

*На правах рукописи*

**КОВТУН НАТАЛИЯ АЛЕКСАНДРОВНА**

**ЛАБОРАТОРНАЯ ВЕРИФИКАЦИЯ КЛЕТОЧНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ  
ГОЛОВНОГО МОЗГА С ПОМОЩЬЮ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БЕЛКОВ КРОВИ  
ПРИ ЛЕГКИХ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВЫХ ТРАВМАХ**

14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика

Автореферат  
Диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2021

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России

**Научный руководитель:**

**Бояринцев Валерий Владимирович** – д.м.н., профессор РАН

**Официальные оппоненты:**

**Кушлинский Николай Евгеньевич** - академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лаборатория клинической биохимии, заведующий;

**Цыган Николай Васильевич** - доктор медицинских наук, доцент, ФГБВОУ ВО "Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова" Министерства обороны Российской Федерации, кафедра нервных болезней, заместитель начальника.

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «26» октября 2021 года в 14:30 часов на заседании диссертационного совета Д 205.001.01 на базе ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197374, г. Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д. 54 и на сайте <https://www.nrcerm.ru>.

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат медицинских наук доцент

Санников Максим Валерьевич

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) ежегодно в мире от ЧМТ страдают 10 млн. человек, а погибает до 2 млн. человек, что представляет глобальную проблему здравоохранения, в будущем ЧМТ превзойдет многие заболевания как основную причину смерти и инвалидности [Hyder A.A et al., 2007]. Травматическое повреждение головного мозга, часто называемое «тихой эпидемией» [Hoffman S.W et al.,2011, Faul M.X et al.,2010], определяется как нейротравма, вызванная механическим воздействием на голову. Согласно клиническим рекомендациям, утвержденным Ассоциацией нейрохирургов России в 2016 году, лёгкая травма головного мозга (легкая черепно-мозговая травма, ЛЧМТ) – остро развившееся нарушение функции мозга, являющееся следствием тупого удара с внезапным ускорением, торможением или ротацией головы, при котором пациент при поступлении в стационар находится в ясном сознании или уровень бодрствования снижен до умеренного оглушения, при этом может отмечаться кратковременная потеря сознания (до 30 минут) и/или амнезия (до 24 часов) [Маркелова Е.В. с соавт.,2018].

В России ежегодно ЧМТ получают около 600 тыс. человек, из них 50 тыс. погибают, а еще 50 тыс. становятся инвалидами [Бывальцев В.А. с соавт., 2018].

Повреждения нервной ткани могут быть вызваны воздействием травматического (сотрясение, ушиб), сосудистого (ишемический или геморрагический инсульт, аневризма, мальформация), метаболического (атеросклероз, болезнь Альцгеймера), токсического (инфекции, отравления) характера, новообразованиями (киста, опухоль), нарушением ликвородинамики, а также неспецифическими (лейкоз, миелома) причинами.

Несмотря на более чем двадцатилетнюю историю существования интегральных систем оценки поражения нервной системы, систематизация повреждений нервной системы остается несовершенной. Шкала комы Глазго (GCS) служит надежным предиктором выживаемости пациентов, но не отражает лежащую в основе патологию головного мозга, потому что различные структурные аномалии могут давать сходную клиническую картину [Coronado V.G. et al., 2011; McMahon P. et al., 2014; Seth A. Seabury et al., 2018].

Комплекс симптомов, ассоциированный с легкой ЧМТ, носит в основном функциональный характер, поскольку стандартные исследования нейровизуализации не обнаруживают структурных отклонений, однако посмертный анализ головного мозга пострадавших, перенесших недавно ЧМТ, но умерших от нетравматических причин, выявил признаки повреждения аксонов. Отсутствие объективных

лабораторных параметров для выявления неврологического или психологического дефицита, который влияет на ежедневное функционирование, оставляет пострадавших с легкой ЧМТ практически без вариантов лечения [Wilde E. A. et al., 2008; Smits M. et al., 2011].

Вследствие гибели клеток головного мозга в сыворотку крови поступают нейротрофические факторы - вещества, основная функция которых заключается в регулировании жизнедеятельности нейронов и глиальных клеток [Buki A. et al., 2008, Johnson V.E. et al., 2012, Maxwell W.L. et al., 2003]. На данный момент лучше всего изучены нейротрофические факторы, которые схожи друг с другом по химической структуре [Bazarian J.J. et al., 2007, Kochanek P.M. et al., 2008, Metting Z. et al., 2012]. На основании современных данных выделяемые тканями поврежденного мозга белки могут быть использованы как маркеры [Papa L. et al., 2004; 2012; 2013; 2015].

К основным биомаркерам повреждений головного мозга относятся: белок S100 $\beta$ , локализующийся в цитоплазме нейронов; нейронспецифическая енолаза (NSE), также находящаяся в цитоплазме нейронов; Тау-белок – компонент цитоскелета (микротрубочек) аксонов; глиофибрилярный кислый протеин астроглии (GFAP) – мономерный промежуточный белок астроцитов; основной белок миелина (ОБМ), содержащийся в олигодендроцитах (миелиновая оболочка); фосфорилированный нейрофиламент Н (pNF-H), представляющий собой часть цитоскелета нейрона [Астахин А.В. с соавт., 2016, Потапов А.А. с соавт., 2016, Chabok S.Y. et al., 2012, Kieran Gillick et al., 2018, Shanling Mu et al., 2017, Vajtr D. et al., 2013].

На сегодняшний день определение белковых маркеров повреждения головного мозга не входят в раздел диагностики черепно-мозговой травмы (ЧМТ) и не нашли отражения в Стандартах специализированной медицинской помощи при внутричерепной травме (Приказ №635н от 7 ноября 2012г.) и в Клинических рекомендациях 2016 г., разработанных Ассоциацией нейрохирургов России, однако потребность в объективной лабораторной верификации клеточного повреждения мозга высока из-за социальной значимости данной проблемы [Taylor C.A. et al., 2017; Seth A. Seabury et al., 2018; Wenshuai Hou, 2019].

Развитие на основании клинико-лабораторных исследований теоретической базы, определение требований и показаний к условиям выявления Тау-белка, глиофибрилярного кислого протеина астроглии (GFAP), фосфорилированного нейрофиламента Н (pNF-H), установление предела изменения концентраций и определение диагностической информативности каждого из них отвечает главным задачам клинической лабораторной диагностики – объективному анализу состояния организма, выявлению отклонений от нормы и патологических нарушений в

деятельности центральной нервной системы (ЦНС), верификации диагноза, осуществлению лабораторного контроля за динамикой процесса, результатами лечения и реабилитации.

Таким образом, актуальность исследования обусловлена тем, что несмотря на большое количество опубликованных научных работ, по-прежнему, не хватает биомаркеров, одобренных для клинического применения у взрослых и детей [Papa L. et al., 2004;2012;2013;2015]. В настоящее время существует необходимость в оценке клинической значимости и внедрении определения биомаркеров клеточного повреждения мозга в клиническую практику [Galgano M. et al.,2017].

### **Степень разработанности проблемы**

Объективные лабораторные диагностические возможности у пострадавших с легкими ЧМТ ограничены, особенно на ранних стадиях после травмы [63, 70, 71]. В отличие от заболеваний органов, при которых быстрая диагностика с использованием биомаркеров в анализах крови является клинически необходимой для постановки диагноза и лечения, например, таких как ишемия миокарда или дисфункция почек и печени, быстрых и точных специфических лабораторных тестов для диагностики ЧМТ нет. За последнее десятилетие было проведено множество исследований, посвященных изучению перспективных биомаркеров [Kochanek P.M. et al., 2008, Papa L. et al., 2004; 2010; 2012;2013].

