

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ**Е.А. Сосновский*, Ю.В. Пурас, А.Э. Тальтов**

НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва,

*Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова

Представлен обзор литературы, посвященный современным биохимическим маркерам, применяемым при диагностике, оценке эффективности лечения и прогнозе исходов у пострадавших с черепно-мозговой травмой (ЧМТ). Изложены основные требования, предъявляемые на сегодняшний день к современным биохимическим маркерам. Подробно описаны преимущества, недостатки и область применения наиболее изученных и используемых в клинической практике биохимических маркеров ЧМТ: протеина S-100β, нейрон-специфической енолазы, глиального фибриллярного кислого протеина, протеина C-tau, продуктов распада спектрина и маркеров апоптоза (каспазы-3, протеина Fas и белков bcl-2).

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, биохимические маркеры повреждения мозга.

This literature review is dedicated to biochemical markers nowadays used for diagnostics as well as for estimation of treatment effectiveness and outcomes prognosis at patients with head injury (HI). The main current requirements for biochemical markers are presented. The advantages, disadvantages and application field of the most examined and clinically used biochemical markers of HI (S-100β protein, neuron-specific enolase, glial fibrillary acid protein, C-tau protein, degradation products of spectrin and markers for apoptosis — caspase-3, Fas protein and bcl-2 proteins) are described in details.

Key words: head injury, biochemical markers of brain damage.

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) остается одной из ведущих причин инвалидизации и летальности трудоспособного населения в индустриально развитых странах.

Легкая ЧМТ является ведущей в структуре черепно-мозговых повреждений. На ее долю приходится 75-90% всей травмы головного мозга. К легкой ЧМТ относят сотрясение и ушиб головного мозга легкой степени. Легкая ЧМТ возникает вследствие воздействия травмирующей силы небольшой интенсивности и характеризуется кратковременной утратой сознания, умеренно выраженной общемозговой симптоматикой и легкими неврологическими расстройствами, которые регрессируют в течение нескольких дней. Уровень бодрствования пострадавших к моменту поступления в стационар соответствует 13-15 баллам по Шкале комы Глазго (ШКГ) [2, 6].

Дифференциальную диагностику сотрясения и ушиба мозга проводят с помощью компьютерной (КТ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ) головного мозга. Сотрясение мозга — наиболее легкая клиническая форма ЧМТ, при которой отсутствуют структурные повреждения вещества мозга, а все изменения носят функциональный и обратимый характер. На томограммах при сотрясении мозга патологии вещества мозга не выявляют. Ушиб мозга характеризуется наличием морфологических очагов деструкции и структурных повреждений в коре и белом веществе мозга. Примерно у 50% пострадавших с ушибом мозга легкой степени при КТ в веществе мозга выявляют зону пониженной плотности — очаг гемангиопатической посттравматической ишемии — по В.В. Лебедеву и В.В. Крылову (2000) или ушиб I

вида — по В.Н. Корниенко и соавт. (1987). У ряда больных с ушибом мозга легкой степени изменения на томограммах не обнаруживают, что может быть связано с ограничениями чувствительности метода, так как при патологоанатомических исследованиях у умерших вследствие других причин выявляют точечные диапедезные кровоизлияния в белом веществе мозга, для визуализации которых разрешающая способность КТ недостаточна [1, 2].

Значительная распространенность ЧМТ, высокий процент неблагоприятных исходов, большой социально-экономический ущерб, наносимый ЧМТ, обуславливают постоянную актуальность проблемы поиска достоверных диагностических и прогностических критериев при повреждениях головного мозга. Прогнозирование течения и исходов тяжелой ЧМТ, на долю которой могут приходиться 10-25% среди всех случаев ЧМТ, может быть необходимым во время проведения медицинской сортировки пострадавших, при установлении очередности, сроков и объема оказания медицинской помощи и реабилитационных мероприятий. Разработка прогностических критериев необходима не только для констатации того или иного исхода ЧМТ, но и для управления лечебно-диагностическим процессом, своевременного предупреждения осложнений, разработки новых методов лечения пострадавших. До настоящего времени сохраняется необходимость в поиске доступного, надежного и простого метода диагностики, с помощью которого возможно было бы не только определять тяжесть ЧМТ, прогнозировать исход травмы, но и оценивать эффективность проводимого лечения [4, 6, 37].

За последние 2 десятилетия в нейрохирургии возрос интерес к изучению биохимических маркеров повреждения вещества мозга, по уровню которых возможно было бы определять степень первичного повреждения нервной ткани, оценивать патофизиологические процессы вторичного повреждения мозга, а также на основании динамического исследования прогнозировать возможный исход лечения.

Согласно определению, биохимические маркеры — это органические химические вещества, доступные для определения в биологических жидкостях и средах организма и отражающие нормальные или патологические процессы в клетках в ответ на повреждение или лекарственное воздействие. Основными требованиями, предъявляемыми к биохимическим маркерам, являются следующие:

- возможность определения в биологических средах больного,
- высокая чувствительность и органоспецифичность,
- отражение ряда патофизиологических биохимических процессов,
- хорошая воспроизводимость в экспериментальных условиях (на культурах клеток, на животных моделях),
- экономическая доступность [14].

В нейротравматологии биохимические маркеры используют в дополнение к клинико-инструментальным методам и способам нейромониторинга и нейровизуализации для более точного определения тяжести первичных и вторичных повреждений мозга, эффективности проводимого лечения и оценки прогноза исходов лечения пострадавших с ЧМТ. В настоящее время наиболее изученными и чаще всего применяемыми в клинической практике биохимическими маркерами ЧМТ являются: протеин S-100β, нейронспецифическая енолаза, глиальный фибриллярный кислый протеин, протеин C-tau, продукты распада спектрина и ряд маркеров апоптоза.

Протеин S-100β

Изучение белков семейства S-100 берет свое начало в 1965 г., когда В.В. Моог впервые выделил из мозга быка специфичный белок, который получил название «S-100» из-за своей способности растворяться в 100% насыщенном растворе сульфата аммония при нейтральном pH (S — solution (англ.) — растворимый) [41]. Позднее, с развитием чувствительных иммунологических методов диагностики, протеин S-100 был выделен из мозга отдельных видов млекопитающих, птиц, рептилий и человека, и установлена филогенетическая связь белков данной группы у всех позвоночных от рыб до человека [5, 41, 60].

Первоначально S-100 рассматривали как индивидуальный белок, но позднее на основании экспериментальных опытов с электрофорезом в присутствии ионов Ca²⁺ в гелях с высокой концентрацией полиакриламида была установ-

лена значительная гетерогенность белков S-100 и обнаружено, что в ткани мозга присутствует обширный спектр этих белков, различающихся хроматографически и реагирующих с антисывороткой к белкам S-100. В настоящее время описан 21 белок из группы S-100, каждый из которых кодируется единым генным кластером на хромосоме 1q21 человека [51, 68].

Физико-химические свойства протеина S-100β

Протеины S-100 являются глобулярными белками и принадлежат к семейству Ca²⁺-связывающих белков, различаясь между собой количеством Ca²⁺-связывающих центров (от 2 до 8). Белки S-100 в своем составе содержат большое количество дикарбоновых аминокислот — аспарагиновой и глутаминовой, что обуславливает их кислотную природу и способность связываться с ионами металлов. Величина молекулярной массы белков S-100 варьирует от 21 до 26 кДа [5, 50, 60, 77].

