ISSN 1998-4235 (Print) • ISSN 2522-1183 (Online)
Український неврологічний журнал.— 2019.— № 1.— С. 17—20.
DOI: https://doi.org/10.30978/UNJ2019-1-17
УДК 616-009.8:612.822.56

Є. В. ЛЕКОМЦЕВА

ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України», Харків

Вміст тау-протеїну в сироватці крові хворих з віддаленими наслідками легкої закритої черепно-мозкової травми

Мета — вивчити вміст τ-протеїну в сироватці крові хворих з віддаленими наслідками легкої закритої черепно-мозкової травми (ЗЧМТ).

Матеріали і методи. Обстежено 47 пацієнтів (14 (29,78 %) жінок та 33 (70,22 %) чоловіки віком від 22 до 53 років, середній вік — (47,22 ± 6,41) року) з віддаленими наслідками легкої ЗЧМТ. Вміст τ-протеїну в сироватці крові визначали імунофлуоресцентним методом з використання первинних та вторинних моноклональних мишачих антитіл (Sigma) з наступним вимірюванням флуоресцентного свічення за допомогою імунофлуоресцентного мікроскопа Olympus BX41 (Японія). Отримані дані порівнювали з показниками групи здорового (n = 30, середній вік — (27,50 ± 8,33) року) та неврологічного (пацієнти з парціальною епілепсією, n = 58, середній вік — (38,62 ± 9,43) року) контролю.

Результати. Установлено, що перебіг віддалених наслідків у хворих, котрі зазнали забій головного мозку легкого ступеня тяжкості (38,29 %), супроводжується зростанням ($p < 0,05$) у сироватці крові вмісту τ-протеїну ((0,97 ± 0,01) одиниць оптичної густини, в групі здорового контролю — (0,061 ± 0,020) одиниць оптичної густини, у групі неврологічного контролю — (0,374 ± 0,270) одиниць оптичної густини) — маркеру аксонального пошкодження, що має важливе клініко-патогенетичне і прогностичне значення у формуванні та перебігу віддалених наслідків ЗЧМТ та має бути враховане у подальшому лікуванні таких хворих. Клініко-неврологічне обстеження хворих з віддаленими наслідками ЗЧМТ виявило наявність розсіяної неврологічної симптоматики, що вказує на ураження мезенцефальних і стовбурових структур головного мозку.

Висновки. Формування та перебіг віддалених наслідків легкої ЗЧМТ супроводжуються аксональним пошкодженням головного мозку, що виявляється зростанням у сироватці крові рівня τ-протеїну.

Ключові слова: віддалені наслідки легкої закритої черепно-мозкової травми, забій головного мозку легкого ступеня тяжкості, τ-протеїн.

У сучасній клінічній практиці неврологів та нейрохірургів одним з найпоширеніших видів травматизму є черепно-мозкова травма. Незважаючи на велику кількість робіт вітчизняних та зарубіжних дослідників у цій галузі, багато питань діагностики і патогенезу мало вивчено [7, 16].

Одним з найважливіших завдань сучасної української неврології є підвищення якості надання медичної допомоги хворим з віддаленими наслідками закритої черепно-мозкової травми (ЗЧМТ) на рівні міжнародних стандартів. Соціальна значущість проблеми зростає у зв'язку зі збільшенням захворюваності серед осіб працездатного віку [1, 3].

Різні типи перебігу віддалених наслідків ЗЧМТ супроводжуються різноманітною неврологічною симптоматикою [5, 6, 8], яка часто не відповідає типу перебігу захворювання, тому визначення в сироватці крові вмісту біомаркерів ураження аксональних мембран дасть змогу вирішити питання адекватної та своєчасної діагностики різних типів перебігу ЗЧМТ, знизити частоту інвалідизації цієї категорії хворих та призначити якомога раніше патогенетично обґрунтоване лікування.

Стаття надійшла до редакції 2 грудня 2018 р.

Лекомцева Євгенія Володимирівна, к. мед. н., пров. наук. співр., лікар-невропатолог
61068, м. Харків, вул. Академіка Павлова, 46
E-mail: yevgeniyaLekomtseva@gmail.com

Тепловий білок, який є необхідним для формування мікротрубочок цитоскелета, нейронів та аксонів, має назву «τ-протеїн» [15]. Він регулює формування та стабілізацію мікротрубочок аксонів, слугує для проведення інформації. Унікальною є можливість τ-протеїну відновлювати мікротрубочкову агрегацію *in vitro* [9, 10, 13, 14].