Так, например, известен способ диагностики ЧМТ у человека с использованием комбинации GFAP и UCH-L1 [Патент СА3067055А1 от 13.06.2019], предполагающий определение через 48 часов после травмы уровня фибриллярного кислого белка (GFAP) и уровня убиквитин-карбоксиконцевой гидролазы LI (UCH-L1) в образце крови. При этом определяют умеренную или тяжелую степень травмы. Отсутствие информации о диапазонах белков при легкой ЧМТ обуславливает высокую вероятность выбора неправильной тактики лечения при отсутствии дополнительных диагностических мероприятий.

Также известен способ определения ЧМТ с использованием белка Тау [Патент WO2019222554 от 21.11.2019], включающий проведение одной или нескольких реакций амплификации. Каждая реакция амплификации может включать определение измененного Тау-белка в биологическом образце. Недостатком данного способа является сложность проведения ПЦР исследования по сравнению с ИФА, неспецифичность Тау-белка для ЧМТ при однократном измерении.

Также известен способ диагностики ЧМТ [Патент US2019302127 от 03.10.2019], включающий глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP) в пробу, взятую у субъекта, взаимодействие с антителом против GFAP, а также оценку взаимодействия

GFAP и определенного участка аминокислотной последовательности антитела. Недостатком данного способа является относительно низкая чувствительность к ЧМТ, обусловленная использованием одного GFAP, что недостаточно для полноценной диагностики. Кроме того, описанный способ диагностики может занимать достаточно много времени, что может негативно сказаться на состоянии пациента.

Недостатки, относящиеся ко всем приведенным выше методам диагностики, заключаются в отсутствии всех трех белков (Tau, GFAP, pNF-H) в одном способе и отсутствии нацеленности способов на прогноз, исход.

Наиболее перспективными биомаркерами легкой черепно-мозговой травмы, являются: Tau-белок [Bazarian J.J. et al., 2006, Higuchi M. et al., 2002, Ma M. et al., 2008, Marklund N. et al., 2009], глиофибрилярный кислый протеин астроглии (GFAP) [Mondello S. et al., 2011, Mouser P.E. et al., 2006, Papa L., et al., 2012, Shanling M., et al., 2017] и фосфорилированный нейрофиламент Н (pNF-H) [Vajtr D. et al., 2018, Zurek J. et al., 2012].

### **Цель исследования**

Оценить клинико-диагностическую значимость белковых маркеров клеточного повреждения головного мозга для разработки алгоритма лабораторной верификации легких черепно-мозговых травм.

### **Задачи исследования**

1. Оценить изменение уровня белков крови: Tau-белок, GFAP, pNF-H у пострадавших с легкими черепно-мозговыми травмами; пациентов, перенесших плановые оперативные вмешательства на центральной нервной системе (хирургическая травма) и здоровых добровольцев (без признаков повреждения головного мозга).
2. Определить клиническое значение динамики уровней белков крови: Tau-белок, GFAP, pNF-H у пострадавших с легкими черепно-мозговыми травмами.
3. Сравнить клинико-диагностическую значимость лучевых и лабораторных методов диагностики легкой черепно-мозговой травмы.
4. Оценить прогностическую значимость концентрации белков крови: Tau-белок, GFAP, pNF-H у пострадавших с легкими черепно-мозговыми травмами.
5. Разработать клинико-диагностический алгоритм верификации клеточного повреждения головного мозга у пострадавших с легкими черепно-мозговыми травмами.

### **Научная новизна и теоретическая значимость**

Впервые комплексно изучена роль белковых маркеров (Tau-белок, GFAP и pNF-H) в качестве объективного лабораторного критерия верификации легкой ЧМТ.

Разработан способ диагностики черепно-мозговой травмы с использованием белковых биомаркеров, в ходе которого у пострадавшего берут сыворотку и методом ИФА измеряют концентрацию биомаркеров, в качестве которых используют GFAP, нейрофиламент Н и Тау-белок (Патент №2741227 «Способ диагностики черепно-мозговой травмы с использованием белковых биомаркеров» от 21.01.2021), что позволяет провести объективную лабораторную диагностику легких ЧМТ в 7-дневный период от момента получения травмы.

Сформирован комплексный клинико-лабораторный алгоритм верификации клеточного повреждения головного мозга у пациентов с черепно-мозговыми травмами в сочетании с возможностью дифференцировки степени тяжести повреждения и прогноза неблагоприятного исхода.

### **Практическая значимость**

Впервые показана различная динамика белков крови у пострадавших с легкими ЧМТ; пациентов, перенесших плановые оперативные вмешательства на центральной нервной системе (хирургическая травма) по сравнению с здоровыми добровольцами (без признаков повреждения головного мозга) в зависимости от сроков получения травмы, что вносит существенный вклад в понимание патогенеза клеточного повреждения мозга (естественный апоптоз - у здоровых, острое и хроническое повреждение – при ЧМТ и оперативных вмешательствах на центральной нервной системе).

Определены диапазоны концентраций биомаркеров (по Тау - 9,24-78,07 нг/мл, по GFAP - 7,17-51,03 нг/мл и pNF-H - 19,03-64,88 нг/мл), которые помогают в верификации легких ЧМТ независимо от результатов КТ.

Выявлены клинико-лабораторные факторы риска более тяжелого течения и неблагоприятного прогноза ЧМТ, а именно: увеличение концентрации биомаркеров в диапазоне Q4 (по Тау-белку >78,07 нг/мл, по GFAP- >51,03 нг/мл и pNF-H >64,88 нг/мл).

### **Методология и методы исследования**

Методологическая база исследования представляет собой комплексное использование лабораторных (биохимических, иммунохимических) и инструментальных (КТ, МРТ, ЭКГ) методов исследования для разработки клинико-диагностического алгоритма верификации клеточного повреждения мозга у пострадавших с легкими черепно-мозговыми травмами.

Дизайн исследований согласуется с принципами надлежащей клинической (GCP) и лабораторной (GLP) практик. Работа проводилась с соблюдением правил

научных исследований и основывалась на принципах медицинской этики (Протокол ЛЭК №16 от 03.09.2014). Теоретической и методологической основой исследования послужили фундаментальные и прикладные исследования отечественных и зарубежных ученых по данной проблеме, публикации в периодических изданиях.

В ходе проведения диссертационного исследования применялись следующие методы: ретроспективный (анализ историй болезни), аналитические (ИФА), статистические.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Повышенные уровни концентрации Tau-, GFAP- и pNF-H-белков у пациентов с верифицированным диагнозом легкой черепно-мозговой травмы по сравнению со здоровыми добровольцами подтверждают роль исследуемых биомаркеров в патогенезе клеточного повреждения головного мозга.

2. Определение повышенной концентрации Tau-, GFAP- и pNF-H-белков в 1-2 сутки от получения травмы позволяет верифицировать диагноз легкой черепно-мозговой травмы независимо от результатов компьютерной томографии головного мозга и рекомендовать их определение в клиническую практику в качестве метода лабораторной диагностики.

3. Новый клинико-лабораторный алгоритм верификации диагноза с учетом оценки динамики концентраций белков Tau-, GFAP- и pNF-H в зависимости от сроков получения травмы может применяться для диагностики тяжести черепно-мозговой травмы и определения риска неблагоприятного исхода.

### **Степень достоверности и апробация работы**

Достоверность полученных результатов обусловлена репрезентативностью выборки, комплексными методами исследования, позволившими достичь поставленных задач. Достоверность полученных результатов обусловлена соблюдением правил отбора образцов для определения биомаркеров клеточного повреждения мозга (Tau-, GFAP- и pNF-белков в динамике), с использованием валидированного метода количественного анализа биообразцов, применением адекватных методов биомедицинской статистики, согласованностью с результатами опубликованных ранее исследований, теоретическим обоснованием полученных экспериментальных данных.