В тканях организма белки S-100 существуют в виде димера, состоящего из двух субъединиц: α — с молекулярной массой 10,4 кДа, и β — с молекулярной массой 10,5 кДа. Расшифрован полный аминокислотный состав и последовательность аминокислот в каждой субъединице. Установлено, что белок S-100ββ присутствует в высоких концентрациях в глиальных и шванновских клетках (леммоцитах), S-100αβ — в глиальных клетках, а S-100αα — в клетках мозгового слоя надпочечников, поджелудочной железы, в миоцитах, хондроцитах и адипоцитах. Белки S-100, содержащие в своем составе β-субъединицу (S-100ββ и S-100αβ) и наиболее специфичные для нервной ткани, получили в литературе общее название «протеин S-100β» [6, 37, 50, 56, 60, 77].

Содержание протеина S-100β в центральной и периферической нервной системе значительно превышает концентрацию его в других тканях и составляет 2,8 мкг/мг (0,1-0,5% от общего количества белка). В головном мозге белка S-100β приблизительно в 10⁴ раз больше, чем в любом другом органе. Содержание S-100β в периферических тканях составляет не более 20 нг/мг. Наибольшее количество белка S-100β (около 85-90% от их общего содержания в нервной ткани) сосредоточено в астроцитах, 10-15% расположены в нейронах, минимальное его количество определяется в олигодендрокитах [5, 37, 60, 77].

Свойства и функция протеина S-100β в клетке

До сих пор свойства и роль протеина S-100β остаются малоизученными и являются объектом активного исследования биохимиков, биологов и физиологов. Такие особенности белка S-100β, как видовая неспецифичность и способность к взаимодействию с ионами Ca²⁺, свидетельствуют о важной роли данного протеина в регуляции различных внутриклеточных метаболических процессов: фосфорилировании белков, дифференциации клеток, их роста, восприятия и трансдукции сигналов, а также процессов апоптоза. Находясь в тесном структурно-функциональном сотрудничестве с органеллами клетки и входя в состав

кальций-связывающих центров, белки S-100 β регулируют уровень внутриклеточного Ca²⁺, что, в конечном итоге, играет важную роль в регуляции процессов возникновения и передачи нервного импульса. Белки S-100 β обладают высоким сродством не только к связыванию ионов Ca²⁺, но также и Zn²⁺, что способствует связыванию протеина S-100 β с некоторыми Zn²⁺-содержащими белками-мишенями (факторами трансформации, протеинкиназами, белками цитоскелета и др.), изменяя тем самым состояние органелл клетки и влияя на экспрессию её генов [5, 35, 50, 60].

S-100 β — биохимический маркер повреждения нервной ткани

Протеин S-100 β является наиболее часто используемым маркером повреждения нервной ткани (глиальных клеток) при травме нервной системы, острых нарушениях мозгового кровообращения, различных нейродегенеративных, аутоиммунных и онкологических заболеваниях, а также в кардиохирургии при оценке степени повреждения нервной системы во время операций, проведенных в условиях искусственного кровообращения [37, 50].

С помощью оценки уровня протеина S-100 β в сыворотке крови и ЦСЖ установлено, что нарушение нормальных физиологических процессов в глии и структурное повреждение глиальных клеток имеет место при болезни Паркинсона, синдроме Дауна, болезни Альцгеймера, эпилепсии, гидроцефалии, остром нарушении мозгового кровообращения, нетравматическом субарахноидальном кровоизлиянии, воспалительных заболеваниях центральной нервной системы, а также при системной красной волчанке и тяжелом атеросклеротическом поражении интимы аорты [37, 50].

Протеин S-100 β является наиболее изученным биохимическим маркером при ЧМТ. Референсные значения уровня белка S-100 β в сыворотке крови здорового взрослого человека составляют от 0,005 до 0,105 мкг/л, в ЦСЖ — от 0,005 до 4,5 мкг/л. В ходе многочисленных экспериментальных и клинических исследований установлено, что при структурных повреждениях головного мозга (инсульт, ЧМТ), разрушении глиальных клеток и нарушении целостности гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), уровень S-100 β в ЦСЖ и периферической крови повышается. При обширных очагах ушиба и разможжения мозга уровень этого маркера в сыворотке крови может увеличиваться в 3-5 раз [7-9, 13, 19, 30-32, 35, 37, 46, 50, 60, 72].

Доказана взаимосвязь между уровнем S-100 и тяжестью ЧМТ. У пострадавших с ЧМТ тяжелой степени концентрация S-100 β в биологических средах значительно выше, чем у больных с ЧМТ легкой и средней степени тяжести [8, 13, 19, 31, 32, 35].

Обнаружена зависимость между уровнем протеина S-100 β и изменениями на КТ головного мозга. Увеличение уровня S-100 β в первые сутки после травмы может свидетельствовать о нали-

чии очагов повреждения мозга, выявляемых при КТ. Нормальный уровень S-100 β отмечается у пострадавших без патологических изменений на КТ [7, 13, 21, 32, 42, 52].

Ряд авторов предлагают определять уровень S-100 β при поступлении всем пострадавшим с ЧМТ, мотивируя это тем, что неврологический осмотр часто может быть затруднен в связи с наличием алкогольного или наркотического опьянения, а проведение КТ головного мозга всем без исключения больным часто затруднительно [13, 31, 32].

Известно, что у ряда пострадавших с клинической картиной легкой ЧМТ патологических изменений на томограммах головного мозга не обнаруживают, что может быть связано с ограничением метода вследствие малой разрешающей способности аппарата КТ. Наиболее чувствительным методом диагностики у пострадавших с легкой ЧМТ является МРТ головного мозга, при которой возможна четкая визуализация повреждений белого и серого вещества, оценка перивентрикулярных структур и отека мозга. При легкой ЧМТ изменения при МРТ головного мозга обнаруживают у 41-47% пострадавших, при КТ — только у 28,8-34% [1, 2, 9, 13, 30].

Оценка уровня S-100 β у пострадавших с легкой ЧМТ может помочь в дифференциальной диагностике между сотрясением мозга и его ушибом. При легкой ЧМТ повышение уровня S-100 β указывает на наличие структурных повреждений вещества мозга (ушиб мозга) и отмечается у 24-38% пострадавших [7, 13, 19, 31, 32].

Было показано также, что концентрация S-100 β зависит от вида и объема внутричерепных повреждений. У пострадавших с более высоким уровнем S-100 β на КТ выявляют очаги повреждения мозга большего объема. Наиболее высоким отмечают уровень S-100 β у пациентов с очагами ушиба мозга объемом более 30 см³ и диффузным аксональным повреждением (ДАП) [9, 19, 30, 35, 37, 42, 50, 55, 71].

Ряд авторов считают, что уровень протеина S-100 β в первые сутки после травмы, а также его динамика могут быть использованы при прогнозировании исходов лечения у пострадавших с ЧМТ. Прогностически неблагоприятным считается увеличение содержания протеина S-100 β в сыворотке крови более 4 мкг/л [8, 30, 35, 37, 42, 46, 50, 55, 60, 71].