Проблема діагностики ЗЧМТ з використанням автоантитіл та специфічних біомаркерів для мембран нейронів і аксонів активно розробляється дослідниками [4, 9, 11, 12]. Значну увагу приділяють визначенню у ліквoрі або сироватці крові рівня τ-протеїну.

Мета роботи — вивчити вміст τ-протеїну в сироватці крові хворих з віддаленими наслідками легкої закритої черепно-мозкової травм та його вплив на формування неврологічних виявів.

Матеріали і методи

Обстежено 47 хворих (14 (29,78 %) жінок та 33 (70,22 %) чоловіка віком від 22 до 53 років, середній вік — (47,22 ± 6,41) року) з віддаленими наслідками легкої ЗЧМТ, які проходили курс лікування в Інституті неврології, психіатрії та наркології НАМН України. Середній вік захворювання становив (1,30 ± 0,78) року. Хворих розподілили на дві клінічні групи залежно від типу ЗЧМТ. Першу клінічну групу було сформовано з 29 (61,71 %) хворих із струсом головного мозку, другу — із 18 (38,29 %) пацієнтів із забоєм головного мозку легкого ступеня тяжкості. Систематизацію клінічних виявів захворювання здійснювали за класифікацією Яхна — Штульмана [2].

Групу неврологічного контролю було сформовано із 58 хворих на парціальну епілепсію у міжнападний період (середній вік — (38,62 ± 9,43) року), основну контрольну групу — із 30 здорових осіб (15 жінок та 15 чоловіків віком від 26 до 35 років, середній вік — (27,50 ± 8,33) року).

Вміст τ-протеїну вимірювали в сироватці крові імунофлуоресцентним методом з використанням первинних та вторинних моноклональних мишачих антитіл і порівнювали з показниками здорових осіб та групи неврологічного контролю. Імунофлуоресцентний метод дає змогу виявити субклітинний компонент — нейроантиген, має високу специфічність та чутливість, ґрунтується на конкурентному зв'язуванні моноклональних антитіл, які є специфічними до різних епітопів молекул τ-протеїну.

У пацієнта одержували кров і заморожували за температури –20 °C. Через відсутність стандартної калібрувальної кривої згідно з методикою Землана (Zemlan F. US Patent 6589746) до контрольної групи додавали групу неврологічного контролю [4].

Зразки та подвійні стандарти (контроль та неврологічний контроль) інкубували з першим моноклональним мишачим Anti-τ (Tau, clone 2) антитілом протягом 2 год у термостаті за температури +37 °C за наявності вторинного антитіла, міченого ізотіоціанід флуоресцентом, специфічним до IgG. Після інкубації вміст відмивали тричі у буферному розчині з твином для вилучення незв'язувальних комплексів антитіл до τ-протеїну. Для визначення концентрації τ-протеїну використовували стандартні набори фірми Sigma (США). Вимірюванням флуоресцентного свічення проводили за допомогою імунофлуоресцентного мікроскопа Olympus BX41 (Японія). Було сформовано базу даних з показників здорових осіб (контрольна група), пацієнтів з віддаленими наслідками ЗЧМТ (основана група) та осіб з епілепсією (група клінічного порівняння).

Клініко-неврологічне обстеження хворих проводили за загальноприйнятою схемою обстеження. Воно передбачало збір та оцінку анамнезу і неврологічного статусу. Математичний аналіз отриманого цифрового матеріалу здійснювали за допомогою пакета для обробки статистичної інформації Statistica 6.5.

Результати та обговорення

Клініко-неврологічне обстеження хворих 1-ї групи виявило наявність розсіяної неврологічної симптоматики, що свідчить про ураження мезенцефальних та стовбурових структур головного мозку. З об'єктивних органічних неврологічних симптомів найчастіше траплялися порушення черепно-мозкової іннервації та рефлекторно-рухової сфери у вигляді горизонтальногоністагму (23 (79,31 %)), рефлекторна латералізація (20 (68,96 %)), асиметрії обличчя (16 (55,17 %)), порушення координаторної сфери (8 (27,58 %)), появи патологічних ступних рефлексів (7 (24,13 %)), атаксії (6 (20,68 %)), ротаторного ністагму (5 (17,24 %)).