Практическая часть исследования включает в себя 726 исследований методом ИФА, 121 исследование методами КТ и ЭКГ, 1089 исследований с использованием гематологических, биохимических методов лабораторной диагностики.



Результаты исследования на разных этапах работы представлены на конференциях: VII Российский конгресс лабораторной медицины (2021 г.), Антидопинговые аспекты медицинского сопровождения спортсменов (2021г), Вехи истории Российского центра судебно-медицинской экспертизы. К 90-летию со дня образования (2021 г.).

#### **Внедрение результатов диссертации в практику**

Практические рекомендации, разработанные по результатам диссертационного исследования, используются в клинической практике ФГБУ «Клиническая больница №1» Управления делами Президента РФ. Материалы диссертации используются в учебных программах на кафедрах скорой медицинской помощи, неотложной и экстремальной медицины; семейной медицины с курсами клинической лабораторной диагностики, психиатрии и психотерапии ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента РФ при чтении лекций на циклах повышения квалификации. Результаты исследования внедрены в работу отдела лабораторной диагностики ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М.Никифорова» МЧС России.

Публикации. По теме исследования опубликованы 7 печатных работ. 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауке России и аффилированных по специальности 14.03.10 – Клиническая лабораторная диагностика. Получен Патент №2741227 «Способ диагностики черепно-мозговой травмы с использованием белковых биомаркеров» от 21.01.2021 г.

Личный вклад автора. Автором самостоятельно проведен поиск и анализ зарубежных и отечественных источников литературы по теме работы. Вклад автора заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования количественного определения содержания Тау-белка, GFAP и pNF-H в крови пациентов, решения поставленных задач, обсуждения результатов, составлении практических рекомендаций. Автору принадлежит ведущая роль в проведении экспериментальных исследований на всех его этапах. При написании диссертационной работы автором лично выполнены сбор первичных данных, анализ и обобщение полученных результатов, формулировка выводов и практических рекомендаций, оформление рукописи.

#### **Соответствие диссертации Паспорту научной специальности**

Диссертационное исследование, изучающее вопросы оценки лабораторно-диагностической значимости белковых маркеров клеточного повреждения мозга для разработки алгоритма клинико-диагностической верификации легких ЧМТ,

соответствует паспорту специальности 14.03.10 – Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки) и областям исследования: пунктам 1, 2, 7.

Объем и структура диссертации. Основное содержание работы изложено на 142 страницах, содержит 22 рисунка и 15 таблиц, 4 Приложения. Диссертация состоит из введения и четырех глав, включая литературный обзор, и 4-х приложений на 16 страницах. Список цитированной литературы содержит 183 наименований, в том числе 177 зарубежных публикаций.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы**

Диссертационная работа проводилась на базе Клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «Клиническая больница №1» Управления делами Президента РФ по разрешению Локального Этического Комитета (Протокол ЛЭК №16 от 03.09.2014).

Дизайн исследования. Проспективное сравнительное исследование пациентов, разделенных по группам наблюдения: пострадавшие с легкой черепно-мозговой травмой (основная группа); пациенты, перенёвшие плановое оперативное вмешательство на центральной нервной системе (ЦНС) (группа сравнения); здоровые добровольцы (контрольная группа).

Согласно клиническим рекомендациям, утвержденным Ассоциацией нейрохирургов России в 2016 году, легкая черепно-мозговая травма - это остро развившееся нарушение функции мозга, являющееся следствием тупого удара, при котором пациент находится в ясном сознании или уровень бодрствования снижен, может отмечаться кратковременная потеря сознания и/или амнезия. Таким образом, на сегодняшний день объективные критерии постановки диагноза отсутствуют.

Поскольку работа посвящена специальности «Клиническая лабораторная диагностика» целью наблюдения основной группы является оценка диагностической и прогностической значимости исследуемых белков. Целью наблюдения группы сравнения является оценка диагностической чувствительности исследуемых белков. Целью наблюдения группы здоровых добровольцев является оценка диагностической специфичности исследуемых белков.

Для подтверждения роли биомаркеров (Tau-белок, GFAP, pNF-H) в диагностике ЧМТ было проведено исследование сыворотки крови для определения концентрации маркеров в динамике в первые сутки (1 проба), на следующий день (2 проба) и на 7-й день (3 проба) – для основной и контрольной групп, а для группы сравнения были выполнены два взятия крови: за сутки до оперативного вмешательства (1 проба) и на следующий день после оперативного вмешательства на ЦНС (2 проба).

Взятие крови (1, 2, 3 проба) соответствовало срокам получения черепно-мозговой травмы в основной группе. Сроки взятия биоматериала для исследования отличаются от общепринятых (1,3,7 сутки), поскольку обусловлены скоростью метаболизма исследуемых белков. Так, по данным литературы, уровень Тау-белка возвращается к нормальным значениям через сутки после травмы, pNF-H – к 5-7 дню, а GFAP – через месяц после травмы.

**Характеристика пациентов, включенных в исследование.** В проспективное сравнительное исследование после подписания информированного согласия были включены 121 человек разного пола, из которых 77 пострадавших с легкой ЧМТ (основная группа), 14 пациентов, перенесших плановое оперативное вмешательство на ЦНС (группа сравнения) и 30 здоровых добровольцев (контрольная группа).

Критерии включения в исследование были следующие - пострадавшие с верифицированным диагнозом легкой ЧМТ; пациенты, перенесшие плановое оперативное вмешательство на ЦНС; добровольцы без соматической патологии; возраст старше 18 лет; пациенты без сопутствующей патологии в стадии обострения; пациенты без клинически значимых отклонений в параметрах (лабораторных, инструментальных), отражающих общее состояние организма. Критериями исключения являлись пострадавшие с тяжелыми ЧМТ; тяжелая печеночная или почечная недостаточность (клиренс креатинина < 30 мл/мин); пациенты с тяжелой сердечно-сосудистой недостаточностью; детский возраст до 18 лет.

Верифицированные клинические диагнозы извлекались из историй болезни пациентов и медицинской информационной системы (МИС) «Портал». Обобщенные данные выборки представлены в таблице 1.

**Лабораторно-диагностические методы исследования.** Взятие крови для определения исследуемых маркеров (Тау-, GFAP-, pNF-белков) в динамике и уровня основных лабораторных показателей, отражающих общее состояние пациента, осуществлялось из локтевой вены. Для взятия крови использованы пробирки Greiner Bio-One Vacuette (Greiner Bio-One, Австрия) на 3 мл с ЭДТА (этилендиаминтетраацетат калия 3) и на 5 мл с активатором свертывания (диоксид кремния (SiO<sub>2</sub>) (CAT Serum Clot Activator)). Для получения сыворотки цельную кровь центрифугировали в течение 10 минут (3000 об/мин). Измерение уровня концентрации исследуемых биомаркеров проводили с использованием ИФА (иммуноферментный анализ). ИФА проводился с использованием следующего оборудования: планшетный ридер LABSYSTEMS iEMS Reader MF, Thermo Fisher Scientific (Финляндия), инкубатор-шейкер для микропланшетов iEMS, Thermo Fisher Scientific (Финляндия), устройство для промывки микропланшетов PW 40 BioRad (Финляндия).

