей после черепно-мозговой травмы (ЧМТ). **Материал и методы.** У детей, перенесших ЧМТ различной тяжести и имеющих разные ее исходы, в сыворотке/плазме крови определено содержание глиального белка S100B, нейронспецифической энolahзы (NSE), аутоантител (aAT) к рецепторам глутамата, естественных антител (nAT) к S100B, а также мозгового нейротрофического фактора (BDNF). Все показатели определялись в динамике на 1—3, 7—8, 14—15 и 20—23-й дни после травмы, а в отдельных случаях тяжелой ЧМТ и длительного пребывания пациентов в стационаре также через 11—12 мес. Тяжесть ЧМТ оценивали в баллах по шкале комы Глазго, исход — по шкале исходов Глазго. **Результаты и заключение.** Показано, что содержание NSE и S100B увеличивалось сразу после травмы, независимо от тяжести ЧМТ, но в случаях благоприятного исхода снижалось до нормального уровня в течение первых 3 дней. Максимальный уровень белка S100B и NSE отмечался у детей с летальным исходом ЧМТ, при этом высокие значения указанных белков наблюдались на протяжении всего посттравматического периода. Низкий, приближающийся к контрольным значениям уровень aAT к NR2-подтипу рецепторов глутамата и высокий уровень nAT к S100B в 1-е сутки после тяжелой ЧМТ указывают на срыв компенсаторно-приспособительных иммунологических механизмов и высокую проницаемость гематоэнцефалического барьера, что является неблагоприятными прогностическими признаками для детей с тяжелой ЧМТ. Легкая ЧМТ, а также тяжелая с полным последующим восстановлением сопровождались более высокими значениями BDNF в 1-й день с последующим снижением к 3-му дню. При тяжелой ЧМТ с летальным исходом уровень BDNF в 1-й день после ЧМТ оказался наиболее низким и в последующем продолжал снижаться.

**Ключевые слова:** черепно-мозговая травма, белок S100B, нейронспецифическая энolahза (NSE), aAT к рецепторам глутамата, nAT к S100B, мозговой нейротрофический фактор (BDNF).

**Objective** — to study the content of biomarkers of diagnostic and prognostic value in the assessment of traumatic brain injury (TBI) severity in children. **Material and methods.** Authors determined the levels of glial protein S100B, neuronspecific enolase (NSE), autoantibodies (aAb) to glutamate receptors and natural autoantibodies (nAb) to S100B and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in serum/plasma of children with different outcomes of TBI. All parameters were analyzed in the 1—3<sup>rd</sup>, 7—8<sup>th</sup>, 14—15<sup>th</sup> and 20—23<sup>rd</sup> days after TBI, and, in some cases of severe brain injury and long stay patients in hospital, in 11—12 months after TBI. The severity and outcome of TBI were assessed according to the Glasgow coma scale (GCS) and the Glasgow outcome scale (GOS), respectively. **Results and conclusion.** The content of NSE and S100B increased immediately after TBI regardless of TBI severity, but in cases with favorable outcome it dropped to a normal level in the first 3 days. The maximum levels of S100B protein and NSE were observed in children with fatal TBI, and higher values were observed throughout the post-traumatic period. The low levels of aAb to NR2-subtype of glutamate receptors that were similar to controls and the high level of nAb to S100B in the first days after severe TBI indicate the failure of compensatory-adaptive immunological mechanisms and the high permeability of the brain-blood barrier, which were poor prognostic signs for children with severe TBI. Mild and severe TBI with full recovery were accompanied by higher values of BDNF in the 1<sup>st</sup> day followed by a decline to the 3<sup>rd</sup> day. The level of BDNF in the 1<sup>st</sup> day of TBI was the lowest and subsequently continued to decline in patients with severe TBI with fatal outcome.

**Keywords:** brain trauma, S100B, NSE, aAb to glutamate receptors, nAb to S100B, BDNF.

Увеличение детской смертности и рост числа инвалидов вследствие черепно-мозговой травмы (ЧМТ) являются важнейшими проблемами медицины, имеющими значимые социальные и экономические аспекты. Основная

причина этого кроется в массовости распространения ЧМТ и большом количестве неблагоприятных исходов, (высокий процент летальности и инвалидности), что требует длительного лечения и реабилитации [1—3]. ЧМТ

включают в себя широкий спектр повреждений: очаговые, диффузно-аксональные; внутричерепные кровоизлияния и развитие вторичных нарушений. Первичное повреждение, связанное непосредственно с воздействием механических факторов, запускает различные патофизиологические механизмы и инициирует множественные биохимические и иммунологические деструктивные процессы в нейронах и глии, в значительной степени обусловленные развитием гипоксии и усугубляющие тяжесть поражения мозга [4]. В результате формируется порочный круг, который может стать определяющим в исходе ЧМТ. Механизмы, по которым развивается гипоксическое повреждение мозга, реализуются в результате сложного каскада патофизиологических процессов, конечным исходом которых является гибель нейронов и глиальных клеток [5, 6].