L.E. Pelinka и соавт. (2004) обнаружили, что у больных с отличными исходами средняя концентрация протеина S-100 β в первые 24 ч после травмы составила 0,3-1,6 мкг/л, с неврологическим дефицитом — 1,1-4,9 мкг/л, при неблагоприятном исходе — 2,0-3,6 мкг/л. Кроме того, исследователи отметили, что у выживших пострадавших с ЧМТ уровень S-100 β с течением времени постепенно снижается до нормальных значений, а у пациентов с неблагоприятными исходами — остается повышенным, или его концентрация нарастает [46].

A. Raabe и соавт. (2003) заключили, что постепенное увеличение уровня S-100 β в сыворотке крови происходит примерно у половины больных с неблагоприятными исходами и является харак-

терным для пострадавших с эволюцией очагов ушиба [50].

С. Woertgen и соавт. (1999), сопоставив уровни сывороточного S-100 β и данные КТ головного мозга в динамике, предположили, что увеличение концентрации S-100 β с течением времени при тяжелой ЧМТ отражает развитие вторичных ишемических повреждений, следствием которого является вовлечение в патологический процесс интактных клеток вещества мозга и их разрушение [71].

К сожалению, несмотря на высокую чувствительность к повреждениям нервной ткани, прогностическую значимость маркера в отношении прогноза исходов при ЧМТ, простоту определения его в биологических средах организма и относительно недорогую стоимость, тем не менее, у протеина S-100 β есть один главный и существенный недостаток, ограничивающий его широкое и повсеместное использование, — низкая специфичность. Поскольку протеин S-100 β содержится, помимо нервной системы, в других нормальных тканях организма и экспрессируется некоторыми опухолями, то травма другого органа, где расположен этот маркер, или любое хирургическое вмешательство, или сопутствующее нейродегенеративное или аутоиммунное заболевание, могут вести к увеличению содержания протеина S-100 β в биологических средах, тем самым приводя к ложноположительной интерпретации результатов. Так, R.E. Anderson и соавт. (2001), проведя исследование протеина S-100 β в сыворотке крови у пострадавших с сочетанной травмой без сопутствующей ЧМТ, отметили резкое увеличение уровня S-100 β в первые сутки после травмы, пик которого приходился на первые 6 ч. Авторы объяснили такое увеличение содержания протеина S-100 β массивной травмой скелетной мускулатуры у пациентов с политравмой [10].

По данным литературы, метод определения прогноза исходов у пострадавших с ЧМТ с помощью оценки уровня протеина S-100 β в сыворотке крови обладает высокой чувствительностью (92–99%), но низкой специфичностью (30–42%). Однако все авторы сходятся во мнении, что увеличить специфичность метода возможно путем оценки протеина S-100 β в совокупности с другими, более высокоспецифичными для нервной ткани биохимическими маркерами [13, 42, 58].

Нейрон-специфическая енолаза

Нейрон-специфическая енолаза (NSE — от англ. neuron-specific enolase) является гликолитическим ферментом цитоплазмы клеток с молекулярной массой 78 кДа и периодом полувыведения 48 ч. В нормальных условиях NSE присутствует в клетках нейроэктодермального происхождения, нейронах головного мозга, нейроэндокринных клетках и периферической нервной ткани. Референсные значения NSE в сыворотке крови составляют 0–16,3 мкг/л. Увеличение содержания NSE в сыворотке крови и ЦСЖ наблюдают при

различных неврологических заболеваниях, сопровождающихся нарушением целостности ГЭБ (эпилепсии, нетравматическом субарахноидальном кровоизлиянии, болезни Крейтцфельда — Якоба), при повреждении клеток (инсульт, ЧМТ), а также при развитии опухолей нейроэктодермального или нейроэндокринного происхождения, лейкозах, после лучевой терапии или рентгеновского облучения. Учитывая, что NSE также содержится в эритроцитах и тромбоцитах, при определении этого фермента в сыворотке крови необходимо соблюдать правила хранения крови (центрифугирование следует проводить не позднее, чем через 1 ч после забора пробы), и помнить, что гемолиз может сильно искажать результаты исследования [20, 34, 54, 62, 69, 75].

Уровень NSE в сыворотке крови или ЦСЖ может повышаться при сочетанных внечерепных повреждениях, острой почечной недостаточности, геморрагическом шоке. Отмечено, что при изолированной травме опорно-двигательного аппарата, независимо от исхода лечения, концентрация NSE в биологических жидкостях постепенно снижается, достигая нормальных значений в течение первых 48 ч после травмы [45].

Несмотря на то что NSE не является специфическим маркером повреждения клеток мозга, в ряде экспериментальных и клинических исследований была продемонстрирована взаимосвязь между увеличенным уровнем NSE в сыворотке крови или ЦСЖ и неблагоприятным исходом лечения при ЧМТ [23, 54, 69, 71–73, 75].

Интересными представляются результаты проспективного исследования P.E. Vos и соавт. (2004), включающие динамическое определение глиальных и нейрональных протеинов в сыворотке крови у 85 больных с тяжелой ЧМТ. Авторы обнаружили, что значимым предиктором неблагоприятного исхода при ЧМТ является увеличение содержания NSE в сыворотке крови до 21,7 мкг/л и выше [69].

Установлено, что NSE обладает очень низкой чувствительностью к ЧМТ легкой степени и диффузному аксональному повреждению [31, 32, 66].

Встречаются работы, в которых исследователи сообщают, что интерпретация уровней NSE в сыворотке крови или ЦСЖ в отношении прогноза исходов у пациентов с ЧМТ более достоверна при одновременном их использовании в комбинации с оценкой концентрации других, более специфических, биохимических маркеров ЧМТ (S100 β , глиальным фибриллярным кислым протеином — GFAP) и определением уровня бодрствования по ШКГ [59, 75].

При благоприятном течении ЧМТ концентрация NSE в сыворотке крови или ЦСЖ достигает своего пика в течение первых 12 ч и затем постепенно уменьшается. Второй пик увеличения содержания NSE в биологических средах на 5–7-е сутки с момента травмы наблюдают у пациентов с плохим или летальным исходом. Все авторы сходятся во мнении, что поздний подъем уровня NSE, возможно, отражает массовую гибель нейронов при развитии вторичных ишемических повреждений мозга [39, 72].

Глиальный фибриллярный кислый протеин

Глиальный фибриллярный кислый протеин (GFAP — от англ. glial fibrillary acid protein) — это мономерный белок с молекулярной массой 50-52 кДа, который является главной составляющей цитоскелета клеток астроглии. GFAP высвобождается во внеклеточное пространство при нарушении целостности глиальных клеток и высокоспецифичен для центральной нервной системы. Главным недостатком широкого использования GFAP в клинике в качестве биохимического маркера является его дорогостоящее и трудоемкое определение в биологических средах (сыворотке крови, ЦСЖ). Единственным методом выделения является твердофазный иммуносорбентный анализ с ферментной меткой [22, 40, 53, 67].