Вміст τ-протеїну в сироватці крові хворих цієї групи ((0,328 ± 0,210) одиниць оптичної густини (OD)) не відрізнявся від показників контрольної неврологічної групи ((0,374 ± 0,270) OD).

У хворих 2-ї групи клініко-неврологічне обстеження виявило наявність розсіяної неврологічної симптоматики. Найчастіше спостерігали горизонтальний ністагм (14 (77,7 %)), порушення координаторної сфери (8 (44,4 %)), атаксію (9 (50,0 %)), рефлекторну латералізацію (11 (61,1 %)), патологічні ступні рефлекси (6 (33,3 %)).

Рівень τ-протеїну ((0,97 ± 0,01) OD) статистично значущо ($p < 0,05$) перевищував показник групи неврологічного контролю на 0,596 OD, на 0,909 OD — здорових осіб ((0,061 ± 0,02) OD) та на 0,642 OD — хворих 1-ї групи ($p > 0,05$) (рисунок).

Отримані результати свідчать про те, що перебіг віддалених наслідків легкої ЗЧМТ у хворих після забою головного мозку легкого ступеня тяжкості супроводжується незначним підвищенням рівня в сироватці крові τ-протеїну, маркера аксонального пошкодження, що має важливе клініко-патогенетичне та прогностичне значення і має бути враховане у лікуванні таких хворих. У комплексній патогенетичній терапії віддалених наслідків легкої

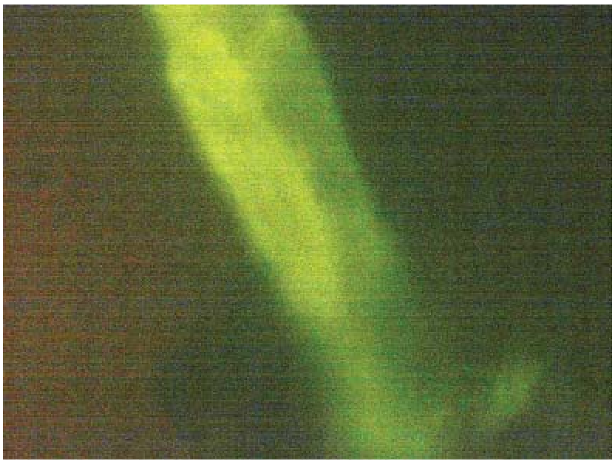

Рисунок. *Електронна мікрофотографія хворого з віддаленими наслідками після забою головного мозку легкого ступеня тяжкості (34 роки) демонструє імунофлуоресцентне фарбування τ- протеїну в реакції з моноклональними антитілами. Як первинні антитіла для виявлення специфічної реакції використано мишачі моноклональні анти-τ-2-антитіла. Зелені розмиті флуоресцентні нитки τ (green fluorescent tau protein, GFtP), мічені антимишачими IgG (γ-chain specific) FITC кон΄югованими (Fluorescein Isothiocyanate) моноклональними антитілами*

ЗЧМТ слід застосовувати консервативне лікування препаратами, які поліпшують метаболічний стан головного мозку. Аналіз ступеня відхилення від контрольних даних (t-критерій) рівнів виявив різницю між показниками: $t = 1,41$ і $t = 1,8$ ($p < 0,05$). У хворих 2-ї групи відзначено чітке підвищення вмісту τ-протеїну в сироватці крові порівняно з показниками контрольних груп.

Проведене дослідження свідчить про те, що формування неврологічних розладів на тлі віддалених наслідків легкої ЗЧМТ після забою головного мозку навіть легкого ступеня тяжкості супроводжується певним аксональним дисбалансом, що може відігравати провідну роль у патогенезі захворювання, формуванні особливостей його клінічної картини та має важливе клініко-прогностичне значення у виникненні віддалених наслідків ЗЧМТ.

Продемонстровано ефективність діагностики віддалених наслідків легкої ЗЧМТ після забою головного мозку за вмістом у сироватці крові τ-протеїну за допомогою імунофлуоресцентного методу з використанням моноклональних первинних анти-τ-2 та вторинних FITC кон'югованих антитіл.