Таблица 1

## Обобщенные данные выборки групп наблюдения

характеристики и клинические исходы	основная группа (n=77)	группа сравнения (n=14)	P по сравнению с основной группой	контрольная группа (n=30)	P по сравнению с основной группой
<b>Общие характеристики:</b>					
Возраст (M±SD)	50,84±22,03	53,86±16,05	0,204	33,87±6,85	<0,001
Пол (% мужчин)	50,65	50	0,65	50	0,65
<b>Лабораторные показатели (M±SD):</b>					
Глюкоза (4,1-6,4 ммоль/л)	5,94±1,62	6,31±2,07	0,19	5,99±2,59	<b>0,0011</b>
Альбумин (35-52 г/л)	37,01±6,38	36,2±5,31	0,958	37,9±4,65	0,797
Общий билирубин (< 21 мкмоль/л)	14,12±7,64	9,33±4,75	0,103	10,56±6,36	0,286
АЛТ (< 50 ед/л)	25,43±29,8	27,64±19,90	0,163	45,77±52,75	<0,001
АСТ (< 40 ед/л)	31,55±44,6	16,45±5,28	<0,001	36,77±63,03	<b>0,0172</b>
Мочевина (2,8-8,1 ммоль/л)	5,58±2,21	6,49±2,17	0,971	4,55±1,126	<b>0,00014</b>
Креатинин (44-115 мкмоль/л)	90,43±19,4	78,0±8,74	<b>0,00603</b>	87,43±14,23	0,0638
ЛДГ (< 450 ед/л)	433,9±312,8	662,5±392,44	0,436	815,29±1760,8	<0,001
КФК (< 308 ед/л)	561,4±1073,1	193,0±49,497	0,0731	513,61±1539,9	0,0642
Общий белок (64-87 г/л)	68,64±7,16	65,45±8,51	0,382	70,89±5,195	0,0631
<b>Выявленная патология при инструментальных исследованиях (абс.ч./%):</b>					
ЭКГ	8 (10,39)	3 (21,43)	<0,05	4 (13,33)	>0,05
МРТ	4 (5,19)	1 (7,14)	>0,05	1 (3,33)	>0,05
КТ	21 (27,27)	14 (100,0)	<0,05	0 (0)	<0,05
<b>Клинические исходы (абс.ч./%):</b>					
28-дн. летальность	2 (2,6)	1 (7,14)	>0,05	0 (0)	>0,05
Летальность >28 дней	1 (1,3)	0 (0)	>0,05	0 (0)	>0,05
Благоприятный	74 (96,1)	13 (92,86)	>0,05	30 (100)	>0,05

ИФА проводился с использованием следующих тест-систем: набор GFAP ELISA «Набор для определения глиофибрилярного кислого протеина (GFAP) человека методом ИФА» (BioVendor); набор pNF-H ELISA «Набор для определения фосфорилированных нейрофиламентов человека методом ИФА» (BioVendor); набор Ну Тау «Иммуноферментный набор для определения человеческого Тау (нативного и рекомбинантного)» (Invitrogen).

Измерение и анализ лабораторных данных, отражающих общее состояние пациента (общий анализ крови (ОАК), глюкоза, общий билирубин, АСТ, АЛТ, общий белок, мочевины, креатинин) проводились с использованием автоматических анализаторов (Sysmex XT-4000i (Япония), Konelab 30i, Thermo Fisher Scientific (Финляндия), COBAS INTEGRA 400 plus, Roche Diagnostics (Швейцария)) и ЛИС «Алтэй». Измерение лабораторных показателей, отражающих общее состояние пациента, проводилось с использованием наборов реагентов производства Sysmex, Thermo Fisher Scientific, Roche.

Сбор данных по другим методам диагностики (КТ, МРТ, ЭКГ) проводился с помощью анализа историй болезни, где отражены протоколы проведенных исследований, МИС «Портал».

#### **Статистическая обработка результатов**

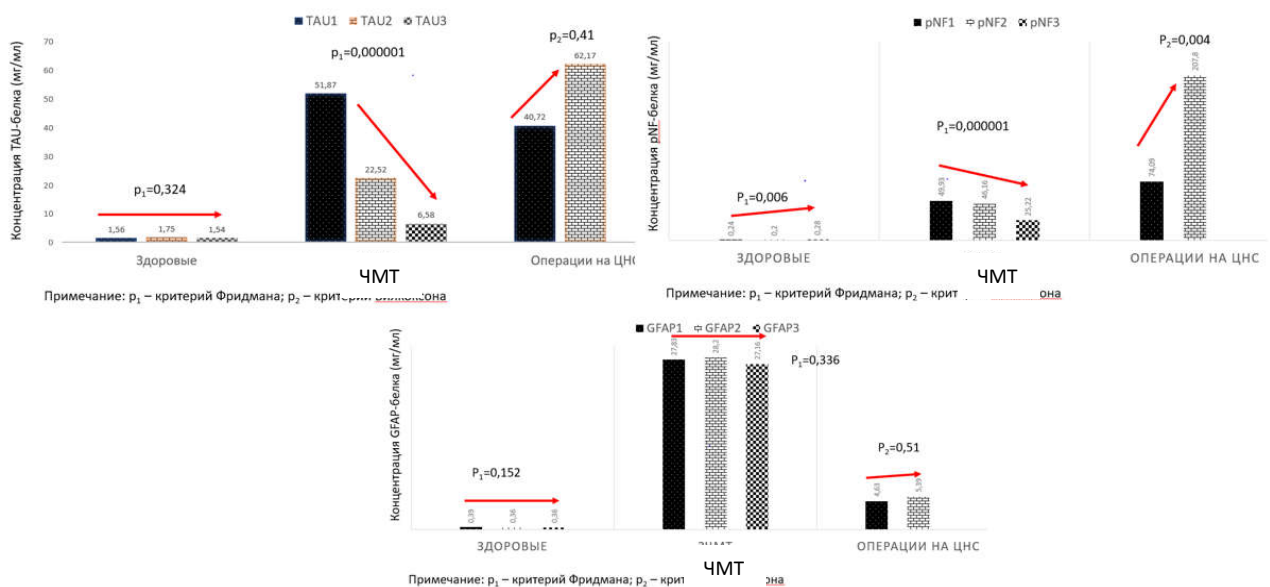
В связи с наличием трёх групп наблюдения, а также измеряемых (количественных) и неизмеряемых (качественных) параметров использовались различные статистические методы. Проведена оценка всех исследуемых клинико-лабораторных показателей в трех группах наблюдения последовательно: основная группа сравнивалась с контрольной группой (с использованием критерия Фишера), затем производилось сравнение в трех группах с использованием критериев Фридмана и Крускала-Уоллиса. Для парных наблюдений использовался критерий Уилкоксона. Ранговый коэффициент корреляции Спирмена использовался для анализа корреляции между изменениями различных уровней биомаркеров после ЧМТ. Линейный регрессионный анализ использовался для прогноза тяжести ЧМТ по уровням биомаркеров. Площадь под характеристической кривой (AUC) рассчитана для всех биомаркеров у пострадавших с ЧМТ против изменений биомаркеров в группе пациентов, перенесших плановое оперативное вмешательство на ЦНС и здоровых добровольцев.

Статистическая значимость определена при  $P < 0,05$ . Все статистические расчеты были выполнены с использованием программного обеспечения SPSS версии 20.0 и GraphPad Prism версии 5.0 (GraphPad Inc).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Оценка показателей концентрации биомаркеров клеточного повреждения мозга (Tau-, GFAP- и pNF-H-белков в динамике) в трех группах наблюдения

При проведении оценки показателей концентраций изучаемых биомаркеров (Tau-, GFAP- и pNF-H-белков) в динамике в основной и контрольной группах (без клеточного повреждения мозга) было обнаружено, что показатели всех трех белковых маркеров клеточного повреждения мозга статистически значимо выше в группе пострадавших с легкими ЧМТ, но демонстрируют различную динамику значений концентрации между пробами (в зависимости от времени, прошедшего с момента травмы). Наиболее динамичными статистически значимыми показателями обладал Tau-белок и в меньшей степени pNF-H-белок, а GFAP-белок практически не претерпел динамических изменений. Кроме того, нами выявлены статистически значимые различия в данных группах наблюдения по показателям уровня глюкозы, АЛТ, АСТ, мочевины и ЛДГ. Так, в основной группе у пострадавших с легкой ЧМТ статистически значимо преобладали высокие показатели глюкозы ( $p=0,001$ ) и мочевины ( $p=0,0001$ ), однако показатели АЛТ, АСТ, а также ЛДГ ( $p<0,0001$ ) были статистически значимо ниже, чем в контрольной группе (здоровые добровольцы). Повышенные показатели глюкозы и креатинина могут косвенно подтверждать тяжесть течения ЧМТ, что соотносится с данными литературы.