GFAP обладает высокой специфичностью в отношении повреждения именно клеток астроглии, что позволяет использовать его в качестве биохимического маркера при сочетанной ЧМТ. Так, L.E. Pelinka и соавт. (2004) сообщили, что уровень GFAP повышался только у пострадавших с ЧМТ, тогда как у пациентов с политравмой и отсутствием повреждений головного мозга содержание GFAP в сыворотке крови и ЦСЖ оставалось в пределах нормальных значений [47].

GFAP является маркером тяжести повреждения мозга и может быть использован при определении прогноза исходов при ЧМТ. В ряде клинических исследований было показано, что с увеличением объема очага первичного повреждения мозга концентрация GFAP в сыворотке крови и ЦСЖ увеличивается, и что у пострадавших с неблагоприятными исходами лечения (вегетативное состояние, летальный исход) содержание GFAP в биологических средах достоверно больше, чем у пациентов с хорошими исходами [44, 47, 69]. По данным P.E. Vos и соавт. (2004), у пациентов с ЧМТ и неблагоприятными исходами отмечали 4-кратное увеличение уровня GFAP в сыворотке крови, по сравнению с пострадавшими, у которых впоследствии исходы были благоприятными. В этом исследовании не была обнаружена корреляция между начальной концентрацией GFAP в сыворотке крови и исходным уровнем бодрствования у пострадавших с ЧМТ. Анализируя полученные результаты, авторы пришли к выводу, что начальная концентрация GFAP в сыворотке крови может являться хорошим индикатором первичной тяжести травмы мозга, особенно в тех случаях, когда невозможно применить ШКГ (пациенты в алкогольном опьянении, в состоянии медикаментозной седации, с нарушениями речи) [69].

A. Petzold и соавт. (2006) изучали динамику содержания уровня GFAP в ЦСЖ у пострадавших с ЧМТ. Было отмечено, что у пациентов с развитием посттравматического ангиоспазма и неблагоприятными исходами наблюдали второй пик увеличения содержания GFAP в ЦСЖ, что, по мнению авторов, могло являться маркером развития вторичного ишемического повреждения клеток мозга на фоне ангиоспазма [48].

Протеин С-tau

Протеин С-tau (от англ. cleaved — расщепленный) представляет собой фрагмент расщепленного с помощью протеолитических ферментов протеина MAP-tau (от англ. microtubule-associated protein tau). Протеин MAP-tau является структурным белком цитоскелета нейронов и локализуется, главным образом, в аксонах, где принимает участие в формировании пучков микротрубочек. Пучки микротрубочек в аксонах — это важные элементы аксоплазматического транспорта белков. Таким образом, MAP-tau является одним из важнейших структурно-функциональных протеинов ЦНС. При повреждении вещества мозга MAP-tau расщепляется с помощью протеолитических ферментов на фрагменты с молекулярной массой от 30 до 50 кДа, получивших название протеины С-tau. В норме содержание протеинов С-tau в сыворотке крови и ЦСЖ равно 0 нг/мл [36, 76].

В экспериментальных исследованиях *in vitro* на культуре клеток были получены данные о том, что MAP-tau является субстратом для каспазы-3, специфического протеолитического фермента, играющего ключевую роль в процессе апоптоза, и что конечные продукты этого протеолиза могут быть сильными эффекторами апоптоза [26].

У пациентов с ЧМТ и диффузным аксональным повреждением (ДАП) уровень протеина С-tau в сыворотке крови и ЦСЖ возрастает в 40000 раз [61, 76]. G.J. Shaw и соавт. (2002) показали, что среди пострадавших с ЧМТ, независимо от изменений на КТ, при увеличенном содержании уровня протеина С-tau в сыворотке крови функциональные исходы лечения были значительно хуже, по сравнению с теми пациентами, у которых протеин С-tau в сыворотке обнаружен не был [61]. Результаты, полученные авторами, подтверждают факт, что исходы у пострадавших после диффузной травмы головного мозга с повреждением проводящих путей гораздо хуже, чем у пациентов с очаговым повреждением вещества мозга.

F.P. Zemlan и соавт. (2002) также обнаружили взаимосвязь между уровнем протеина С-tau в ЦСЖ и исходом при тяжелой ЧМТ. Авторы сообщили, что при содержании протеина С-tau в ЦСЖ у пострадавших с ЧМТ менее 1000 нг/мл почти со 100% чувствительностью и специфичностью отмечался благоприятный исход, тогда как при увеличении содержания протеина С-tau свыше 1600 нг/мл — исходы были неблагоприятными. Исследователи также обратили внимание, что второй пик увеличения концентрации протеина С-tau в ЦСЖ наблюдали у пациентов с внутричерепной гипертензией, что, по их мнению, свидетельствовало о развитии вторичных ишемических повреждений вещества мозга [76].

Однако имеются работы, в которых авторы сообщают, что протеин С-tau обладает низкой чувствительностью в отношении прогноза отдаленных исходов при ЧМТ, особенно при ЧМТ легкой степени [11, 15].

Маркеры апоптоза

Помимо действия первичных травмирующих факторов и механизмов вторичного ишемического повреждения, гибель клеток мозга при ЧМТ может происходить по третьему пути — вследствие инициации процессов апоптоза («запрограммированной» или «отложенной клеточной смерти»). Апоптоз представляет собой генетически запрограммированный и строго регулируемый физиологический каскад биохимических реакций внутри клетки, который может запускаться как прямым воздействием травмирующего агента на клеточный геном, так и опосредованно — путем повреждающего действия медиаторов воспаления и/или в результате эксайтотоксичности. Цепные апоптотические реакции развиваются через несколько часов после первичного повреждения и могут продолжаться в течение нескольких дней и даже месяцев после травмы, вовлекая в процесс интактные клетки. Разрушение клетки при апоптозе характеризуется конденсацией ядра и цитоплазмы и разделением клетки на апоптотические тельца [4, 17, 63].

Процесс апоптоза запускается двумя путями — наружным и внутренним. Наружный путь активации апоптоза наблюдается в нормальных условиях в неповрежденных клетках, внутренний путь — в условиях ишемии. Независимо от причин активации, оба пути в итоге приводят к активации каспаз — семейству цистеиновых ферментов-протеаз, являющихся главными пусковыми факторами апоптоза [4, 17, 63, 74].

Для инициации апоптоза по *наружному* пути необходима связь рецепторов «клеточной гибели», расположенных на мембране клетки, со специфическими белками-лигандами. Образовавшийся комплекс, в свою очередь, через цепь биохимических реакций приводит к активации каспазного каскада. Наиболее изученными мембранными рецепторами, воспринимающими сигнал апоптоза, являются белки TNFR1 и Fas (также известный как CD95 или APO-1). Среди белков-лигандов, взаимодействующих с рецепторами смерти, основная роль принадлежит CD95L, TNF, APO3L и APO2L [4, 17, 63].

Пусковыми механизмами апоптоза по *внутреннему* пути являются повышенные концентрации внутриклеточного кальция, свободные радикалы кислорода и глутамат, воздействующие на мембраны митохондрий и способствующие выходу в цитоплазму эффекторов апоптоза и их активации. Высвобождение апоптогенных белков из митохондрий осуществляется двумя путями: за счет прямого повреждения митохондриальной мембраны или путем открытия высокопроницаемых каналов на внешней мембране митохондрий. Вследствие активации внутреннего пути апоптоза из митохондрий в цитозоль выходит цитохром С — белок, который в норме в большом количестве содержится на внутренней мембране митохондрий и является основным переносчиком электронов в дыхательной цепи клеток. Цитохром С, связываясь со специфическими белками цитоплазмы (Araf-1 — от англ. apoptosis inducing factor — «фактор инду-

цирующий апоптоз»), образует апоптосому, активирующую каспазный каскад [4, 17, 57, 63].