В последние годы внимание исследователей, занимающихся патофизиологией посттравматического периода, привлекает регуляция работы нейроваскулярной единицы — структурно-функционального комплекса, обеспечивающего работу гематоэнцефалического барьера и скоординированную активность нейронов, глии и эндотелия церебральных сосудов. Основные изменения при травматическом повреждении мозга происходят именно на его уровне [7]. Необходимо также учитывать, что ЧМТ одновременно запускает два противоположно направленных процесса, причем не только острых, но и отдаленных — дегенеративно-деструктивный и регенеративно-репаративный [8]. В связи с этим чрезвычайную важность приобретает разработка новых комплексных подходов к прогнозированию тяжести течения посттравматического периода и исходов ЧМТ у детей. Она должна основываться на выборе таких биохимических маркеров повреждения и репарации мозга, которые могут отражать структурно-функциональные изменения ключевых мишеней повреждения при ЧМТ. Такими мишенями могут быть функционально значимые белки: нейронспецифическая эналаза (NSE) [9—15], глиальный белок S100B [9—11, 14—22], рецепторы глутамата (GluRc) [5, 23—27], мозговой нейротрофический фактор (BDNF) [28—31]. В настоящей работе были проанализированы полученные нами данные об изменениях содержания указанных биохимических биомаркеров в крови детей в динамике посттравматического периода ЧМТ.

Цель исследования — определение содержания данных биомаркеров, обладающих диагностической и прогностической значимостью в оценке тяжести повреждения мозга у детей при ЧМТ.

## Материал и методы

Были обследованы 177 детей с ЧМТ. Ее тяжесть оценивали в баллах по шкале комы Глазго (ШКГ): легкая — 13—15 баллов, средней тяжести — 9—12 баллов, тяжелая — 3—8 баллов. Согласно исходам ЧМТ по шкале исхода Глазго (ШИГ) все пациенты были разделены на группы: летальный исход (1-я группа); вегетативное состояние (2-я группа); тяжелая инвалидизация (3-я группа); инвалидизация средней тяжести (4-я группа) и полное восстановление (5-я группа). Дети, перенесшие легкую ЧМТ, как правило, выписывались из стационара с благоприятным исходом, т.е. в состоянии полного выздоровления.

В работе исследовали диагностическую значимость маркеров повреждения мозга: NSE, S100B, содержания

аутоантител (аАТ) к рецепторам глутамата (типы AMPA и NMDA), аАТ к S100B (обозначенные как нАТ — естественные АТ), а также BDNF. Все показатели определялись в динамике на 1—3, 6—8, 14—15 и 20—23-й дни после травмы, а в отдельных случаях тяжелой ЧМТ и длительного пребывания пациентов в стационаре — также через 11—12 мес.

Концентрацию NSE и белка S100B в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с помощью наборов фирмы «CanAg» (Швеция). В качестве нормальных величин использовали данные литературы [2, 9—11, 14—22], а также указанные фирмой-разработчиком нормы и наши собственные неопубликованные данные, полученные при обследовании детей без неврологической и другой патологии внутренних органов. Верхней границей нормы для NSE считали 13 мкг/л, для S100B — 0,090—0,125 мкг/л сыворотки крови. Содержание нАТ к белку S100B оценивали иммуноферментным методом, разработанным нами совместно с «ООО Герофарм»<sup>1</sup>. В качестве сорбента нАТ к S100B был использован химически модифицированный пептид, являющийся фрагментом человеческого белка S100B, состоящий из 15 аминокислотных остатков [32]. В качестве нормы нАТ использовали величины контрольных образцов («пулированный контроль», приготовленный из сыворотки крови здоровых людей). Содержание нАТ к S100B выражали в единицах оптической плотности (ЕОП) при  $\lambda=450$  нм или в процентах от контрольных величин, принимаемых за 100. Верхней границей нормальных величин считали 0,085 ЕОП. Уровень аАТ к субъединице GluR<sub>1</sub> AMPA-рецепторов и субъединице NR<sub>2A</sub> NMDA-рецепторов глутамата определяли с помощью метода, разработанного С.А. Дамбиновой и соавт. [24, 25]. Этот метод основан на иммуноферментном определении сорбированных антител на глутаматсвязывающих мембранных белках или синтетических пептидах, идентичных по аминокислотному составу концевым участкам GluR<sub>1</sub>- и NR<sub>2A</sub>-субъединицы рецепторов глутамата. Определение аАТ проводили в сыворотке крови, разбавленной в 50 раз фосфатно-солевым буферным раствором непосредственно перед проведением иммуноферментного анализа. Иммуноферментный анализ уровня аАТ проводили при комнатной температуре на иммунологических планшетах высокой сорбционной емкости Costar и Biohit. Оптическую плотность измеряли при длине волны 492 нм (для окрашивания использовали ортофенилендиамин, ОФД) и при 450 нм (тетраметилбензидин, ТМБ) на вертикальном спектрофотометре для иммунологических планшетов Униплан (Россия). Для расчета содержания аАТ из величин ЕОП каждого образца крови вычитали величину ЕОП лунок, не содержащих соответствующий глутаматсвязывающий пептид, и соотносили полученное значение с аналогично рассчитанной величиной у здоровых детей соответствующей возрастной группы (контроль). Соотношение выражали в процентах, принимая за 100 значение ЕОП соответствующей контрольной группы. У части детей с тяжелой ЧМТ количественное содержание аАТ к NR<sub>2</sub>-субъединице NMDA-рецепторов глутамата в сыворотке проводили с помощью

<sup>1</sup> Гранстрем О.К., Сорокина Е.Г., Пинелис В.Г. Модифицированный пептид и его использование для тестирования неврологических нарушений, онкологических заболеваний ЦНС и эффективности терапии. Патент РФ №2491291.

