

ДИНАМИКА БЕЛКА C1-ИНГИБИТОРА ЭСТЕРАЗЫ И ЕГО РОЛЬ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ИСХОДА ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

TIME COURSE OF C1-ESTERASE INHIBITOR AND ITS ROLE IN PREDICTION OF OUTCOME OF SEVERE TRAUMATIC BRAIN INJURY

Борщикова Т.И. Borshchikova T.I.
Епифанцева Н.Н. Epifantseva N.N.
Кан С.Л. Kan S.L.
Никифорова Н.В. Nikiforova N.V.

Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г. Новокузнецк, Россия
Novokuznetsk Institute of Medical Extension Course – the branch of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Novokuznetsk, Russia

Цель исследования – оценить динамику белка C1-ингибитора эстеразы (C₁I) и его значимость в прогнозировании исхода тяжелой черепно-мозговой травмы.

Методы исследования. В исследование включены 53 пациента с тяжелой черепно-мозговой травмой (ТЧМТ). При поступлении в клинику степень нарушения сознания по шкале ком Глазго у пациентов в среднем была $6,9 \pm 2,0$ балла; тяжесть состояния по шкале APACHE II $19,7 \pm 4,7$ балла. Летальность при ТЧМТ составила 50,9 % (27). В сыворотке венозной крови на 1, 4, 7, 14, 21-е сутки определяли уровни ингибиторов фибринолиза (C₁I, α 1-антитрипсин, α 2-антиплазмин, α 2-макроглобулин); C-реактивный белок; белки комплемента C3 и C4 иммунотурбидиметрическим методом на биохимическом анализаторе KONELAB-60i тест-системами «Spinreact» (Испания) и «Labsystems» (Финляндия). Уровни белка S100 определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа тест-системами «CanAg» (Австрия). Исследовали показатели коагуляции: спонтанную фибринолитическую активность эуглобулиновым методом, активность XII-калликреин-зависимого и стрептокиназо-индуцированного фибринолиза, рассчитывали индекс резерва плазминогена. Суммарную активность протеина C, активность антитромбина-III определяли наборами фирмы «Технология-Стандарт» (Россия). Оценивали: уровень Д-димеров методом твердофазного иммунофлуоресцентного анализа (BioRad, USA) тест-системами «Technoclone» (Австрия), уровень растворимых фибрин-мономерных комплексов ортофенантролиновым методом (тест-системы «Технология-Стандарт», Россия). У 16 пациентов с ТЧМТ на 1, 7, 10, 14-е сутки клоттинговым методом на коагулометре ACL-7000 (Instrumentation Laboratory, USA) определяли активность контактных факторов: прекалликреина, высокомолекулярного кининогена, факторов XII и XI сыворотки крови.

Результаты. При ТЧМТ с 1-х суток белок C₁I активно потреблялся в результате миктромбообразования, на второй неделе посттравматического периода – в результате развития воспаления при формировании вторичных гнойно-воспалительных осложнений. Раннее прогнозирование исхода ТЧМТ с вероятностью до 95 % возможно при использовании в множественном регрессионном анализе показателей: C₁I, белка S100, абсолютного числа лимфоцитов и белков острой фазы воспаления (C-реактивного белка и фибриногена).

Заключение. Высокий уровень потребления C₁I в сыворотке крови при ТЧМТ является ранним предиктором неблагоприятного исхода заболевания.

Ключевые слова: тяжелая черепно-мозговая травма; C1-ингибитор эстеразы

Objective – to study the time course of the C1-esterase inhibitor and its role in prediction of the outcome of severe traumatic brain injury.