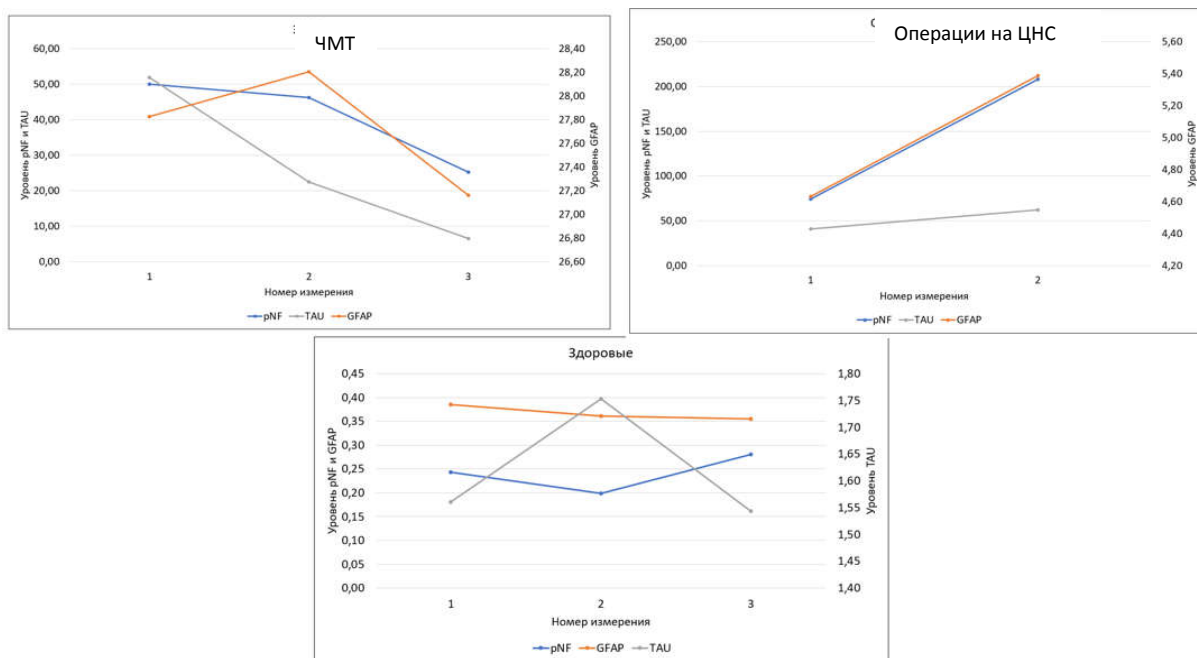


**Рисунок 1.** Оценка динамики концентраций Тау-белка по средним значениям в трех группах наблюдения: пострадавшие с легкой черепно-мозговой травмой; пациенты, перенёсшие плановое оперативное вмешательство на центральной нервной системе; здоровые добровольцы (стрелкой указаны разнонаправленные тренды динамики концентраций).

Сравнение полученных результатов определения значений концентрации изучаемых биомаркеров (Тau-, GFAP- и pNF-H-белков), а также их динамики по пробам (в зависимости от срока получения травмы) во всех трех группах наблюдения (пострадавшие с легкой черепно-мозговой травмой; пациенты, перенёвшие плановое оперативное вмешательство на центральной нервной системе; здоровые добровольцы) демонстрирует существенные доказательства подтверждения роли данных белковых маркеров в возможности оценки клеточного повреждения мозговой ткани (Рис.1).

В основной группе и группе сравнения отмечается статистически значимое увеличение концентраций всех трех биомаркеров мозгового клеточного повреждения. Однако при анализе динамики концентраций в трех группах наблюдения статистически значимые различия получены только для двух белков – Tau- и pNF-H-белка, что свидетельствует о более стойком содержании GFAP-белка в крови при травматических повреждениях головного мозга.

Также проведена оценка динамики исследуемых биомаркеров клеточного повреждения головного мозга в каждой группе наблюдения (Рис.2). Так в группе пациентов без признаков повреждения головного мозга (контрольная группа), отмечается незначительная динамика низких показателей концентраций Tau-, GFAP- и pNF-H-белков, что подтверждает наличие процессов апоптоза в неповрежденной мозговой ткани.



**Рисунок 2.** Динамика концентраций Tau-, GFAP- и pNF-H-белков в трех группах наблюдения. Номер измерения: 1,2,7 сутки после травмы (основная группа), 1,2,7 сутки наблюдения (контрольная группа), 1 сутки до и в течение 1 суток после операции (группа сравнения)

В основной группе отмечается выраженная динамика всех трех изучаемых биомаркеров: однонаправленная для Tau- и pNF-H-белков, причем с более резким снижением концентрации Tau-белка; и разнонаправленная для GFAP-белка с повышением концентрации во 2-й пробе (на 2 сутки после травмы) и снижением в 3-й пробе (на 7 сутки после травмы).

В группе сравнения (пациенты, перенёвшие плановое оперативное вмешательство на ЦНС) выявлено повышение концентраций всех исследуемых белковых маркеров клеточного повреждения мозга, более выраженное для pNF-H- и GFAP-белков и менее выраженное для Tau-белка.

### **Сравнение изучаемых клиничко-диагностических параметров в трех группах наблюдения (результаты многофакторного анализа)**

По результатам проведенного многофакторного анализа не выявлено статистически значимых различий по ряду клиничко-диагностических параметров в зависимости от групп наблюдения и клинических исходов, а именно: влияния пола, наличия патологии на ЭКГ и МРТ. По параметрам наличия/отсутствия патологии на КТ головного мозга в группах наблюдения и клиническим исходам обнаружены статистически значимые различия ( $p=0,000048$  и  $p=0,011$  соответственно).

Так, по данным литературы КТ, как инструментальный метод диагностики, предназначенный для визуализации повреждений головного мозга, имеет субъективный характер, т.к. зависит от квалификации и опыта врача, проводящего и дающего заключение по исследованию. В нашем исследовании при проведении КТ головного мозга при легких ЧМТ патология была выявлена только в 27,3% случаев в отличие от пациентов, перенёвших плановое оперативное вмешательство на ЦНС, у которых закономерно, патология отмечалась в 100% случаев, что подтверждает существующие в клинической практике сложности диагностики и объективизации легких ЧМТ.

