

М.М. Дуйсебеков

СОДЕРЖАНИЕ НЕЙРОНСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЕНОЛАЗЫ И ЦИЛИАРНОГО НЕЙТРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА У БОЛЬНЫХ С УШИБОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА

ФГУ «321 военный клинический госпиталь Минобороны России», Чита

Aim was to study the concentrations of neuron specific enolase and ciliary neurotrophic factor at patients with an average and heavy degree of brain contusion during the various periods of a trauma. 24 patients with average and 18 - with a heavy trauma of a brain are examined. Markers concentrations detected by immunoenzyme assay method. Researches spent in 1, 7 and 14 day after trauma. It is established, that in the early period of contusion the level of neuron specific enolase in blood raised. An patients with average degree of contusion the enzyme maximal concentration detected for 7 day with the subsequent decrease by 14 day after a trauma. At patients with severe brain contusion the maintenance of neuron specific enolase as much as possible accrues by 7-th day and keeps high values for 14 day after a craniocerebral trauma. At patients with average degree of brain contusion the maximal level of ciliary neurotrophic factor concentration observed for 7 day. At patients with severe brain trauma the content of ciliary neurotrophic factor lower than a level of healthy people and reached the greatest values for 14 day of supervision. Simultaneous definition of concentration of neuron specific enolase and ciliary neurotrophic factor during various periods of brain injury can specify weight of damages of brain and predict an outcome of a trauma.

Key words: craniocerebral trauma, brain contusion, neuron specific enolase, ciliary neurotrophic factor.

Введение

У больных с черепно-мозговой травмой (ЧМТ) развиваются одновременно деструктивные и репаративные процессы в центральной нервной системе, вовлекающие нейроны и глию. Маркерами этих процессов могут выступать различные молекулы, включающие цитокины, ростковые факторы и др.[1]. Гликолитический фермент - нейрон-специфическая енолаза (NSE) присутствует в нейронах мозга и периферической нервной ткани и ее повышение в крови может указывать на нарушение гематоэнцефалического барьера в результате травмы и разрушение нервной ткани [7, 12, 13]. Наряду с ним цилиарный нейротрофический фактор (CNTF) проявляет свойства росткового фактора, способствующего нейрональной и глиальной дифференцировке. Повышение уровня этого соединения в крови или ликворе свидетельствует о выраженности деструкции мозговой ткани, поскольку молекулы CNTF являются внутриклеточными молекулами [8, 11]. Исследование содержания NSE и CNTF у пациентов с черепно-мозговой травмой позволит оценить степень повреждения нервной ткани и предположить прогноз течения заболевания [6].

Цель исследования

Определить концентрации NSE и CNTF у пациентов со средней и тяжелой степенью ушиба головного мозга в различные периоды травмы.

Материалы и методы

Обследовано 42 человека мужского пола в возрасте 19—40 лет с ушибом головного мозга, находящихся на лечении в ФГУ «321 ВКГ Минобороны России». Из них у 24 пациентов диагностирована травма средней степени тяжести и у 18 лиц - тяжелой. Контрольную группу составили 35 здоровых людей в возрасте 18-40 лет.

По отношению к обследованным лицам соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, 2000) и Правилами клинической практики в Российской Федерации, утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06. 2003 г., № 266.

Формулировка диагноза проводилась на основании единой междисциплинарной классификации острой ЧМТ [3-5].

Для исследований забирали венозную кровь, стабилизированную гепарином. Забор крови производился 1-е сутки, 7-е сутки и 14 сутки после получения травмы.

Определение концентрации нейронспецифической енолазы проводили методом твердофазного ИФА с применением наборов реактивов «CanAg diagnostics») (Германия). Содержание CNTF определяли методом твердофазного ИФА с помощью реактивов «Quantikine R&D systems») (Вел и кобритания).

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием лицензированных пакетов прикладных программ «Statistica 5.0» и «Microsoft Excel 7.0» на PC Pentium-IV. Для сравнения средних значений различных выборок,

подчиняющихся нормальному распределению, применяли критерий Стьюдента, t-тест. Различия сравниваемых показателей считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что уже в первые сутки после ушиба головного мозга у пациентов в крови выявлялось повышение содержания NSE (Табл. №1). Так при травме средней степени тяжести ее концентрация возросла до $18,24 \pm 3,61$ нг/мл, а при тяжелой - до $27,47 \pm 2,88$ нг/мл, тогда как у здоровых лиц она составляла $11,42 \pm 2,18$ пкг/мл ($p_1 < 0,05$, $P_1 < 0,001$ соответственно). К 7-м суткам уровень фермента существенно поднялся и достиг $45,83 \pm 4,65$ нг/мл при ушибе средней степени тяжести и $55,42 \pm 4,90$ нг/мл при тяжелой травме ($p, < 0,001$, $p_2 < 0,001$).