иммуноферментного набора реагентов GoldDot. В этих случаях верхней границей нормы считали величины, равные 2–3 нг/мл сыворотки.

Содержание BDNF определяли в плазме крови иммуноферментным методом (диагностические наборы R&G Systems). В связи с большим разбросом величин BDNF в сыворотке и плазме крови проводили сравнение со средними значениями BDNF (4,137 нг/мл).

Полученные данные были статистически обработаны с помощью пакета программ Graf Prizm.

### Результаты и обсуждение

Белок S100B является наиболее изученным маркером при нарушениях мозгового кровообращения и ЧМТ [9–11, 14–22]. Он синтезируется астроцитами в сером веществе мозга и олигодендроцитами в белом веществе [10, 18, 19]. Участие S100B в фосфорилировании белков обеспечивает внутриклеточную регуляцию передачи сигнала и таким образом поддерживает пластические процессы в ЦНС и Ca<sup>2+</sup>-гомеостаз [32]. Увеличение содержания S100B в крови обнаружено при ишемическом инсульте, ЧМТ, субарахноидальном кровоотечении, опухолях мозга, нейродегенеративных заболеваниях [9–11, 16–18, 20, 21, 32, 33]. В настоящее время этот маркер рассматривается как показатель целостности гематоэнцефалического барьера [15]. Мы изучили изменения в содержании S100B в крови у детей с различной степенью тяжести и различными исходами ЧМТ (табл. 1, рис. 1).

Анализ полученных данных показал, что уровень S100B повышался достоверно через 24 ч после ЧМТ независимо от ее тяжести. В дальнейшем (3–7-й дни) содержание S100B снижалось до контрольных величин или становилось ниже их. В случае полного восстановления неврологического статуса наблюдалось быстрое снижение концентрации S100B к 3-му дню после ЧМТ. Максималь-

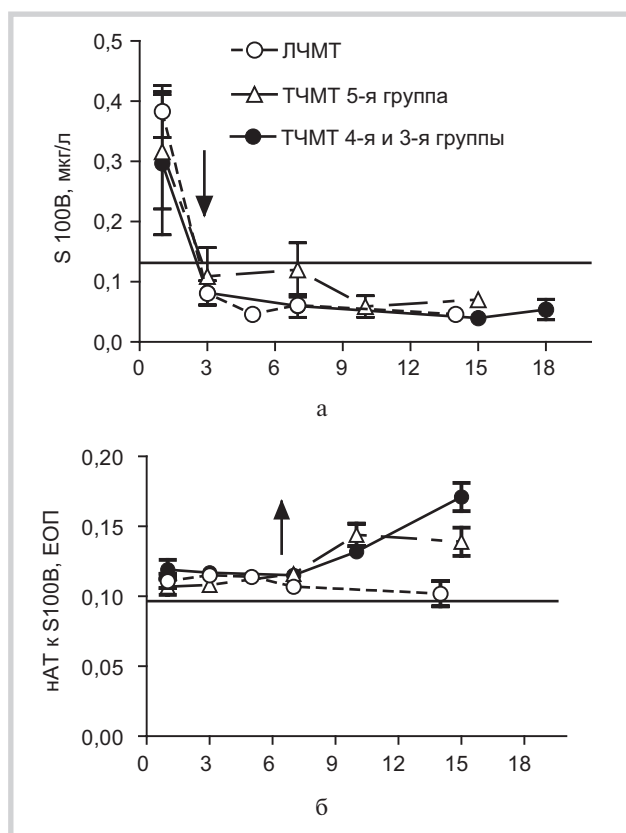


Рис. 1. Динамика содержания S100B белка (а) и НАТ к S100B (б) в сыворотке крови детей с легкой и тяжелой ЧМТ.

По оси абсцисс — дни после ЧМТ. Горизонтальная линия обозначает верхний уровень допустимых концентраций, стрелки: вниз — сроки нормализации содержания белка S100B, вверх — начало увеличения содержания НАТ к белку S100B в сыворотке крови. ЛЧМТ — легкая ЧМТ, ТЧМТ — тяжелая ЧМТ.

Таблица 1. Содержание белка S100B и NSE в сыворотке крови детей с различной степенью тяжести и исходами ЧМТ

Тяжесть ЧМТ	Исход ЧМТ по ШИГ	Дни после ЧМТ	S100B, мкг/л (M±m)	NSE, мкг/л (M±m)
Легкая	Выздоровление, 5-я группа (n=65)	1-й	0,38±0,04*	19,07±4,86*
		2–3-й	0,08±0,01	9,41±2,02
		5–7-й	0,05±0,01	5,71±0,57
		10–15-й	0,04±0,01	7,42±0,90
Тяжелая	Выздоровление, 5-я группа (n=7)	1-й	0,32±0,09*	24,11±8,7*
		2–3-й	0,11±0,05	5,35±0,60
		5–7-й	0,12±0,05	7,44±1,60
		10–15-й	0,06±0,01	6,90±1,50
	Инвалидизация, 3 и 4-я группы (n=14)	1-й	0,30±0,10*	26,0±7,70*
		2–3-й	0,08±0,02	6,30±0,62
		5–7-й	0,06±0,02	11,3±5,37
		10–15-й	0,04±0,01	7,43±1,03
Вегетативный статус, 2-я группа (n=5)	1-й	0,35±0,15*	28,4±21,2*	
	2–3-й	0,06±0,03	8,4±1,20	
	5–10-й	0,04±0,01	6,5±0,87	
	15–75-й	0,04±0,03	7,27±0,72	
Смерть, 1-я группа (n=8)	1-й	0,50±0,29*	25,0±10,0*	
	2–3-й	0,83±0,39*	39,0±17,0*	
	5–7-й	0,98±0,30*	42,9±17,0*	
	10–15-й	0,56±0,30*	23,0±10,0*	