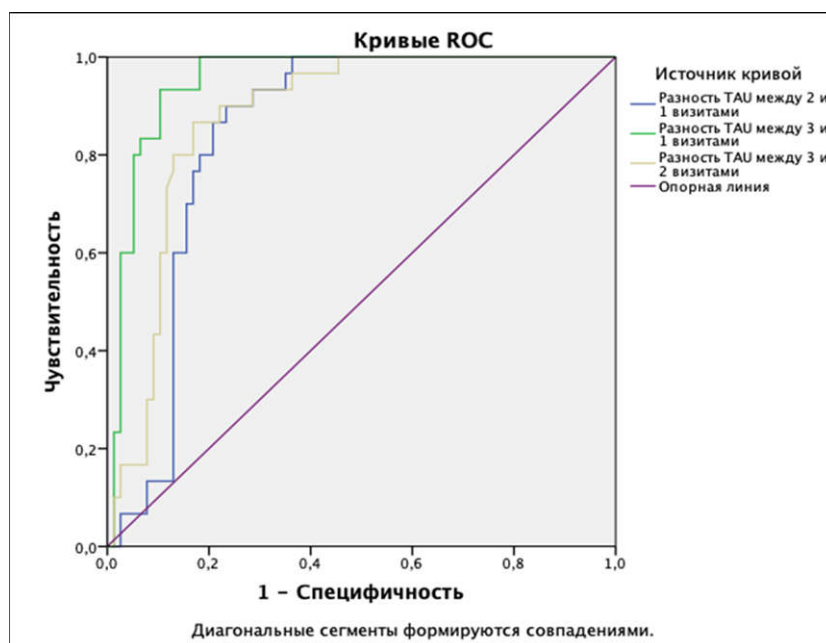
При анализе КТ головного мозга в зависимости от клинических исходов патология нами была выявлена в 36,4% случаев при благоприятном исходе и в 100% - при летальном исходе, что косвенно свидетельствует о более точной диагностике при использовании КТ у пациентов с признаками клеточного повреждения мозга более тяжелого течения заболевания, однако по причине малочисленности группы с летальным исходом ( $n=4$ ) утверждать данный факт не представляется возможным. С другой стороны слишком малый процент выявленной патологии на КТ у пациентов с исходом в улучшение подтверждает трудности объективизации легких ЧМТ при использовании данного диагностического метода.



Сопоставление полученных данных с анализом значений концентрации исследуемых биомаркеров в зависимости от клинических исходов выявило статистически значимое преобладание высоких концентраций Tau-, GFAP- и pNF-H-белков в группе летального исхода ( $p < 0,05$ ). Это свидетельствует о более высоких уровнях концентрации данных биомаркеров у пациентов с признаками клеточного повреждения мозга более тяжелого течения ЧМТ. По разности концентраций между пробами, взятыми в различные сроки после травмы, также были получены статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) по всем разностям концентраций между пробами (2 и 1: вторые и первые сутки после травмы, 3 и 1: седьмые и первые сутки после травмы, 3 и 2: седьмые и вторые сутки после травмы), что подтверждает данное предположение.

### **Результаты ROC-анализа по оценке чувствительности /специфичности метода определения биомаркеров клеточного повреждения головного мозга (Tau-, GFAP- и pNF-H-белков)**

В результате проведения ROC-анализа установлено, что статистически достоверную предиктивную значимость для отсутствия ЧМТ имеет разность концентрации Tau между 1, 2 и 3 измерениями, что подтверждает роль данного белкового маркера в патогенезе клеточного повреждения мозга по причине его минимального количества и отсутствия динамики за период наблюдения в крови у наблюдаемых без признаков клеточного повреждения мозга (Рис.3).



**Рисунок 3.** Результаты ROC-анализа для оценки предиктивной роли изменений концентрации Tau-белка в отношении пациентов без признаков клеточного повреждения головного мозга (контрольная группа).

## **Определение диапазонов концентраций изучаемых биомаркеров клеточного повреждения мозга (Tau-, GFAP- и pNF-H-белков) в группе пострадавших с легкими ЧМТ**

Далее была проанализирована частота встречаемости пострадавших с легкими ЧМТ в зависимости от диапазона концентрации изучаемых биомаркеров. Разделив весь диапазон концентраций от минимального до максимального значений по каждому белковому маркеру на 4 квартиля (Q1, Q2, Q3, Q4), провели сравнение по трем блокам квартилей: Q1, Q2-3 и Q4.

Таким образом, определен диапазон концентраций при первичном измерении (в первые сутки после получения травмы) Tau -, GFAP- и pNF-H-белков по квартилям для диагностики легких ЧМТ: по Tau - 9,24-78,07 нг/мл, по GFAP- 7,17-51,03 нг/мл и по pNF-H- 19,03-64,88 нг/мл. Увеличение концентрации в диапазоне Q4 свидетельствует о более тяжелой степени ЧМТ и риске неблагоприятного исхода, а именно: по Tau - >78,07 нг/мл, по GFAP- >51,03 нг/мл и по pNF-H- >64,88 нг/мл.

В результате проведенного анализа обнаружено, что Q2-3 имеет максимальную распространенность среди пострадавших основной группы по всем трем изучаемым биомаркерам, а именно: по Tau -белку в 50,22%, по GFAP- белку в 50,65% и по pNF-H-белку в 53,25% случаев. А распространенность квартилей Q1 и Q4 заметно снижается и составляет по всем биомаркерам от 22,07% до 25,97%. Таким образом, исходя из распределения пострадавших с легкими ЧМТ по квартилям концентрации и преобладания проб с диапазоном концентраций Q2-3 по всем трем изучаемым биомаркерам, можно заключить, что легкие ЧМТ лежат в диапазоне концентраций Q1-Q2-3 всех трех исследованных биомаркеров.

## **Оценка изучаемых клинико-диагностических параметров в трех блоках сравнения по квартилям концентрации (результаты многофакторного анализа: качественного и количественного)**

При проведении многофакторного качественного анализа белковых маркеров клеточного повреждения мозга, разделенных по квартилям концентрации на три блока (Q1, Q2-3, Q4) и КТ показателей (патология есть/нет), а также клинических исходов (улучшение или летальный исход) с использованием таблиц сопряженности и определением  $\chi^2$  Пирсона нами были получены статистически значимые различия выборочно по исследуемым белковым маркерам и их концентрациям в зависимости от времени взятия крови с момента травмы.

Так результаты сравнения непараметрических данных КТ при оценке биомаркера GFAP2 в зависимости от уровня его концентрации в крови ( $p=0,019$ ) подтверждают предположение о том, что высокие концентрации данного биомаркера