Methods. The study included 53 patients with severe traumatic brain injury (STBI). At admission, Glasgow Coma Scale was 6.9 ± 2 , APACHE II – 19.7 ± 4.7 . The mortality after STBI was 50.9 % (27). The serum venous blood levels of fibrinolysis inhibitors (C1-esterase inhibitor (C₁I), α 1-antitrypsin, α 2-antiplasmin, α 2-macroglobulin), C-reactive protein, and proteins of C3 and C4 components were estimated with immunoturbidimetric technique with the biochemical analyzer KONELAB-60i with testing systems Spinreact (Spain) and Labsystems (Finland) on the days 1, 4, 7, 14 and 21. The protein S100 levels were determined with the method of enzyme-linked immunosorbent assay with test systems CanAg (Austria). The coagulation parameters were estimated: spontaneous fibrinolytic activity with euglobulin method, activity of XII- kallikrein-dependent and streptokinase-induced fibrinolysis. Plasminogen reserve index was calculated. The activity of protein C and antithrombin-III was measured with tests Technology-Standard (Russia). The D-dimer was determined with the method of solid-phase immunofluorescent analysis (BioRad, USA) with test systems Technoclone (Austria). The level of soluble fibrin-monomer complexes was measured with the orthophenanthroline method (test systems Technology-Standard, Russia). The activity of contact factors (prekallikrein, high-molecular-weight kininogen, factors XII and XI of blood serum) was estimated with clotting technique with coagulometer ACL-7000 (Instrumentation Laboratory, USA) in 16 patients with STBI.

Results. Beginning from the first day of STBI, C₁I was actively consumed as result of microclotting, in the second week of the posttraumatic period – as result of inflammation in formation of secondary purulent and inflammatory complications. Early prediction of the outcome of STBI with 95 % probability is possible with use of the following values in the multiple regression analysis: C₁I, S100 protein, absolute number of lymphocytes and proteins of acute phase of inflammation (C-reactive protein and fibrinogen).

Conclusion. The high level of C₁I serum consumption in STBI is the early predictor of the poor outcome of the disease.

Key words: severe traumatic brain injury; C1-esterase inhibitor.

C₁-ингибитор эстеразы (C₁I), белок α₂-глобулиновой фракции крови с молекулярной массой 105 кДа, играет важную роль в функционировании протеолитических систем крови и регулировании гомеостаза при критических состояниях [1]. Белок C₁I синтезируется преимущественно в гепатоцитах и в небольших количествах в моноцитах, мегакариоцитах, фибробластах и эндотелиальных клетках [2]. На поверхности глобулы белка имеются химически активные центры, которые посредством образования пептидной связи «P1:Arg444-P1':Thr445» блокируют активность протеаз. Образующийся ковалентный комплекс «протеаза-C₁I» выводится из кровотока путем связывания с серпинспецифичными рецепторами клеток печени и в меньшей степени путем поглощения нейтрофилами и моноцитами, время клиренса составляет от 20 до 47 минут [2]. Благодаря своей протеолитической активности C₁I блокирует активацию белков комплемента, подавляет активность факторов XI и XII свертывания крови, образование плазмина и калликреина [1, 3]. C₁-ингибитор эстеразы принимает активное участие в регуляции сосудистой проницаемости, что обеспечивает снижение воспалительной экссудации [4]. Описаны и другие противовоспалительные свойства C₁I: способность блокировать альтернативный путь активации системы комплемента, связывать эндотоксин, активизировать фагоцитоз и подавлять миграцию лейкоцитов в очаг воспаления [1, 5-7]. Эти свойства C₁I позволили с успехом использовать его в лечении сепсиса, граммотрицательного эндотоксического шока, реакций отторжения трансплантата, синдрома ишемии-реперфузии и острого панкреатита [1].

Тяжелая черепно-мозговая травма (ТЧМТ) характеризуется активацией свертывания крови и фибринолиза, белков комплемента и калликреин-кининовой системы. В функционировании этих систем играет важную роль белок C₁-ингибитор эстеразы (рис. 1). Между тем, роль C₁I в прогнозировании исхода ТЧМТ ранее не рассматривалась.