На 14 сутки наблюдения динамика показателей NSE у пациентов отличалась в зависимости от тяжести травмы. При ушибе средней степени концентрация NSE несколько снизилась и составила $32,16 \pm 4,22$ нг/мл, отличаясь от показателей 1-х и 7-х суток травмы ($p_2 < 0,05$, $p_3 < 0,05$). В этот период у больных с тяжелым ушибом головного мозга содержание NSE достигло максимальных значений - $64,15 \pm 5,38$ нг/мл ($p_2 < 0,001$, $p_3 > 0,05$).

В первые сутки наблюдения мы не обнаружили значимых отличий содержания CNTF

между группой больных ушибом головного мозга средней степени тяжести и здоровыми лицами $4,65 \pm 0,71$ пкг/мл и $5,32 \pm 0,82$ пкг/мл соответственно ($p_1 > 0,05$) (табл. 1). Однако на 7-е сутки наблюдения у таких пациентов обнаружен существенный подъем концентрации CNTF до $18,38 \pm 4,84$ пкг/мл ($p_1 < 0,01$). К 14 суткам у травмированных лиц уровень CNTF хотя и снизился, но его значения оказались выше, чем в 1-е сутки наблюдения - $12,16 \pm 2,96$ пкг/мл ($p_1 < 0,01$).

У больных с тяжелым ушибом головного мозга мы отметили иную динамику содержания CNTF. Так, в первые сутки наблюдения у них концентрация фактора резко снижается до $0,96 \pm 0,22$ пкг/мл, в то время как у здоровых его значения составляли $5,32 \pm 0,82$ пкг/мл ($p_1 < 0,001$). На 7-е сутки у этих пациентов показатель CNTF увеличился до $7,32 \pm 1,16$ пкг/мл ($p_2 < 0,001$), а на 14 сутки - $11,92 \pm 2,27$ пкг/мл ($p_2 < 0,001$). Таким образом, при тяжелом ушибе головного мозга у пациентов в первые сутки заметно уменьшается содержание CNTF по сравнению с больными, у которых диагностирован ушиб средней степени и со здоровыми лицами. У людей с травмой средней степени тяжести максимальный подъем концентрации выявляется на 7-е сутки, тогда как при тяжелом повреждении - на 14 сутки и, вероятно, с последующим нарастанием в восстановительный период.

Таблица 1.

Содержание NSE и CNTF у здоровых и больных с ушибом головного, ($M \pm m$)

Наблюдаемые группы	N	NSE, нг/мл	CNTF, пкг/мл
Здоровые	35	$11,42 \pm 2,18$	$5,32 \pm 0,82$
Больные со средней степенью ушиба головного мозга			
1-е сутки	24	$18,24 \pm 3,61$ $p_1 < 0,05$	$4,65 \pm 0,71$ $p_1 > 0,05$
7-е сутки	24	$45,83 \pm 4,65$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$18,38 \pm 4,84$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$
14-е сутки	24	$32,16 \pm 4,22$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	$12,16 \pm 2,96$ $p_1 < 0,01$ $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$
Больные с тяжелой степенью ушиба головного мозга			
1-е сутки	18	$27,47 \pm 2,88$ $p_1 < 0,001$	$0,96 \pm 0,22$ $p_1 < 0,001$
7-е сутки	18	$55,42 \pm 4,90$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$7,32 \pm 1,16$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$
14-е сутки	18	$64,15 \pm 5,38$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,05$	$11,92 \pm 2,27$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$ $p_3 > 0,05$

Примечание: p_1 – различия по сравнению со здоровыми лицами, p_2 – различия по сравнению с 1-ми сутками, p_3 – различия по сравнению с 7-ми сутками.

Увеличение содержания NSE и CNTF в патогенезе ушиба головного мозга можно расценить как реакцию на повреждение клеток ЦНС с развитием воспалительного процесса, продукцией провоспалительных цитокинов и повышением проницаемости гематоэнцефалического барьера [2]. При этом уровень NSE у таких пациентов зависит от степени тяжести травмы и времени после ее нанесения. Более высокая концентрация фермента наблюдалась у лиц с тяжелой травмой и сохранялась на протяжении и двух недель наблюдения. У пациентов со среднетяжелым ушибом головного мозга в это время уровень NSE снижался, что, вероятно в будущем и определяло наступление более раннего восстановительного периода [10, 13].