Висновки

Перебіг віддалених наслідків легкої закритої черепно-мозкової травми після забою головного мозку легкого ступеня тяжкості супроводжується аксональним пошкодженням головного мозку.

Виявлено підвищення вмісту τ-протеїну в хворих із забоєм головного мозку легкого ступеня тяжкості ($p < 0,05$), що має важливе клініко-патогенетичне значення для формування віддалених наслідків травми.

Перспективним є подальше вивчення маркерів аксонального пошкодження та особливостей функціонального стану нейромедіаторних систем мозку, які беруть участь у метаболізмі нейроамінокислот, моделюванні функціональної активності та неспецифічної десинхронізації мозку.

Конфлікту інтересів немає.

Література

1. Беленичев И. Ф., Бухтиярова Н. В., Середа Д. А. Современные направления нейропротекции в терапии острого периода патологи головного мозга различного генеза // Міжнар. неврол. журн. — 2010. — № 2 (32). — С. 76—88.
2. Болезни нервной системы: В 2 т / Под ред. Н. Н. Яхно, Д. Р. Штульмана. — М.: Медицина, 2001. — 480 с.
3. Волошин П. В., Міщенко Т. С., Лекомцева Є. В. Аналіз поширеності та захворюваності на нервові хвороби в Україні // Міжнар. неврол. журн. — 2006. — № 3 (7). — С. 9—14.
4. Волошина Н. П., Егоркина О. В., Гапонов И. К. и др. Тепловой белок τ как маркер аксонального повреждения головного мозга // Укр. вісн. психоневрол. — 2009. — Т. 17, вип. 4 (61). — С. 4—5.
5. Коростій В. І., Поліщук В. Т., Заворотний В. І. Психофармакотерапія в комплексному лікуванні та реабілітації посттравматичного стресового розладу // Міжнар. неврол. журн. — 2015. — № 6 (76). — С. 59—71.
6. Неврология / Под ред. М. Самуэльса: Пер. с англ. — М.: Практика, 1997. — 638 с.
7. Поліщук М. Є., Гончарук О. М. Закрита черепно-мозкова травма. Сучасний погляд на проблему // Міжнар. неврол. журн. — 2015. — № 6 (76). — С. 72—80.
8. Саакян В. М., Патрикян Д. А., Фанарджян Р. В., Минасян А. А. Опыт применения актовегина в комплексном лечении ушибов головного мозга средней и тяжелой степени // Міжнар. неврол. журн. — 2010. — № 7 (37). — С. 85—87.
9. Anderson J. M., Patani R., Reynolda R. et al. Abnormal tau phosphorylation in primary progressive multiple sclerosis // Acta Neuropathol. — 2010. — Vol. 119 (5). — P. 591—600.
10. Bulut M., Koksal O., Dogan S. et al. Tau protein as a serum marker of brain damage in mild traumatic brain injury: Preliminary results // Advances in Therapy. — 2006. — N 23 (1). — P. 12—22.
11. Cheung J. Y., Bonventre J. V., Malis C. D., Leaf A. Calcium and ischemic injury // N. Engl. J. Med. — 1986. — Vol. 314. — P. 1670—1676.
12. Davis J. M., Zimmerman R. A. Injury of the carodit and vertebral arteries // Neuroradiol. — 1983. — Vol. 25. — P. 55—69.
13. Hein K., Kohler A., Diem R. et al. Biological markers for axonal degeneration in cerebrospinal fluid and blood of patients with the first event indicative for multiple sclerosis // Neuroscience Lettres. — 2008. — Vol. 436, N 1. — P. 72—76.
14. Jimenez-Jimenez F. J., Ayuso-Peralta L., Medina-Acebron S. et al. Tau protein concentrations in cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis // Acta Neurol. Scand. — 2002. — Vol. 106, N 6. — P. 351—354.
15. Ma M., Lindsell C. J., Rosenberry C. M. et al. Serum cleaved tau does not predict post contussion syndrome after mild traumatic brain injury // Am. J. Emerg. Med. — 2008. — Vol. 26 (7). — P. 763—768.
16. Seizure L., Madziala M. Epidemiology of cranio-cerebral injuries in emergency medical services practice // Pol. Przegl. Chir. — 2011. — Vol. 83. — P. 646—651.