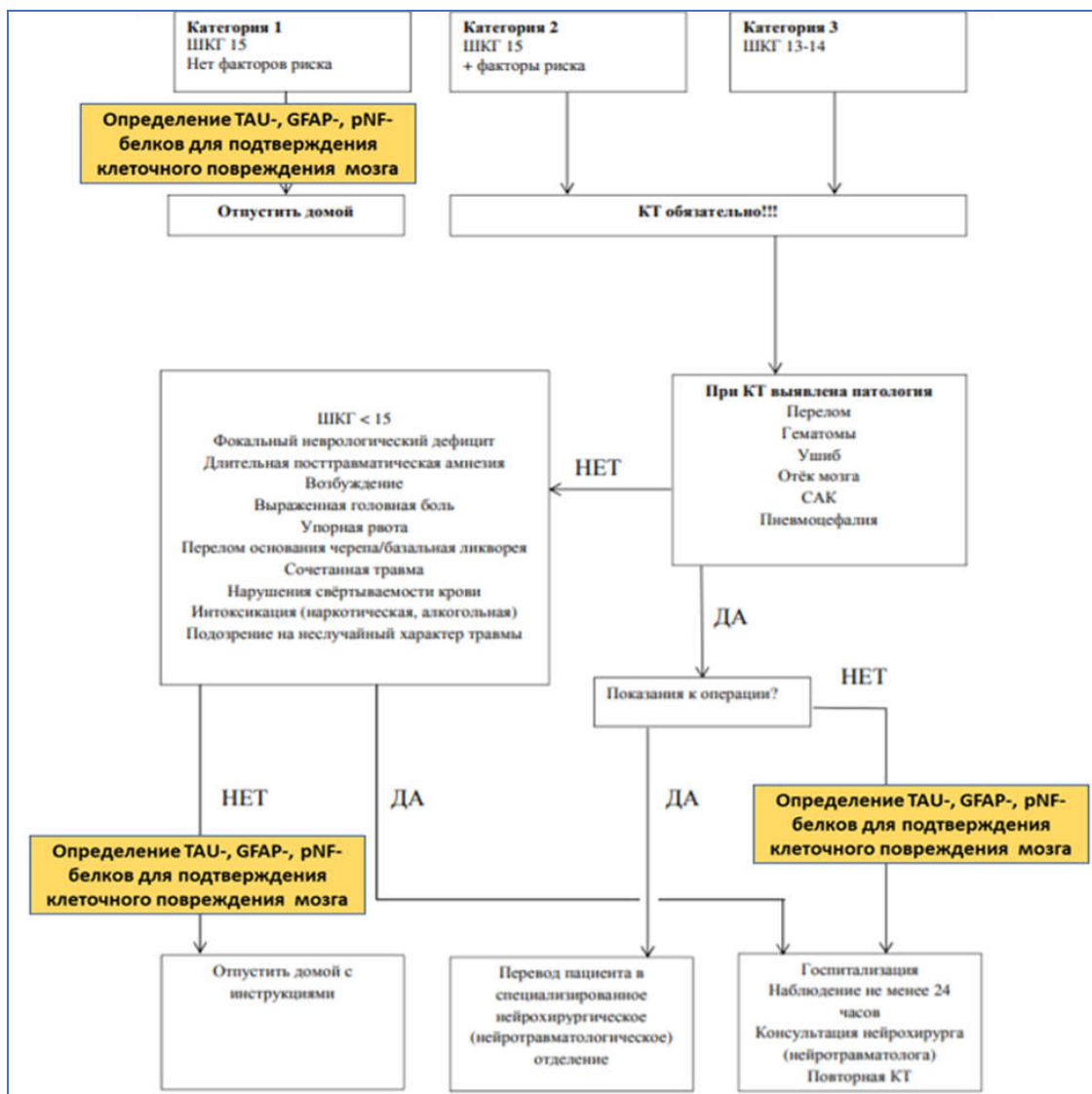
коррелируют с наличием подтвержденной патологии на КТ, а чем меньше уровень концентрации белка GFAP2, тем чаще отсутствует подтверждение патологии на КТ. Схожие статистически значимые результаты были получены при сравнении непараметрических данных КТ при оценке биомаркера GFAP3 в зависимости от уровня его концентрации в крови ( $p=0,021$ ).

Затем мы сопоставили уровни концентраций исследуемых биомаркеров по квартилям в зависимости от клинических исходов и получили статистически значимые различия по всем биомаркерам клеточного повреждения, но выборочно по времени взятия крови. Так при анализе концентрации TAU2 были выявлены статистически значимые различия при сравнении обоих клинических исходов: улучшение и летальный исход ( $p=0,009$ ). При исходе с улучшением преобладали концентрации данного белкового маркера в Q1 и Q2-3 в 100% и несколько меньше в Q4 в 84,2% случаев, тогда как при летальном исходе концентрации данного белкового маркера были только в Q4 (15,8% случаев). Аналогичная картина обнаружена при анализе концентрации TAU3, GFAP3, pNF-H1 и pNF-H2, где также были получены статистически значимые различия ( $p=0,009$ ) со схожими процентными показателями, что подтверждает тенденцию определения более высоких концентраций белков клеточного повреждения мозга при более тяжелых ЧМТ, однако из-за малочисленности выборки требует дальнейшего изучения.

При проведении многофакторного количественного анализа белковых маркеров клеточного повреждения мозга, разделенных по квартилям концентрации на три блока и клиничко-лабораторных показателей с использованием критерия Фридмана были обнаружены статистически значимые различия между блоками квартилей концентраций, а именно: по возрасту (прямая зависимость) – чем старше возраст, тем выше концентрация биомаркеров: TAU1 ( $p=0,024$ ), TAU2 ( $p=0,001$ ) TAU3 ( $p=0,0000194$ ), GFAP1 ( $p=0,008$ ), GFAP2 ( $p=0,009$ ), pNF-H2 ( $p=0,009$ ), pNF-H3 ( $p=0,001$ ); по уровню глюкозы (прямая зависимость) – чем выше уровень глюкозы, тем выше концентрация биомаркеров: TAU2 ( $p=0,009$ ) TAU3 ( $p=0,00027$ ), GFAP1 ( $p=0,007$ ), GFAP2 ( $p=0,009$ ), GFAP3 ( $p=0,001$ ), pNF-H2 ( $p=0,008$ ), pNF-H3 ( $p=0,001$ ); по уровню альбумина (обратная зависимость) – чем выше уровень альбумина, тем ниже концентрация биомаркеров: GFAP3 ( $p=0,045$ ), pNF-H3 ( $p=0,008$ ); по уровню креатинина крови (прямая зависимость) – чем выше уровень креатинина, тем выше концентрация биомаркера: pNF-H2 ( $p=0,033$ ); по уровню диастолического артериального давления (ДАД) (обратная зависимость) – чем выше ДАД, тем ниже концентрация биомаркера: GFAP1 ( $p=0,043$ ), GFAP2 ( $p=0,034$ ).

## Разработка клиничко-лабораторного алгоритма верификации клеточного повреждения мозга у пострадавших с легкими ЧМТ

По результатам проведенного исследования биомаркеров легких черепно-мозговых травм: TAU-, GFAP-, pNF-H- нами предложен новый клиничко-лабораторный алгоритм диагностики клеточного повреждения мозга (рисунок 4).



**Рисунок 4.** модифицированный клиничко-лабораторный алгоритм верификации легких черепно-мозговых травм

Алгоритм позволяет вне зависимости от результатов оценки состояния сознания, наличия или отсутствия неврологического дефицита и подтверждения повреждения головного мозга на КТ верифицировать черепно-мозговые травмы в 7-ми дневный период от момента получения травмы и определить прогноз заболевания. Пострадавшим с ЧМТ Категории 1 (ШКГ 15 и нет факторов риска) рекомендуется провести определение концентрации Tau-, GFAP-, pNF-H-белков в крови и, если концентрации исследуемых белков будут в пределах Q1, а именно: по Tau- < 9,24

нг/мл, по GFAP < 7,17 нг/мл и по pNF-H- < 19,03 нг/мл, то пострадавший может быть отпущен домой с рекомендациями по соблюдению покоя и ведению здорового образа жизни. Аналогичные рекомендации применимы и для пострадавших Категории 2 (ШКГ 15 + факторы риска) и Категории 3 (ШКГ 13-14) при отсутствии патологии на КТ и неврологическом обследовании, а также при отсутствии показаний к операции. Если же концентрации исследованных белков окажутся в пределах Q2-3 и выше, а именно: Тау- 9,24-78,07 нг/мл, GFAP- 7,17-51,03 нг/мл и pNF-H- 19,03-64,88 нг/мл, то необходима госпитализация пострадавшего для наблюдения (не менее 24 часов) и уточнения диагноза (КТ, МРТ, консультация нейрохирурга (нейротравматолога). Полученные нами данные о динамике концентрации Тау-, GFAP-, pNF-H-белков в крови позволяют верифицировать клеточное повреждение головного мозга в течение первых 7 дней после получения травмы. Наиболее полная оценка тяжести повреждения, а также прогноз течения заболевания могут быть получены в 1 или 2 день нахождения пациента в стационаре, т.е. в минимальные сроки от момента получения травмы, особенно для двух белков Тау- и pNF-H-, которые подвергаются выраженной статистически значимой динамике в отличие от GFAP-белка, который практически не подвергается динамике в указанный период времени.

## ВЫВОДЫ

1. Установлено, что у пострадавших с легкой черепно-мозговой травмой и пациентов, перенесших плановое оперативное вмешательство на центральной нервной системе, концентрации всех трех изучаемых биомаркеров (TAU, GFAP и pNF-H), статистически значимо выше референсных значений, в отличие от группы здоровых добровольцев, не имеющих признаков клеточного повреждения мозга.