Примечание. \* — значения достоверно превышают верхнюю границу нормы.

Таблица 2. Средние значения содержания белка S100B ( $M \pm m$ , мкг/л) в сыворотке крови у детей с легкой и тяжелой ЧМТ при изолированной и сочетанной травме

ЧМТ	Легкая ЧМТ	Тяжелая ЧМТ по ШИГ, группы				
		5-я	4-я	3-я	2-я	1-я
Изолированная	0,100±0,019 (n=34)	0,067±0,02 (n=7)	—	0,172±0,090 (n=11)	0,077±0,025 (n=8)	1,271±0,523 (n=8)
Сочетанная	0,198±0,076* (n=66)	0,136±0,043* (n=12)	0,132±0,043 (n=23)	0,252±0,136 (n=17)	0,138±0,050 (n=20)	1,575±0,507 (n=8)

Примечание. \* —  $p < 0,05$ , достоверная разница между сочетанной и изолированной ЧМТ.

но повышенный уровень S100B отмечался у детей с летальным исходом ЧМТ. Обращает внимание, что у больных с сочетанной ЧМТ содержание S100B было примерно в 2 раза выше, чем с изолированной (табл. 2). Это связано прежде всего с тем, что S100B может образовываться в адипоцитах-, хондроцитах-, лимфоцитах, костном мозге, что вносит вклад в сывороточный пул белка S100B при повреждении других тканей [2, 3, 18, 21]. Имеющиеся в литературе данные о роли этого белка и его диагностической значимости при ЧМТ у детей отличаются большой противоречивостью [20]. Так, например, было показано [21], что повышение содержания белка S100B в сыворотке крови лишь в 30% случаев соответствует данным КТ при ЧМТ у детей. Показано также [18], что у 48% детей с легкой ЧМТ без нарушения когнитивных функций в сыворотке крови наблюдалось увеличение концентрации S100B, что, скорее всего, свидетельствует об его участии в адаптационных процессах, развивающихся в ответ на стресс. Тем не менее многие авторы [10, 19, 20, 22] предполагают, что увеличенный уровень S100B в крови в 1-е сутки после ЧМТ может свидетельствовать о ее неблагоприятном исходе, что нашло подтверждение и в настоящей работе, так как наиболее высокий уровень белка S100B был обнаружен у больных с летальным исходом.

Таким образом, согласно представленным данным, белок S100B может быть предиктором неблагоприятных исходов ЧМТ у детей. Однако, как уже было отмечено выше, определение уровня белка S100B не указывает на его значимость при таких исходах тяжелой ЧМТ у детей, как тяжелая инвалидизация и вегетативный статус.

Учитывая значительный вклад аутоиммунного ответа в развитие патологических процессов при ЧМТ [7, 8, 34], мы предположили, что уровень нАТ к белку S100B может зависеть от тяжести повреждений мозга при ЧМТ. Исследование содержания нАТ к белку S100B в сыворотке крови детей, перенесших ЧМТ различной степени тяжести, было проведено нами в динамике при сопоставлении данных с концентрацией самого белка. Если уровень S100B у детей с ЧМТ снижался до контрольных величин и ниже уже к 3—5-му дню после ЧМТ и не зависел от тяжести повреждения мозга, то содержание нАТ к белку S100B, начиная с 6—7-го дня, увеличивалось пропорционально тяжести повреждения мозга (см. рис. 1). Причем чем тяжелее исход ЧМТ, тем больше подъем уровня нАТ к белку S100B. Обращает внимание, что если у больных при вегетативном статусе после ЧМТ уровень белка S100B был ниже нормы, то содержание нАТ к нему было достоверно повышено. Следовательно, у детей с ЧМТ необходимо определять не только содержание белка S100B, но и уровень нАТ к нему. Этот маркер отражает не только тяжесть ЧМТ, но и является предиктором ее неблагоприятных исходов.

NSE является димером цитоплазматического изофермента гликолитической эналазы, локализованной в центральных и периферических нейронах, а также нейроэндокринных клетках [12]. Измерения содержания NSE в сыворотке крови при ЧМТ выявили увеличение содержания этого белка [9, 10], причем имеются данные, что уровень NSE у детей с ЧМТ выше, чем у взрослых. Авторами указанных работ была высказана гипотеза, что у детей развивающийся мозг более чувствителен к гибели нейронов после ЧМТ, чем у перенесших травму мозга взрослых. Мы проанализировали полученные данные об изменениях уровня NSE у детей с ЧМТ (см. табл. 1). Как видно, аналогично динамике S100B через 24 ч после ЧМТ уровень этого фермента повышался, но к 3-му дню снижался до контрольного уровня. Степень повышения содержания NSE в сыворотке крови не во всех случаях коррелировала с тяжестью ЧМТ. Наибольшее увеличение концентрации NSE в посттравматическом периоде было обнаружено у умерших больных, что совпадает с данными А. Guzel и соавт. [13]. Таким образом, на основании полученных данных можно предположить, что крайне высокий уровень NSE является биомаркером только летальных исходов ЧМТ.