Каспазы — это семейство специфических цистеиновых протеаз, существующих в каждой клетке в неактивной форме и играющих ключевую роль в процессе апоптоза. Активируясь, каспазы иницируют действие эндонуклеаз — специфических ферментов, расположенных в ядре клетки, которые катализируют реакции расщепления молекул дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) на фрагменты. Наиболее хорошо изученной в экспериментальных исследованиях является каспаза-3 [4, 17, 18, 63, 74].

Регуляция процессов апоптоза в клетке осуществляется посредством проапоптотических и антиапоптотических белков, которые, активируясь, выступают в роли эффекторов или супрессоров биохимического каскада. Наиболее изученными являются белки семейства bcl-2, обладающие, помимо антиапоптотических свойств, защитными свойствами от воздействия свободных радикалов, эксайтотоксичности, а также способностью повышать устойчивость клеток к ишемии. Белки семейства bcl-2 могут формировать ионные каналы в митохондриях, тем самым предотвращая высвобождение из митохондрий цитохрома С, а также могут опосредованно предотвращать активацию каспазного каскада [18].

При ЧМТ в качестве биохимических маркеров апоптоза клеток чаще всего используют: определение уровня в сыворотке крови и ЦСЖ каспазы-3, протеина Fas и белков семейства bcl-2 [12, 16, 64].

Пути активации каспазы-3 хорошо изучены с помощью иммуногистохимических методов на экспериментальных моделях ЧМТ. Была отмечена прямая связь между уровнем активированной каспазы и количеством клеток, умерших вследствие апоптоза. Это послужило основой для того, чтобы считать каспазу-3 ценным маркером запрограммированной клеточной гибели, а также использовать ее для оценки эффективности нейропротекторных препаратов, блокирующих процессы апоптоза [12, 16, 64].

М. Uzan и соавт. (2006) определяли уровни содержания каспазы-3 и белков Fas и bcl-2 в ЦСЖ у 14 пациентов с ЧМТ и здоровых добровольцев. Авторы обнаружили, что в группе пострадавших с ЧМТ уровни как про-, так и антиапоптотических протеинов в ЦСЖ были значительно выше, чем в контрольной группе. Кроме того, более высокие уровни каспазы-3 отмечали у пострадавших с ЧМТ, сопровождающейся внутричерепной гипертензией [65]. Данные, полученные М. Uzan и соавт. (2006), соответствовали результатам исследования, проведенного L. Harter и соавт. (2001), которые сообщили, что наиболее высокий уровень каспазы-3 в ЦСЖ у пациентов с ЧМТ отмечали в пределах 2-5 суток с момента травмы [29].

Работы, посвященные динамическому определению уровня протеина Fas в ЦСЖ у пациентов с ЧМТ, были проведены рядом авторов [24, 38, 65]. Исследователи показали, что увеличенное содержание протеина Fas в ЦСЖ отмечено в течение двух недель после травмы. Самая высокая концентрация протеина Fas в ЦСЖ была зарегистрирована на 5-е сутки, что также соответствовало уве-

личенному содержанию каспазы-3. Руководствуясь полученными данными, авторы предположили, что пик активности процессов апоптоза приходится именно на 5-е сутки с момента ЧМТ.

Учитывая, что апоптоз представляет собой каскад биохимических реакций, в которых принимают участие большое количество различных химических соединений, одни из которых являются эффекторами, а другие — супрессорами и регуляторами физиологического процесса, любая из молекул-участников, определяемая в сыворотке крови или ЦСЖ, будет являться маркером апоптоза. Однако наиболее интересным представляется изучение содержания в физиологических жидкостях организма именно тех молекул, которые являются ключевыми в апоптотическом процессе: каспазы-3 как эффектора апоптоза, протеинов Fas как активированных проапоптотических рецепторов и белков bcl-2 как возможных супрессоров апоптоза. M. Usan и соавт. (2006) предположили, что одновременное увеличение содержания всех этих молекул в ЦСЖ, пик концентрации которых приходится на 5-е сутки, свидетельствует о том, что апоптоз является одним из важнейших факторов вторичного повреждения мозга [65].

Продукты распада спектрина

Альфа (α) II-спектрин представляет собой белок с молекулярной массой 280 кДа, который является основным компонентом цитоскелета нейронов и располагается, преимущественно, в аксонах и пресинаптических терминалях. Спектрин формирует структурную сетку и играет важную роль в поддержании целостности клеточной мембраны и структуры цитоскелета. При определенных состояниях (ЧМТ, действии факторов вторичного ишемического повреждения, развитии процессов апоптоза) в результате действия протеолитических ферментов (главным образом, каспазы-3 и кальпаина) спектрин необратимо расщепляется на фрагменты с молекулярной массой от 120 до 150 кДа, получившие название «продукты распада спектрина» — SBDPs (от англ. spectrin breakdown products) [27, 70].

SBDPs в тканях и биологических средах (сыворотке крови, ЦСЖ) определяют или с помощью иммуногистохимических методов исследования с использованием меченых селективных II-SBDPs антител, или с помощью иммуноблоттинга [25, 43, 70].

O. Farkas и соавт. (2005) впервые применили SBDPs в качестве биохимического маркера ЧМТ в клинической практике. Авторы обнаружили взаимосвязь между повышенным уровнем SBDPs в ЦСЖ и неблагоприятным исходом у пострадавших с тяжелой ЧМТ. Причем максимальное увеличение содержания SBDPs в ЦСЖ было отмечено на 2-е и 7-е сутки с момента травмы. В образцах ЦСЖ, взятых у контрольной группы, исследователи не обнаружили ни спектрина, ни SBDPs. Авторы также сообщили, что наиболее высокий уровень SBDPs был зарегистрирован именно у пациентов с ЧМТ, тогда как у больных с другими патологическими состояниями, сопро-

вождающимися внутричерепной гипертензией, содержание этих маркеров в ЦСЖ было низким, что, по мнению авторов, свидетельствовало о высокой специфичности SBDPs при ЧМТ [25].

Иммуноблоттинг, современный высокочувствительный и высокоспецифичный метод, основанный на сочетании электрофореза белков и иммуноферментного (ИФА) или радиоиммунологического (РИА) анализов, позволяет получить информацию об отдельных фракциях SBDPs, полученных как в результате протеолиза кальпаином, так и вследствие действия каспазы-3, что может оказать существенную помощь в понимании патофизиологических процессов повреждения клеток при ЧМТ [12, 33].

Известно, что протеолитическое действие на спектрин кальпаина — внутриклеточной протеазы, эффектора апоптоза, активирующегося повышенной концентрацией ионов кальция внутри клетки и приводящего к разрушению внутриклеточного цитоскелета, — приводит к формированию SBDPs с массой 145 и 150 кДа, а расщепление спектрина каспазой-3 ведет к образованию SBDPs с массой 120 и 150 кДа [28, 70].