Е. В. ЛЕКОМЦЕВА
ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины», Харьков

Содержание тау-протеина в сыворотке крови больных с отдаленными последствиями легкой закрытой черепно-мозговой травмы

Цель — изучить содержание τ-протеина в сыворотке крови больных с отдаленными последствиями легкой закрытой черепно-мозговой травмы (ЗЧМТ).

Материалы и методы. Обследованы 47 пациентов (14 (29,78 %) женщин и 33 (70,22 %) мужчины в возрасте от 22 до 53 лет, средний возраст — (47,22 ± 6,41) года) с отдаленными последствиями легкой ЗЧМТ. Содержание τ-протеина в сыворотке крови измеряли иммунофлуоресцентным методом с использованием первичных и вторичных моноклональных мышиных антител (Sigma) с последующим измерением флуоресцентного свечения с помощью иммунофлуоресцентного микроскопа Olympus BX41 (Япония). Полученные данные сравнивали с показателями группы здорового (n = 30, средний возраст — (27,50 ± 8,33) года) и группой неврологического (пациенты с парциальной эпилепсией, n = 58, средний возраст — (38,62 ± 9,43) года) контроля.

Результаты. Установлено, что течение отдаленных последствий у больных, которые перенесли ушиб головного мозга легкой степени тяжести (38,29 %), сопровождается повышением ($p < 0{,}05$) в сыворотке крови содержания τ-протеина ((0,97 ± 0,01) у. е. оптической плотности, в группе здорового контроля — (0,061 ± 0,020) у. е. оптической плотности, в группе неврологического контроля — (0,374 ± 0,270) у. е. оптической плотности) — маркера аксонального повреждения, что имеет важное клинико-патогенетическое и прогностическое значение в формировании и течении отдаленных последствий ЗЧМТ и следует учитывать в последующем лечении таких пациентов. Клинико-неврологическое обследование больных с отдаленными последствиями ЗЧМТ выявило наличие рассеянной неврологической симптоматики, что указывает на поражение мезенцефальных и стволовых структур головного мозга.

Выводы. Формирование и течение отдаленных последствий легкой ЗЧМТ сопровождается аксональным повреждением головного мозга, что проявляется повышением сывороточного уровня τ-протеина.

Ключевые слова: отдаленные последствия легкой закрытой черепно-мозговой травмы, ушиб головного мозга легкой степени тяжести, τ-протеин.

Ye. V. LEKOMTSEVA
SI «Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of NAMS of Ukraine», Kharkiv

Serum tau protein level in patients with long-term consequences of the mild brain traumatic injury

Objective — to study the content of tau protein in blood serum of the patients with long-term consequences of the mild brain traumatic injury.

Methods and subjects. We examined 47 patients aged 22—53 years with long-term consequences of the mild brain traumatic injury with the mean age 47.22 ± 8641 years (14 women, 29.78 % and 33 men, 70.22 %). In this study the serum tau protein level was measured by immunofluorescent method using monoclonal primary and secondary mice antibodies (Sigma) with the consequent measurements of the fluorescent glow with immunofluorescence microscope «Olympus» BX41 (Japany). Data was compared to healthy controls (n = 30, with mean age 27.5 ± 8.33 years) and neurological controls (patients with partial epilepsy, n = 58 with mean age 38.62 ± 9.43 years).

Results. Received data showed us that the clinical course of long-term consequences of the mild brain traumatic injury in patients after mild brain contusion in their anamnesis (38.29 %) was associated with the elevated tau protein serum level ($p < 0.05$) 0.97 ± 0.01 OD, healthy controls demonstrated 0.061 ± 0.02 and neurological controls 0.374 ± 0.27) as a marker of axonal impairment, that is important for clinic, prognosis and outcome in the formation of long-term consequences of brain trauma and these should be counted in the future patients treatment. Clinical and neurological examinations of the patients with long-term consequences of the mild brain traumatic injury have revealed the presence of multiple neurological manifestations which could indicate the damage of mesencephalic and brain stem structures.

Conclusions. The features of the clinical course and formation of long-term consequences of the mild brain traumatic injury is accompanied by axonal impairment of brain that is reflected in increased serum tau levels.

Key words: long-term consequences of the mild brain traumatic injury, mild brain contusion, tau protein.