Как отмечалось выше, при ЧМТ наряду с первичным повреждением мозга в ответ на воздействие механических факторов развиваются вторичные повреждения, запускающие каскад патогенетических механизмов, приводящих в итоге к гибели нейронов в результате развития глутаматной эксайтотоксичности [4, 6]. В результате эксайтотоксичности происходит деградация ионотропных глутаматных рецепторов подтипов GluR1 (AMPA) и NR2 (NMDA) [23—25]. Пептидные фрагменты этих рецепторов проникают в общий кровоток из мозга, являющегося «забарьерным» органом для общей иммунной системы, и инициируют образование аАТ, содержание которых в крови увеличивается [23, 24, 26]. В цитируемых работах аАТ к рецепторам глутамата в основном определялись при инсультах и судорожных синдромах [5, 23, 26]. В настоящей работе, используя методические подходы, разработанные для указанных выше заболеваний, мы определили изменения в содержании двух типов аАТ — к GluR1 (AMPA)- и NR2 (NMDA)-подтипам глутаматного рецептора у детей с ЧМТ различной тяжести и различными исходами. Анализ данных показал, что в посттравматическом периоде в первые 10—15 дней происходит рост содержания аАТ во всех группах, при этом на протяжении всего периода наблюдения концентрация аАТ к NR2 (NMDA)-рецепторам была более высокой, чем к GluR1 (AMPA)-рецепторам глутамата (табл. 3). Результаты наших исследований подтверждаются данными, показывающими, что при эпилепсии в сыворотке крови отмечается повышенный уровень аАТ



Таблица 3. Содержание аАТ к рецепторам глутамата в сыворотке крови у детей с различной степенью тяжести ЧМТ (в % от контроля)

ЧМТ по степени тяжести	аАТ к AMPA(GluR1)-рецепторам			аАТ к NMDA(NR2A)-рецепторам		
	1—2 дня	4—5 дней	7—10 дней	1—2 дня	4—5 дней	7—10 дней
Легкая (n=48)	143±11*	161±7***	188±23***	173±11***	183±32**	272±42***
Тяжелая с благоприятным исходом (n=45)	139±9*	149±20*	163±11*	155±10**	164±8**	183±11***, ##
Тяжелая с неблагоприятным исходом (n=8)	118±19	129±14	134±26#	123±20##	133±15##	151±5**, ###

Примечание. \* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$ , \*\*\* —  $p < 0,001$  по сравнению с контрольной группой; # —  $p < 0,05$ , ## —  $p < 0,01$ , ### —  $p < 0,001$  по сравнению с легкой ЧМТ.

преимущественно к различным субъединицам AMPA-рецепторов [23], а при гипоксических/ишемических повреждениях мозга более выражено увеличение содержания аАТ к NR2-рецепторам [24, 25]. В то же время нами было показано, что низкий уровень содержания аАТ к рецепторам глутамата в 1-е сутки после тяжелой ЧМТ является прогностически неблагоприятным признаком. Так, в 1-й день после травмы мозга наименьший уровень аАТ к NR2 (NMDA)-рецепторам в сыворотке крови характерен для самой тяжелой группы детей — с летальными исходами после ЧМТ (рис. 2). Аналогичные данные были получены С.А. Дамбиновой и соавт. [24, 25] у больных с инсультом.

Анализ литературы и наши собственные данные позволяют предположить, что увеличение концентрации аАТ к антигенам рецепторов мозга может иметь двойственный характер. С одной стороны, это может быть реакцией на повреждение соответствующих структур мозга, с другой — аАТ способны выполнять защитные функции [5, 34, 35]. Выявленное увеличение уровня аАТ к NR2-рецепторам у больных с благоприятным течением может указывать на компенсаторный характер изменений, направленный на блокаду рецептора глутамата и снижение его гиперстимуляции. Антитела могут «прикрывать» поверхностные структуры нейронов от лигандов, разрушающих структуру рецепторов, или способствовать активации систем внутриклеточной сигнализации, связанных с развитием компенсаторно-приспособительных реакций [27, 34]. Так, имеются экспериментальные данные, свидетельствующие о способности аАТ к рецепторам глутамата оказывать защитное действие при инсульте и эпилепсии [35]. В отдаленные сроки после ЧМТ у больных с неблагоприятным исходом наблюдались повторный подъем и волнообразное значительное повышение их концентрации. На основании этого можно предположить, что чрезмерно высокий уровень аАТ к NR2-рецепторам в отдаленном посттравматическом периоде отражает длительную гипоксию мозга после тяжелой ЧМТ.