J.A. Pineda и соавт. (2007) обнаружили, что у пострадавших с тяжелой ЧМТ максимальные уровни всех фракций SBDPs (SBDPs150, SBDPs145 и SBDPs120) в ЦСЖ были зарегистрированы в течение первых 6 ч после травмы. Причем содержание фракций SBDPs145 и SBDPs150, отражающее активность кальпаина, оставалось высоким в течение последующих 72 ч, а уровень фрагментов SBDPs120, свидетельствующий об активности каспазы-3, — до 5 суток. Авторами также была выявлена взаимосвязь между увеличенным содержанием фракций SBDPs145 и SBDPs150 в ЦСЖ и такими факторами, как: вид повреждения мозга по данным КТ и отдаленными исходами лечения. Взаимосвязи уровня фракций SBDPs120 с указанными факторами выявлено не было [49].

Заключение

Таким образом, за последние 10—15 лет интерес исследователей к маркерам ЧМТ существенно возрос, что связано как с ежегодным увеличением числа пострадавших с ЧМТ и постоянно возрастающей потребностью в улучшении качества диагностики и оказания помощи, так и с развитием новых технологий в медицине и лабораторной диагностике, которые позволяют с высокой точностью определять содержание биохимических веществ в сыворотке крови и ЦСЖ. Биохимические маркеры помогают определить степень тяжести ЧМТ, объяснить патофизиологические механизмы повреждения мозга, оценить эффективность проводимого лечения и прогнозировать исходы лечения.

Известно большое количество биохимических маркеров, которые применяют в диагностике ЧМТ: протеин S-100 β , нейрон-специфическая енолаза, глиальный фибриллярный кислый протеин, протеин C-tau, продукты распада спек-

рина и такие маркеры апоптоза, как каспаза-3, протеин Fas и белки bcl-2. Одни из них являются протеолитическими ферментами, активирующимися в момент травмы (нейрон-специфическая енолаза, каспаза-3), другие — структурными протеинами, высвобождающимися во внеклеточное пространство при повреждении клеток (S-100 β , глиальный фибриллярный кислый протеин), третьи — продуктами протеолиза белковых молекул (продукты распада спектрина, протеин C-tau).

Несмотря на большое количество накопленных знаний, «идеальный» биохимический маркер повреждения нервной ткани при ЧМТ, который бы удовлетворял всем требованиям, до сих пор так и не найден.

Для того, чтобы в полной мере оценить роль биохимических маркеров в диагностике, лечении и прогнозе ЧМТ, необходимы: проведение дальнейших проспективных клинических исследований на больших выборках пациентов, оценка эффективности одновременного применения комбинации разных маркеров, дальнейший поиск новых маркеров, которые более подробно могли бы объяснить патофизиологические механизмы повреждения мозга при ЧМТ, а также разработка новых технологий в методах лабораторной диагностики, которые позволят определять маркеры повреждения мозга более простыми и доступными методами.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Сосновский Евгений Александрович — аспирант кафедры нейрохирургии и нейрореанимации МГМСУ
Пурас Юлия Владимировна — к.м.н., научный сотрудник отделения неотложной нейрохирургии НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского
Талыпов Александр Эрнестович — к.м.н., старший научный сотрудник отделения неотложной нейрохирургии НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, e-mail: dr.talypov@mail.ru

ЛИТЕРАТУРА

1. Корниенко В.Н., Васин Н.Я., Кузьменко В.А. Компьютерная томография в диагностике черепно-мозговой травмы. — М.: Медицина, 1987. — 288 с.
2. Лебедев В.В., Крылов В.В. Неотложная нейрохирургия: Руководство для врачей. — М.: Медицина, 2000. — 568 с.: ил.
3. Лекции по черепно-мозговой травме: Учебное пособие / Под ред. В.В. Крылова. — М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2010. — 320 с.
4. Нейропротекция: модели, механизмы, терапия // Пер. с англ. под ред. М. Бэра — М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. — 429 с.
5. Никандров В.Н., Чаплинская Е.В. Протеин S-100: структурно-функциональные свойства и роль в нервной ткани // Біополімери і клітина. — 2005. — Т.21 (1). — С. 12-27.
6. Потапов А.А., Лихтерман Л.Б., Зельман В.Л. и др. Доказательная нейротравматология. — М.: Антитор, 2003. — 517 с.
7. Талыпов А.Э., Пурас Ю.В., Годков М.А., Шарифуллин Ф.А., Куксова Н.С., Сосновский Е.А., Крылов В.В. Исследование уровня протеина S100 бета у пострадавших с черепно-мозговой травмой легкой степени тяжести // Нейрохирургия. — 2011. — № 1. — С. 49-53.
8. Талыпов А.Э., Пурас Ю.В., Сосновский Е.А., Годков М.А., Крылов В.В. Прогнозирование исхода тяжелой черепно-мозговой травмы с помощью динамической оценки уровня протеина S-100 beta в сыворотке крови // Российский нейрохирургический журнал им. А.Л. Поленова. — 2011. — Том III. — № 3. — С. 49-53.
9. Akhtar J.L., Spear R.M., Senac M.O. et al. Detection of traumatic brain injury with magnetic resonance imaging