Уменьшение содержания CNTF у больных с тяжелым ушибом головного мозга, вероятно, связано с несколькими причинами. Во-первых, в первые сутки после травмы возможно повышение экспрессии клеточных рецепторов к CNTF и одновременным увеличением растворимой формы рецептора, связывающего этот лиганд, что может влиять на его определение в пробе. Важным обстоятельством снижения содержания росткового фактора выступает подъем концентрации провоспалительных цитокинов. В последнее время показано, что в ранний период после нанесения черепно-мозговой травмы у крыс редко повышается уровень ИЛ-1(3 и одновременно падает содержание CNTF [9]. Эта цитокиновая понижающая регуляция уменьшается при увеличении концентрации растворимого рецептора ИЛ-1(3. Более того, на фоне дефицита ИЛ-1(3 усиливается продукция CNTF. Не исключено, что такая динамика уровня цилиарного нейротрофического фактора обуславливает более позднее наступление у больных с тяжелым

ушибом головного мозга восстановительного периода, при котором ему отводится одна из главных ролей. Известно, что CNTF представляет собой полипептид, который относится к ограниченному семейству нейропозитических цитокинов. Независимо от механизма секреции CNTF рассматривается как ключевой фактор дифференцировки для развивающихся нейронов и глиальных клеток. Внутриклеточное существование CNTF позволяет предположить, что этот фактор, ассоциированный с повреждением, является молекулой, обеспечивающей трофику и поддержку нейронов после повреждения [8, 9].

Таким образом, одновременное определение концентраций нейронспецифической енолазы и цилиарного нейротрофического фактора в различные периоды ЧМТ может уточнить тяжесть повреждений ЦНС и, тем самым, прогнозировать исход травмы.

Выводы

При ушибе головного мозга в раннем периоде в крови больных повышается уровень NSE. При ушибе средней степени тяжести концентрация фермента достигает максимальных значений на 7-е сутки с последующим снижением к 14 суткам после травмы. При тяжелом ушибе головного мозга содержание NSE максимально нарастает к 7-м суткам и сохраняет высокие значения на 14-е сутки после ЧМТ.

У больных с ушибом головного мозга средней степени тяжести максимальный подъем концентрации CNTF выявляется на 7-е сутки. При тяжелом ушибе головного мозга у пациентов в первые сутки падает содержание CNTF ниже уровня здоровых людей и достигает наибольших значений на 14 сутки наблюдения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акмаев, И.Г. Современные представления о взаимодействиях регулирующих систем: нервной, эндокринной и иммунной // Успехи физиол. наук. - 1996.-№ 1.-С. 3-20.
2. Дуйсебеков, М.М. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия, цитокины и экспрессия тканевого фактора моноцитами периферической крови у больных с тяжелым ушибом головного мозга / М.М. Дуйсебеков [и др.] // Вестник Российской Военно-медицинской академии. - 2008. - № 1 (20).-С. 277-280.
3. Клиническое руководство по черепно-мозговой травме Т. 1. / под ред. А.Н. Коновалова, Л.Б. Лихтермана, А.А. Потапова // М, Антидор. -1998.-550 с.
4. Клиническое руководство по черепно-мозговой травме Т. 3. / под ред. А.Н. Коновалова, Л.Б. Лихтермана, А.А. Потапова // М, Антидор. -2002.-632 с.
5. Коновалов, А.Н. К единой междисциплинарной классификации черепно-мозговой травмы / А.Н. Коновалов, Б.А. Самотокин, А.Р. Шахнович // Журнал невропатологии и психиатрии - 1985. - №5. - С. 651-658.
6. Chiaretti, A. NGF, DCX, and NSE upregulation correlates with severity and outcome of head trauma in children /A. Chiaretti [и др.] // Neurology. -2009. - vol. 17;72(7). - P. 609-616.
7. Hergenroeder, G.W. Biomarkers in the clinical diagnosis and management of traumatic brain injury /G.W. Hergenroeder [и др.] // Mol. Diagn. Ther. -2008.-vol. 12(6).- P. 345-358.
8. Herx, L.M. Central nervous system-initiated inflammation and neurotrophism in trauma: 1L-1 beta is required for the production of ciliary neurotrophic factor / L.M. Herx, S. Rivest, V.W.