Проведенные нами ранее экспериментальные и клинические исследования показали, что в стимуляции продукции аАТ к глутаматным рецепторам существенную роль играет оксид азота (NO) [26, 36]. У детей с легкой ЧМТ уровень NO в сыворотке крови был выше, чем в контрольной группе, но значительно ниже, чем у детей с тяжелой ЧМТ. В группе детей с тяжелой ЧМТ уровень метаболитов NO в сыворотке крови в десятки раз превышал как контрольный уровень, так и содержание при легкой ЧМТ [26]. Наиболее высокий уровень продуктов метаболизма NO в сыворотке крови отмечался у детей с неблагоприятными исходами ЧМТ. Вероятно, накопление NO и его токсичных продуктов способствует вторичным повреждениям нейронов и значительному увеличению уровня аАТ к NR2-рецепторам. Эти данные являются доста-

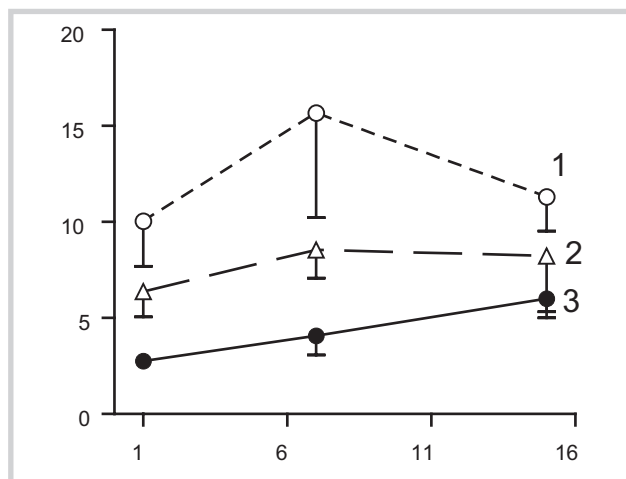


Рис. 2. Количественная оценка содержания аАТ к NR<sub>2</sub>-субъединице NMDA-рецепторов глутамата у детей с различными исходами тяжелой ЧМТ.

По оси абсцисс — дни после ЧМТ, по оси ординат: аАТ к NR2GluRc (нг/мл); исходы: 1 — выздоровление, 2 — инвалидизация, 3 — смерть.

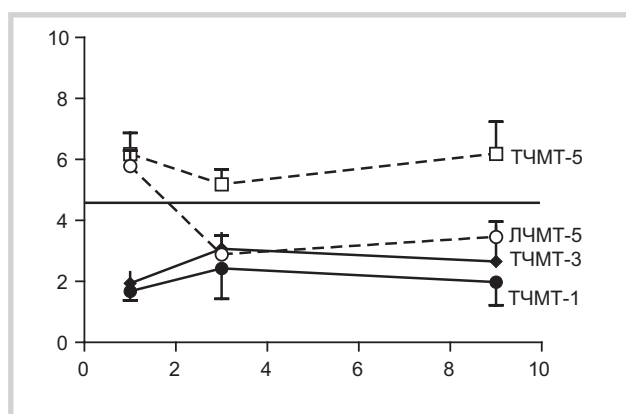


Рис. 3. Динамика содержания BDNF в плазме крови при различной тяжести и различных исходах ЧМТ у детей.

ЛЧМТ — легкая ЧМТ, ТЧМТ — тяжелая ЧМТ; исходы: 1 — смерть, 3 — тяжелая инвалидизация, 5 — выздоровление. По оси абсцисс — дни после ЧМТ, по оси ординат — BDNF, нг/мл плазмы.

точным обоснованием для проведения у таких больных активной антиоксидантной терапии.

Одним из осложнений ЧМТ, особенно у детей, является снижение когнитивных функций мозга в различные периоды после тяжелой травмы [17, 30]. Важную роль в этих процессах играет BDNF, являющийся эндогенно образующимся в мозге нейротрофином, который, блокируя апоптоз и усиливая нейрогенез, защищает мозг от по-

вреждений, в том числе при ЧМТ [30, 31, 37]. В настоящей работе мы изучили изменения уровня BDNF у детей с ЧМТ. Легкая ЧМТ, а также тяжелая ЧМТ с полным восстановлением сопровождались более высокими значениями BDNF в 1-й день с последующим снижением к 3-му дню (рис. 3). При тяжелой ЧМТ с летальным исходом уровень BDNF в 1-й день после ЧМТ оказался наиболее низким из всех групп и в последующем после небольшого подъема продолжал снижаться.

Таким образом, проведенные исследования посттравматической динамики выбранных нами показателей явились началом для формирования панели биомаркеров для оценки тяжести повреждений мозга и прогноза ЧМТ у детей. Эта панель включает определение содержания S100B, nAT к белку S100B, NSE, aAT к глутаматным рецепторам, уровень BDNF в крови. Полученные данные свидетельствуют, что выбранные маркеры лишь до определенной степени отражают тяжесть повреждений мозга и

имеют ограничения в использовании для прогноза исходов.

Наибольшей информативностью для прогнозирования летальных исходов ЧМТ обладают S100B, NSE и aAT к NR2-субъединице рецепторов глутамата, определение которых проводится в первые дни после ЧМТ. Определение содержания nAT к S100B через 3 дня после ЧМТ с большей достоверностью дает возможность оценить проницаемость гематоэнцефалического барьера и помогает в прогнозировании степени инвалидизации после ЧМТ.