- and S-100B protein in children, despite normal computed tomography of the brain // *Pediatr. Crit. Care Med.* — 2003. — Vol. 4 (3). — P. 322-326.
10. Anderson R.E., Hansson L.O., Nilsson O. et al. High serum S100B levels for trauma patients without head injuries // *Neurosurgery.* — 2001. — Vol. 48. — P. 1255-1258.
11. Bazarian J.J., Zemlan F.P., Mookerjee S. et al. Serum S-100B and cleaved-tau are poor predictors of long-term outcome after mild traumatic brain injury // *Brain Inj.* — 2006. — Vol. 20 (7). — P. 759-765.
12. Beer R., Franz G., Srinivasan A. et al. Temporal profile and cell subtype distribution of activated caspase-3 following experimental traumatic brain injury // *J Neurochem.* — 2000. — Vol. 75 (3). — P. 1264-1273.
13. Biberthaler P., Mussack T., Wiedemann E. et al. Evaluation of S-100 β as a specific marker for neuronal damage due to minor head trauma // *World J. Surg.* — 2001. — Vol. 25 (1). — P. 93-97.
14. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework // *Clin Pharmacol Ther.* — 2001. — Vol. 69 (3). — C. 89-95.
15. Chatfield D.A., Zemlan F.P., Day D.J. et al. Discordant temporal patterns of S100beta and cleaved tau protein elevation after head injury: a pilot study // *Br J Neurosurg.* — 2002. — Vol. 16 (5). — P. 471-476.
16. Chen M., Ona V.O., Li M. et al. Minocycline inhibits caspase-1 and caspase-3 expression and delays mortality in a transgenic mouse model of Huntington disease // *Nat Med.* — 2000. — Vol. 6 (7). — P. 797-801.
17. Chowdhury I., Tharakan B., Bhat G.K. Current concepts in apoptosis: the physiological suicide program revisited // *Cell Mol Biol Lett.* — 2006. — Vol. 11. — P. 506-525.
18. Clark R.S., Kochanek P.M., Chen M. et al. Increases in Bcl-2 and cleavage of caspase-1 and caspase-3 in human brain after head injury // *FASEB J.* — 1999. — Vol. 13 (8). — P. 813-821.
19. De Bussard C.N., Lundin A., Karlstedt D. et al. S100 and cognitive impairment after mild traumatic brain injury // *J. Rehabil. Med.* — 2005. — Vol. 37. — P. 53-57.
20. De Giorgio C.M., Gott P.S., Rabinowicz A.L. et al. Neuron-specific enolase, a marker of acute neuronal injury, is increased in complex partial status epilepticus // *Epilepsia.* — 1996. — Vol. 37 (7). — P. 606-609.
21. De Kruijk Jr., Leffers P., Menheere P. et al. S-100B and neuron-specific enolase in serum of mild traumatic brain injury patients. A comparison with health controls // *Acta Neurol Scand.* — 2001. — Vol. 103. — P. 175-179.
22. Eng L.F., Ghirnikar R.S., Lee Y.L. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty years (1969-2000) // *Neurochem Res.* — 2000. — Vol. 25 (9-10). — P. 1439-1451.
23. Ergun R., Bostanci U., Akdemir G. et al. Prognostic value of serum neuron-specific enolase levels after head injury // *Neurol Res.* — 1998. — Vol. 20. — P. 418 — 420.
24. Ertel W., Keel M., Stocker R. et al. Detectable concentrations of Fas ligand in cerebrospinal fluid after severe head injury // *J Neuroimmunol.* — 1997. — Vol. 80 (1-2). — P. 93-96.
25. Farkas O., Polgar B., Szekeres-Bartho J. et al. Spectrin breakdown products in the cerebrospinal fluid in severe head injury: preliminary observations // *Acta Neurochir (Wien).* — 2005. — Vol. 147 (8). — P. 855-861.
26. Fasulo L., Ugolini G., Visintin M. et al. The neuronal microtubule-associated protein tau is a substrate for caspase-3 and an effector of apoptosis // *J Neurochem.* — 2000. — Vol. 75 (2). — P. 624-633.
27. Goodman S.R., Lopresti L.L., Riederer B.M. et al. Brain spectrin (240/235A): a novel astrocyte specific spectrin isoform // *Brain Res Bull.* — 1989. — Vol. 23 (4-5). — P. 311-316.
28. Harris A.S., Croall D.E., Morrow J.S. The calmodulin-binding site in alpha-fodrin is near the calcium-dependent protease-I cleavage site // *J Bio Chem.* — 1988. — Vol. 263 (30). — P. 15754-15761.
29. Harter L., Keel M., Hentze H. et al. Caspase-3 activity is present in cerebrospinal fluid from patients with traumatic brain injury // *J Neuroimmunol.* — 2001. — Vol. 121 (1-2). — P. 76-78.
30. Hermann M., Jost S., Kutz S. et al. Temporal profile of release of neurobiochemical markers of brain damage after traumatic brain injury is associated with intracranial pathology as demonstrated in cranial computerized tomography // *J. Neurotrauma.* — 2000. — Vol. 17 (2). — P. 113-122.
31. Ingebrigtsen T., Romner B. Biochemical serum markers for brain damage: a short review with emphasis on clinical utility in mild head injury // *Restor Neurol Neurosci.* — 2003. — Vol. 21. — P. 171 — 176.
32. Ingebrigtsen T., Romner B., Marup-Jensen S. et al. The clinical value of serum S-100 protein measurements in minor head injury: a Scandinavian multicentre study // *Brain Inj.* — 2000. — Vol. 14 (12). — P. 1047-1055.
33. Kampf A., Posmantur R.M., Zhao X. et al. Mechanisms of calpain proteolysis following traumatic brain injury:

- implications for pathology and therapy: a review and update // *J Neurotrauma*. — 1997. — Vol. 14 (3). — P. 121-134.
34. Kohira I., Tsuji T., Ishizu H. et al. Elevation of neuron-specific enolase in serum and cerebrospinal fluid of early stage Creutzfeldt-Jakob disease // *Acta Neurol Scand*. — 2000. — Vol. 102 (6). — P. 385-387.
 35. Korfiatis S., Stranjalis G., Boviatis E., Psachoulia C., Jullien G., Gregson B., Mendelow A.D., Sakas D.E. Serum S-100B protein monitoring in patients with severe traumatic brain injury // *Intensive Care Med*. — 2007. — Vol. 33. — P. 255 — 260
 36. Kosik K.S. The molecular and cellular biology of tau // *Brain Pathol*. — 1993. — 3 (1). — P. 39-43.
 37. Kovacs E., Luckl J., Bukovics P. et al. Update on protein biomarkers in traumatic brain injury with emphasis on clinical use in adults and pediatrics // *Acta Neurochir*. — 2010. — Vol. 152. — P. 1-17.
 38. Lenzlinger P.M., Marx A., Trentz O. et al. Prolonged intrathecal release of soluble Fas following severe traumatic brain injury in humans // *J Neuroimmunol*. — 2002. — Vol. 122 (1-2). — P. 167-174.
 39. McKeating E.G., Andrews P.J., Mascia L. Relationship of neuron specific enolase and protein S-100 concentrations in systemic and jugular venous serum to injury severity and outcome after traumatic brain injury // *Acta Neurochir Suppl*. — 1998. — Vol. 71. — P. 117 — 119.
 40. Missler U., Wiesmann M., Wittmann G. et al. Measurement of glial fibrillary acidic protein in human blood: analytical method and preliminary clinical results // *Clin Chem*. — 1999. — Vol. 45 (1). — P. 138 — 141.
 41. Moore B.W. A soluble protein characteristic of the nervous system // *Biochem. Biophys. Res. Comm*. — 1965. — Vol. 19. — P. 739-744.
 42. Muller K., Townend W., Biasca N. et al. S100B serum level predicts computed tomography findings after minor head injury // *J Trauma*. — 2007. — Vol. 62 (6). — P. 1452-1452.
 43. Newcomb J.K., Kampf A., Posmantur R.M. et al. Immunohistochemical study of calpain-mediated breakdown products to alpha-spectrin following controlled cortical impact injury in the rat // *J Neurotrauma*. — 1997. — Vol. 14 (6). — P. 369-383.
 44. Nylen K., Ost M., Csajbok L.Z. et al. Increased serum-GFAP in patients with severe traumatic brain injury is related to outcome // *J Neurol Sci*. — 2006. — Vol. 240 (1-2). — P. 85 — 91.
 45. Pelinka L.E., Hertz H., Mauritz W. et al. Nonspecific increase of systemic neuron-specific enolase after trauma: clinical and experimental findings // *Shock*. — 2005. — Vol. 24. — P. 119 — 123.
 46. Pelinka L.E., Kroepfl A., Leixnering M. et al. GFAP versus S100B in serum after traumatic brain injury: relationship to brain damage and outcome // *J Neurotrauma*. — 2004. — Vol. 21 (11). — P. 1553-1561.
 47. Pelinka L.E., Kroepfl A., Schmidhammer R. et al. Glial fibrillary acidic protein in serum after traumatic brain injury and multiple trauma // *J Trauma*. — 2004. — Vol. 57 (5). — P. 1006 — 1012.
 48. Petzold A., Keir G., Kerr M. et al. Early identification of secondary brain damage in subarachnoid hemorrhage: a role for glial fibrillary acidic protein // *J Neurotrauma*. — 2006. — Vol. 23 (7). — P. 1179-1184.
 49. Pineda J.A., Lewis S.B., Valadka A.B. et al. Clinical significance of alpha II-spectrin breakdown products in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury // *J Neurotrauma*. — 2007. — Vol. 24 (2). — P. 354 — 366.
 50. Raabe A., Kopetsch O., Woszczyk A. et al. Serum S-100B protein as a molecular marker in severe traumatic brain injury // *Restor Neurol Neurosci*. — 2003. — Vol. 21 (3-4). — P. 159-169.
 51. Ridinger K., Jig E.C., Niggli F.K. et al. Clustered organization of S-100 genes in human and mouse // *Biochim et Biophys Acta*. — 1998. — Vol. 1448 (2). — P. 254-263.
 52. Romner B., Ingebrigtsen T., Kongstad P., Borgesen S.E. Traumatic brain damage: serum S-100 protein measurements related to neuroradiological findings // *J Neurotrauma*. — 2000. — Vol. 17 (8). — P. 641-647.
 53. Rosengren L.E., Wikkelso C., Hagberg L. et al. A sensitive ELISA for glial fibrillary acidic protein: application in CSF of adults // *J Neurosci Methods*. — 1994. — Vol. 51 (2). — P. 197-204.
 54. Ross S.A., Cunningham R.T., Johnston C.F. et al. Neuron-specific enolase as an aid to outcome prediction in head injury // *Br J Neurosurg*. — 1996. — Vol. 10 (5). — P. 471-476.
 55. Rotherl R.D., Woertgen C., Brawanski A. S-100 serum levels and outcome after severe head injury // *Acta Neurochir Suppl (Wien)*. — 2000. — Vol. 76. — P. 97-100.
 56. Routsis C., Stamataki E., Nanas S. et al. Increased levels of serum S100B protein in critically ill patients without brain injury // *Shock*. — 2006. — Vol. 26 (1). — P. 20-24.
 57. Satchell M.A., Lay Y., Kochanek P.M. et al. Cytochrome c, a biomarker of apoptosis, is increased in cerebrospinal fluid from infants with inflicted brain injury from child abuse // *J Cereb Blood Flow Metab*. — 2005. — Vol. 25 (7). — P. 919-927.
 58. Savola O., Hillbom M. Early predictors of post-concussion symptoms in patients with mild head injury // *Eur J Neurol*. — 2003. — Vol. 10. — P. 175-181.
 59. Sawachi S., Taya K., Murakami S. et al. Serum S-100B protein and neuron-specific enolase after traumatic brain injury // *No Shinkei Geka*. — 2005. — Vol. 33. — P. 1073 — 1080.
 60. Sedaghat F., Notopoulos A. S100 protein family and its application in clinical practice // *Hippokratia*. — 2008. — Vol. 12 (4). — P. 198-204.
 61. Shaw G.J., Jauch E.C., Zemlan F.P. Serum cleaved tau protein levels and clinical outcome in adult patients with closed head injury // *Ann Emerg Med*. — 2002. — Vol. 39 (3). — P. 254-257.
 62. Skogseid I.M., Nordby H.K., Urdal P. et al. Increased serum creatine kinase BB and neuron specific enolase following head injury indicates brain damage // *Acta Neurochir (Wien)*. — 1992. — Vol. 115. — P. 106 — 111.
 63. Stoica B.A., Faden A.I. Cell death mechanisms and modulation in traumatic brain injury // *Neurotherapeutics*. — 2010. — Vol. 7(1). — P. 3 — 12.
 64. Tikka T.M., Koistinaho J.E. Minocycline provides neuroprotection against N-methyl-D-aspartate neurotoxicity by inhibiting microglia // *J Immunol*. — 2001. — Vol. 166 (12). — P. 7527-7533.
 65. Uzan M., Erman H., Tanriverdi T. et al. Evaluation of apoptosis in cerebrospinal fluid of patients with severe head injury // *Acta Neurochir (Wien)*. — 2006. — Vol. 148 (11). — P. 1157-1164.
 66. Vajtr D., Prusa R., Kukacka J. et al. Evaluation of relevance in concussion and damage of health by monitoring of neuron specific enolase and S-100b protein // *Soud Lek*. — 2007. — Vol. 52. — P. 43 — 46.
 67. van Geel W.J., de Reus H.P., Nijzing H. et al. Measurement of glial fibrillary acidic protein in blood: an analytical method // *Clin Chim Acta*. — 2002. — Vol. 326 (1-2). — P. 151-154.
 68. Volz A., Korge B.P., Compton J.C. et al. Physical mapping of a functional cluster of epidermal differentiation genes on chromosome 1q21 // *Genomics*. — 1993. — Vol. 18 (1). — P. 92-99.
 69. Vos P.E., Lamers K.J., Hendriks J.C. et al. Glial and neuronal proteins in serum predict outcome after severe traumatic brain injury // *Neurology*. — 2004. — Vol. 62 (8). — P. 1303-1310.
 70. Wang K.K., Posmantur R., Nath R. et al. Simultaneous degradation of alpha II- and beta II-spectrin by caspase 3 (CPP32) in apoptotic cells // *J Biol Chem*. — 1998. — Vol. 273 (35). — P. 22490-22497.
 71. Woertgen C., Rotherl R.D., Metz C., Brawanski A. Comparison of clinical, radiologic, and serum marker as prognostic factors after severe head injury // *J Trauma*. — 1999. — Vol. 47. — P. 1126 — 1130.
 72. Woertgen C., Rotherl R.D., Holzschuh M. Comparison of serial S-100 and NSE serum measurements after severe head injury // *Acta Neurochir (Wien)*. — 1997. — Vol. 139. — P. 1161 — 1164.
 73. Woertgen C., Rotherl R.D., Wiesmann M. Glial and neuronal serum markers after controlled cortical impact injury in the rat // *Acta Neurochir Suppl (Wien)*. — 2002. — Vol. 81. — P. 205-207.
 74. Yakovlev A.G., Faden A.I. Caspase-dependent apoptotic pathways in CNS injury // *Mol Neurobiol*. — 2001. — Vol. 24(1-3). — P. 131-144.
 75. Yamazaki Y., Yada K., Morii S. et al. Diagnostic significance of serum neuron-specific enolase and myelin basic protein assay in patients with acute head injury // *Surg Neurol*. — 1995. — Vol. 43 (3). — P. 267-270.
 76. Zemlan F.P., Jauch E.C., Mulchahey J.J. et al. C-tau biomarker of neuronal damage in severe brain injured patients: association with elevated intracranial pressure and clinical outcome // *Brain Res*. — 2002. — Vol. 947 (1). — P. 131-139.
 77. Zimmer D.B., Cornwall E.H., Landar A. et al. The S100 protein family: history, function, and expression // *Brain Res Bull*. — 1995. — Vol. 37 (4). — P. 417-429.