- Yong // J. Immunol. -2000. - vol. 15. - № 165(4). - P. 2232-2239.
9. Houle, J.D. Changes occur in the ability to promote axonal regeneration as the post-injury period increases / J.D. Houle, J.H. Ye // Neuroreport. -1997. - vol. 10. -№ 8(3). - P. 751-755.
 10. Kovcsdi, E. Update on protein biomarkers in traumatic brain injury with emphasis on clinical use in adults and pediatrics / E. Kovcsdi [и др.] // Acta Neurochir. (Wien). - 2010. -vol. 152(1). - P. 1-17.
 11. Oyesiku, N.M. Regional changes in the expression of neurotrophic factors and their receptors following acute traumatic brain injury in the adult rat brain / N.M. Oyesiku [и др.] // Brain Res. - 1999. - vol. 3. - № 833(2). -P. 161-172.
 12. Sandler, S.J. Clinical applications of biomarkers in pediatric traumatic brain injury / S.J. Sandler, A.A. Figaji, P.D. Adelson // Childs Nerv. Syst. - 2010. - vol. 26(2).- P. 205-213.
 13. Siman, R. A panel of neuron-enriched proteins as markers for traumatic brain injury in humans / R. Siman [и др.] // J. Neurotrauma. - 2009. - vol. 26(11).-P. 1867-1877.

ТҰЖЫРЫМ

Зерттеудің мақсаты, орта және ауыр дәрежелі бас миының соғылуы бар науқастардағы жарақаттың түрлі кезеңдерінде нейроспецификалық енолаза мен цилиарлы нейротрофикалық фактордың концентрациясын анықтау болып табылады. 24 орта ауырлықтағы және 18 ауыр дәрежелі бас миының соғылуы бар науқастар зерттелді. Маркерлардың концентрациясын қатты фазалық иммуноферментті әдіспен анықтадық. Зерттеуді жарақат алғаннан кейінгі 1-ші, 7-ші және 14-ші тәуліктерде жүргіздік. Зерттеу барысында, бас миының соғылуының ерте кезеңінде науқастардың қанында нейроспецификалық енолазаның деңгейінің жоғарылайтыны анықталды. Орта дәрежелі бас миының соғылуы кезінде ферменттің ең жоғарғы концентрациясы жарақаттан кейінгі 7-ші тәулікте байқалып, 14-ші тәулікке дейін біртіндеп төмендеді. Ал, ауыр дәрежелі бас миының соғылуы кезінде, нейроспецификалық енолазаның концентрациясы жарақаттан кейінгі 7-ші тәулікте

ең жоғарғы шегіне жетеді де, 14-ші тәулікке дейін сақталып тұрады. Орта ауырлық дәрежесіндегі бас миының соғылуы бар науқастарда цилиарлы нейротрофикалық фактордың ең жоғарғы концентрациясы 7-ші тәулікте анықталады. Ауыр дәрежелі бас миының соғылуы бар науқастарда жарақаттың алғашқы тәулігінде цилиарлы нейротрофикалық фактордың қалыпты деңгейден төмендеуі байқалады, ал бақылаудың 14-ші тәулігінде, қандағы концентрациясы жоғары деңгейге жетеді. Бассүйек-бас миы жарақатының түрлі кезеңдерінде нейроспецификалық енолаза мен цилиарлы нейротрофикалық фактордың концентрацияларын бірге анықтау, ОЖЖ-нің жарақатының ауырлық дәрежесін нақтылауға және жарақат салдарын болжамдауға мүмкіндік береді.

Негізгі сөздер: Бассүйек-бас миы жарақаты, бас миының соғылуы, нейроспецификалық енолаза, цилиарлы нейротрофикалық фактор.

РЕЗЮМЕ

Целью исследования явилось определение концентрации нейронспецифической енолазы и цилиарного нейротрофического фактора у пациентов со средней и тяжелой степенью ушиба головного мозга в различные периоды травмы. Обследовано 24 пациента со среднетяжелой и 18 - с тяжелой травмой головного мозга. Определение концентрации маркеров осуществляли твердофазным иммуноферментным методом. Исследования проводили в 1-е, 7-е и 14 сутки после получения травмы. Установлено, что при ушибе головного мозга в раннем периоде в крови больных повышается уровень нейронспецифической енолазы. При ушибе средней степени тяжести концентрация фермента достигает максимальных значений на 7-е сутки с последующим снижением к 14 суткам после травмы. При тяжелом ушибе головного мозга содержание нейронспецифической енолазы

максимально нарастает к 7-м суткам и сохраняет высокие значения на 14-е сутки после черепно-мозговой травмы. У больных с ушибом головного мозга средней степени тяжести максимальный подъем концентрации цилиарного нейротрофического фактора выявляется на 7-е сутки. При тяжелом ушибе головного мозга у пациентов в первые сутки падает содержание цилиарного нейротрофического фактора ниже уровня здоровых людей и достигает наибольших значений на 14 сутки наблюдения. Одновременное определение концентраций нейронспецифической енолазы и цилиарного нейротрофического фактора в различные периоды ЧМТ может уточнить тяжесть повреждений ЦНС и, тем самым, прогнозировать исход травмы.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, ушиб головного мозга, цилиарный нейротрофический фактор, нейронспецифическая енолаза.