Дальнейшие исследования изменений в содержании этих, а возможно и других биомаркеров, и сопоставление их изменений с данными КТ и МРТ необходимы для выявления маркеров с большей клинической значимостью в оценке тяжести повреждения мозга детей с ЧМТ.

Работа поддержана грантами РГНФ №12-06-00943 и №15-06-10952а.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Arent A, Felipe de Souza L, Walz R, Dafre A. Perspectives on Molecular Biomarkers of Oxidative Stress and Antioxidant Strategies in Traumatic Brain Injury. *Bio Med Research International*. 2014;Article ID 723060:1-18. doi: 10.1155/2014/723060.
2. Потапов А.А., Рошаль Л.М., Лихтерман Л.Б., Кравчук А.Д. Черепно-мозговая травма: проблемы и перспективы. *Вопросы нейрохирургии в Институте им. Н. Бурденко*. 2009;2:3-8.
3. Валиуллина С.А., Семенова Ж.Б., Шарова Е.А. Организационно-экономические и управленческие аспекты оказания медицинской помощи детям с черепно-мозговой травмой. *Российский педиатрический журнал*. 2010;25:37-48.
4. Algattas H, Jason H. Traumatic Brain Injury Pathophysiology and Treatments: Early, Intermediate, and Late Phases Post-Injury. *Int J Mol Sci*. 2014;15:309-341. doi: 10.3390/ijms15010309.
5. Пинелис В.Г., Сорокина Е.Г. Аутоиммунные механизмы модуляции активности глутаматных рецепторов у детей с эпилепсией и черепно-мозговой травмой. *Вестник РАМН*. 2008;12:44-51.
6. Stoica BA, Faden AI. Cell death mechanisms and modulation in traumatic brain injury. *Neurotherapeutics*. 2010;7:1:3-12. doi: 10.1016/j.nurt.2009.10.023.
7. Van Gilder RL, Rosen CL, Barr TL, Huber JD. Targeting the neurovascular unit for treatment of neurological disorders. *Pharmacology & Therapeutics*. 2011;130:239-247. doi: 10.1016/j.pharmthera.2010.12.004.
8. Ганнушкина И.В. *Иммунологические аспекты травмы и сосудистых поражений головного мозга*. М.: Медицина; 1974.
9. Bettermann K, Slocomb JE. Clinical relevance of biomarkers for traumatic brain injury. in *Biomarkers for Traumatic Brain Injury*, eds. Dambinova S., Hayes R.L., Wang K.K.W. Cambridge: *Royal Society of Chemistry*. 2012;1-18.
10. Berger R, Adelson P, Dulani T, Cassidy L, Kochanek P. Serum neuron-specific enolase, S100B, and myelin basic protein concentrations after inflicted and noninflicted traumatic brain injury in children. *J Neurosurg*. 2005;103:61-68. doi: 10.3171/ped.2005.103.1.0061.
11. Žurek J, Fedora M. The usefulness of S100B, NSE, GFAP, NF-H secretogin and Hsp70 as a predictive biomarker of outcome in children with traumatic brain injury. *Acta Neurochir*. 2012;154(1):93-103. doi: 10.1007/s00701-011-1175-2.
12. Kirino T, Brightman MW, Oertel WH, Schmechel DE, Marangos PJ. Neuron-specific enolase as an index of neuronal regeneration and reinnervation. *J Neurosci*. 1983;3:5:915-923.
13. Guzel A, Er U, Tatli M, Aluclu U, Ozkan U, Durenli Y, Satici O, Guzel E, Kemalolu S, Ceviz A, Kaplan A. Serum neuronspecific enolase as a predictor of short-term outcome and its correlation with Glasgow Coma Scale in traumatic brain injury. *Neurosurg Rev*. 2008;31(4):439-444. doi: 10.1007/s10143-008-0148-2.
14. Berger RP, Adelson PD, Pierce MC, Dulani T, Cassidy LD, Kochanek PM. Serum neuron-specific enolase, S100B, and myelin basic protein concentrations after inflicted and noninflicted traumatic brain injury in children. *J Neurosurg*. 2005;103(1 suppl):61-68. doi: 10.3171/ped.2005.103.1.0061.
15. Blyth BJ, Farhavar A, Gee C, Hawthorn B, He H, Nayak A, Stöcklein V, Bazarian JJ. Validation of serum markers for blood-brain barrier disruption in traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2009;26:9:1497-1507. doi: 10.1089/neu.2008.0738.
16. Papa L, Robinson G, Oli M, Pineda J, Demery J, Brophy G, Robicsek SA, Gabrielli A, Robertson CS, Wang KK, Hayes RL. Use of biomarkers for diagnosis and management of traumatic brain injury patients. *Expert Opin Med Diagn*. 2008;2:937-945. doi: 10.1517/175300592.8.937.
17. De Boussard CNA, Karlstedt D, Edman G, Bartfai A, Borg J. S100 and cognitive impairment after mild traumatic brain injury. *J Rehabil Med*. 2005;37:53-57. doi: 10.1080/16501970410015587.
18. Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Biochem Cell Biol*. 2001;33:637-668. doi: 10.1016/s1357-2725(01)00046-2.
19. Muller K, Townend W, Biasca N, Uden J, Waterlook K, Rommer B, Ingebrigsten T. S100B serum level predicts computed tomography findings after minor head injury. *J Trauma*. 2007;62:6:1452-1456. doi: 10.1097/ta.0b013e318047bfaa.
20. Sandler SJ, Figaji AA, Adelson PD. Clinical applications of biomarkers in pediatric traumatic brain injury. *Childs Nerv Syst*. 2010; 26: 2: 205-213. doi: 10.1007/s00381-009-1009-1.
21. Sedaghat F, Notopoulos A. S100 protein family and its application in clinical practice. *Hippocrates*. 2008;12:4:198-204.
22. Rothermundt M, Peters M, Prehn JHM, Arolt V. S100B in brain damage and neurodegeneration. *Microsc Res Tech*. 2003;60:614-632. doi: 10.1002/jemt.10303.
23. Дамбинова С.А., Изыкенова Г.А. Аутоантитела к подтипам глутаматных рецепторов — маркеры функционального поражения головного мозга: их диагностическое значение для выявления пароксизмальной активности и ишемии. *Журнал высшей нервной деятельности*. 1997;47:439-446.
24. Dambinova SA, Khounteev GA, Izykenova GA, Zavolokov IG, Ilyukhina AY, Skoromets AA. Blood test detecting autoantibodies to N-methyl-D-