2. Установлено, что в семидневный период в зависимости от срока получения травмы, при легких черепно-мозговых травмах наблюдается снижение уровня значений концентрации всех исследованных биомаркеров, более выраженное для TAU-белка (в основной группе  $\Delta=45,29$  нг/мл; в контрольной группе  $\Delta=0,02$  нг/мл, ( $p<0,05$ )), в меньшей степени - для pNF-H-белка (в основной группе  $\Delta=24,71$  нг/мл; в контрольной группе  $\Delta=0,04$  нг/мл, ( $p<0,05$ )) и практически не выраженное для GFAP-белка (в основной группе  $\Delta=0,67$  нг/мл; в контрольной группе  $\Delta=0,03$  нг/мл, ( $p<0,05$ )) по сравнению с группой здоровых добровольцев, не имеющих признаков клеточного повреждения мозга.

3. Установлена связь травматического повреждения в повышении концентрации TAU, GFAP и pNF-H-белков, выраженная статистически значимыми различиями средних значений концентраций между пробами основной группы и группы

сравнения: TAU1 ЧМТ > TAU1 операции на ЦНС ( $\Delta=10,59$  нг/мл), TAU2 ЧМТ < TAU2 операции на ЦНС ( $\Delta=-39,65$  нг/мл); ( $p<0,05$ ); pNF1 ЧМТ < pNF1 операции на ЦНС ( $\Delta=-24,16$  нг/мл), pNF2 ЧМТ < pNF2 операции на ЦНС ( $\Delta=-161,64$  нг/мл), ( $p<0,05$ ).

4. Доказано, что определение концентрации TAU-, GFAP- и pNF-H-белков в качестве биомаркеров клеточного повреждения мозга позволяет провести объективную диагностику легких черепно-мозговых травм независимо от результатов КТ, которая оказалась информативной лишь в 27,3% случаев.

5. Определен диапазон концентраций при первичном измерении (в 1-е сутки после травмы) TAU-, GFAP- и pNF-H-белков для диагностики легких черепно-мозговых травм: по TAU-белку 9,24-78,07 нг/мл, по GFAP- 7,17-51,03 нг/мл и pNF- 19,03-64,88 нг/мл. Увеличение концентрации выше этих пределов свидетельствует о более тяжелой степени черепно-мозговых травм и риске неблагоприятного исхода, что рекомендуется использовать в качестве критерия тяжести и прогноза черепно-мозговых травм.

6. Разработан новый клиничко-лабораторный алгоритм с использованием динамического измерения TAU-, GFAP- и pNF-H-белков, который позволяет объективно верифицировать клеточное повреждение головного мозга у пациентов с легкими черепно-мозговыми травмами.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

При внесении клиничко-лабораторного алгоритма с использованием динамического измерения TAU-, GFAP- и pNF-H-белков, который позволяет объективно верифицировать клеточное повреждение головного мозга у пациентов с легкими черепно-мозговыми травмами, в Порядки и Стандарты оказания медицинской помощи таким пациентам, рекомендации применимы для ежедневной работы специалистов клиничко-лабораторной диагностики, врачей приемных отделений, травматологических, нейрохирургических, неврологических отделений.

1. Для диагностики ЧМТ в клиничко-практике рекомендуется:

- проводить определение концентрации TAU-, GFAP- и pNF-белков в качестве маркеров повреждения мозговой ткани вне зависимости от результатов оценки сознания, неврологического дефицита, а также визуализации травмы головного мозга по КТ.
- определять концентрацию TAU-, GFAP- и pNF-белков рекомендуется в 1-й/2-й день после получения травмы, но не позднее 7-го дня после получения травмы.
- определять концентрацию TAU-, GFAP- и pNF-белков рекомендуется в динамике для исключения нетравматических причин повышения.

2. Определение всех трех биомаркеров – ТАU-, GFAP- и pNF-белков в качестве маркеров черепно-мозговой травмы рекомендуется использоваться для оценки тяжести течения, прогноза и исхода черепно-мозговой травмы.

3. Увеличение концентрации Тау-белка более 78,07 нг/мл, GFAP более 51,03 нг/мл, pNF-H более 64,88 нг/мл свидетельствует о более тяжелой степени течения черепно-мозговой травмы и риске неблагоприятного исхода, что можно использовать в качестве критерия тяжести и прогноза черепно-мозговой травмы.

### **Перспективы дальнейшей разработки темы исследования**

Дальнейшее развитие на основании клинико-лабораторных исследований теоретической базы по изучению белковых маркеров повреждения головного мозга, определение требований и показаний к условиям выявления Тау-белка, глиофибриллярного кислого протеина астроглии (GFAP), фосфорилированного нейрофиламента H (pNF-H), установление предела изменения концентраций и определение диагностической информативности каждого из них позволит расширить возможности клинической лабораторной диагностики как научной и прикладной специальности. Объективное подтверждение легкой черепно-мозговой травмы поможет сформировать критерии для принятия экспертного решения о тяжести причиненного вреда здоровью, а также в организации модельных экспериментов по оценке эффективности средств защиты головы (шлемов).

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки РФ для опубликования основных научных результатов диссертации по специальности 14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика:

1. **Ковтун Н.А.**, Савельева М.И., Трофименко А.В., Бояринцев В.В. Биомаркеры повреждения нервной ткани для топической диагностики травмы головного мозга // Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2020.- №2.-С.94-101.

2. **Ковтун Н.А.**, Савельева М.И., Трофименко А.В., Бояринцев В.В., Алексанин С.С. Оценка потенциальных биомаркеров клеточного повреждения мозга при легких черепно-мозговых травмах // Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2020.- №4.- С. 34-46.

3. **Ковтун Н.А.**, Савельева М.И., Трофименко А.В., Алексанин С.С., Бояринцев В.В. Диагностическое и прогностическое значение определения белков – маркеров повреждения мозга при легких черепно-мозговых травмах // Лабораторная служба. – 2021.- №2.- С.28-33.

### Патент

4. Бояринцев В.В, **Ковтун Н.А.**, Трофименко А.В. Патент RU 2741227 С1 Российская Федерация МПК G01N 33/68 «Способ диагностики черепно-мозговой травмы с использованием белковых биомаркеров» - №2020130039; заявл. 13.09.2020, опубл. 21.01.2021.

### Публикации тезисов докладов материалов конференций и симпозиумов

5. **Ковтун Н.А.** Новые подходы к диагностике легких и умеренных ЗЧМТ у спортсменов // Антидопинговые аспекты медицинского сопровождения спортсменов: Сборник материалов конференции – М.: 2021, 140 с.

6. **Ковтун Н.А.** М.И.Савельева, А.В.Трофименко, С.С. Алексанин, В.В. Бояринцев Значение определения белков крови при легких черепно-мозговых травмах // VII Российский конгресс лабораторной медицины: Сборник материалов конференции – М.: 2021, 292с.

7. **Ковтун Н.А.** М.И.Савельева, А.В.Трофименко, В.В. Бояринцев Определение белковых маркеров – новые возможности прижизненной диагностики легких ЧМТ // Вехи истории Российского центра судебно-медицинской экспертизы. К 90-летию со дня образования: Сборник материалов конференции – М.: 2021, 207с.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ - аланинаминотрансфераза

АСТ - аспартатаминотрансфераза

ДАД - диастолическое артериальное давление

ИФА – иммуноферментный анализ

КТ – компьютерная томография

ЛИС - лабораторная информационная система

МИС - медицинская информационная система

МРТ – магнитно-резонансная томография

ЦНС – центральная нервная система

ЧМТ- черепно-мозговая травма

ШКГ (GCS) - шкала комы Глазго

ЭКГ - электрокардиография

GFAP - глиофибрилярный кислый протеин астроглии

pNF-H - фосфорилированный нейрофиламент Н