- aspartate neuroreceptors for evaluation of patients with transient ischemic attack and stroke. *Clin Chem*. 2003;49:10:1752-1762.  
doi: 10.1373/49.10.1752.
25. Dambinova SA, Khounteev GA, Skoromets AA. Multiple Panel of Biomarkers for TIA/Stroke Evaluation. *Stroke*. 2002;33:1181-1182.  
doi: 10.1161/01.str.0000014922.83673.86.
  26. Сорокина Е.Г., Реутов В.П., Гранстрем О.К., Косицын Н.С., Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Кошелев В.Б., Фадюкова О.Е., Дамбинова С.А., Пинелис В.Г. Изучение механизмов образования аутоантител при эпилепсии и гипоксии. *Нейроиммунология*. 2003; 1: 2: 137-138.
  27. Сорокина Е.Г., Семенова Ж.Б., Базарная Н.А., Мещеряков С.В., Реутов В.П., Горюнова А.В., Пинелис В.Г., Рошаль Л.М. Аутоантитела к рецепторам глутамата и продукты метаболизма оксида азота в сыворотке крови детей в остром периоде черепно-мозговой травмы. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2008;12:44-51.
  28. Chiaretti A, Piastra M, Polidori G, Di Rocco C, Caresta E, Antonelli A, Amendola T, Aloe L Correlation between neurotrophic factor expression and outcome of children with severe traumatic brain injury. *Intensive Care Med*. 2003;29:1329-1338.  
doi: 10.1007/s00134-003-1852-6.
  29. Chen A, Xiong Li-Jing, Tong Y, Mao M. The neuroprotective roles of BDNF in hypoxic ischemic brain injury. *Biomed Rep*. 2013;1:2:167-176.  
doi: 10.3892/br.2012.48.
  30. Griesbach GS, Sutton RL, Hovda DA, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Controlled contusion injury alters molecular systems associated with cognitive performance. *J Neurosci Res*. 2009;87:795-805.  
doi: 10.1002/jnr.21893.
  31. Kaplan G, Vasterling JJ, Vedak PC. Brain-derived neurotrophic factor in traumatic brain injury, post-traumatic stress disorder, and their comorbid conditions: role in pathogenesis and treatment. *Behavioral Pharmacology*. 2010;21:427-437.  
doi: 10.1097/fbp.0b013e32833d8bc9.
  32. Hu J, Ferreira A, Van Eldik L. S100 $\beta$  induces neuronal cell death through nitric oxide release from astrocytes. *J of Neurochem*. 1997;69:2294-2301.  
doi: 10.1046/j.1471-4159.1997.69062294.x.
  33. Shen Y, Liu XB, Pleasure DE, Deng W. Axon-glia synapses are highly vulnerable to white matter injury in the developing brain. *Journal of Neuroscience Research*. 2012;90:105-121.  
doi: 10.1002/jnr.22722.
  34. Archelos JJ, Hartung H-P. Pathogenic role of autoantibodies in neurological diseases. *Trends Neurosci*. 2000;23:317-327.  
doi: 10.1016/s0166-2236(00)01575-7.
  35. During MJ, Symes CW, Lawlor PA, Lin J, Dunning J, Fitzsimons HL, Poulsen D, Leone P, Xu R, Dicker BL, Lipski J, Young D. An oral vaccine against NMDAR1 with efficacy in experimental stroke and epilepsy. *Science*. 2000;287:1453-1460.  
doi: 10.1126/science.287.5457.1453.
  36. Сорокина Е.Г., Реутов В.П., Гранстрем О.К., Фадюкова О.Е., Обрезчикова М.Н., Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Кошелев В.Б., Дамбинова С.А., Пинелис В.Г. Возможная роль оксида азота в повреждении глутаматных рецепторов при эпилепсии. *Вести национальной академии наук Беларуси (Серия медико-биологических наук)*. 2002;1:18-22.
  37. Schober ME, Block B, Requena DF, Hale MA, Lane RH. Developmental traumatic brain injury decreased brain derived neurotrophic factor expression late after injury. *Metab Brain Dis*. 2012;27:2:167-173.  
doi: 10.1007/s11011-012-9309-7.