Поэтому целью нашего исследования было оценить динамику C₁-ингибитора эстеразы и его значимость в прогнозировании исхода тяжелой черепно-мозговой травмы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено у 53 пострадавших с ТЧМТ (основная группа). Средний возраст пациентов составил ($\bar{x} \pm \sigma$) 42,1 ± 14,1 года. В основной группе мужчин было 46 (86,7 %), женщин — 7 (13,3 %). По характеру ТЧМТ была открытой у 22 (41,5 %) и закрытой у 31 (58,5 %) пострадавшего [8]. У 45 (85,0 %) пациентов компрессия головного мозга была связана с внутримозговыми гематомами: субдуральными (24 / 44,4 %), эпидуральными (4 / 7,2 %), внутримозговыми (12 / 23,3 %), множественными (5 / 10 %) гематомами. В 15 % случаев (8 пациентов) наблюдался тяжелый ушиб головного мозга.

При поступлении в клинику степень нарушения сознания пациентов по шкале ком Глазго (ШКГ) соответствовала 6,9 ± 2,0 баллам, при общей тяжести состояния по шкале APACHE II — 19,7 ± 4,7 балла. Оперативные вмешательства (48 / 90,6 %) проводились при наличии признаков компрессии головного мозга. У 5 (9,4 %) пациентов применялись только консервативные методы лечения. В раннем посттравматическом периоде умерло 27 (50,9 %) пациентов. У 30 (56,6 %) пострадавших в течение первых двух недель посттравматического периода были выявлены тяжелые гнойно-воспалительные осложнения (ГВО): пневмонии (23 / 76,7 %), менингиты (7 / 23,3 %).

Лечение пациентов с ТЧМТ включало базовые принципы интенсивной терапии критических состояний: искусственную вентиляцию легких, нормализацию гемодинамики и внутричерепного давления, коррекцию кислотно-щелочного состояния организма. В первые сутки инфузионная терапия проводилась преимущественно солевыми растворами: физиологическим раствором, раствором Рингера и стерофундина. Со вторых суток лечения сокращалась инфузионная терапия

и расширялся объем энтерального питания лечебными питательными смесями. Учитывая тяжесть состояния при поступлении и проводимую искусственную вентиляцию легких, гемоглобин у пострадавших поддерживали в пределах ($\bar{x} \pm m$) 96,7 ± 1,5 г/л, гематокрит — 0,29 ± 0,004.

Метод иммунотурбидиметрии (биохимический анализатор KONE-LAB-60i фирмы «Termoelectron») применяли для определения на 1, 4, 7, 14, 21-е сутки в сыворотке венозной крови при ТЧМТ динамики C₁-ингибитора эстеразы и других белков — ингибиторов сериновых протеаз: α₁-антитрипсин (α₁АТ), α₂-антиплазмин (α₂АП), α₂-макроглобулин (α₂МГ) реагентами «Spinreact» (Испания) или «Labsystems» (Финляндия). Этот метод использовали для определения С-реактивного белка (СРБ) и белков С₃ (C₃КК) и С₄ (C₄КК) комплемента.

В качестве показателя тяжести травмы головного мозга в сыворотке венозной крови определяли белок нервной ткани S100. Для этого использовали метод твердофазного иммуноферментного анализа (тест-системы «CanAg», Австрия).

Исходя из физиологической активности белка C₁-ингибитора эстеразы, определяли показатели коагуляции в цитратной венозной периферической крови: эуглобулиновый (ЭГФ), XII-калликреин-зависимый (XII-КЗФ) и стрептокиназо-индуцированный фибринолиз, рассчитывали индекс резерва плазминогена (ИРП). Определяли показатели антикоагуляционного звена гемостаза: активность антитромбина-III (АТ-III), суммарную активность протеина С (САПС) наборами «Технология-Стандарт» (Россия). Динамику Д-димеров оценивали методом твердофазного иммунофлюоресцентного анализа (BioRad, USA) тест-системами «Technoclon» (Австрия), растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) — ортофенантролиновым методом тест-системами «Технология-Стандарт» (Россия).

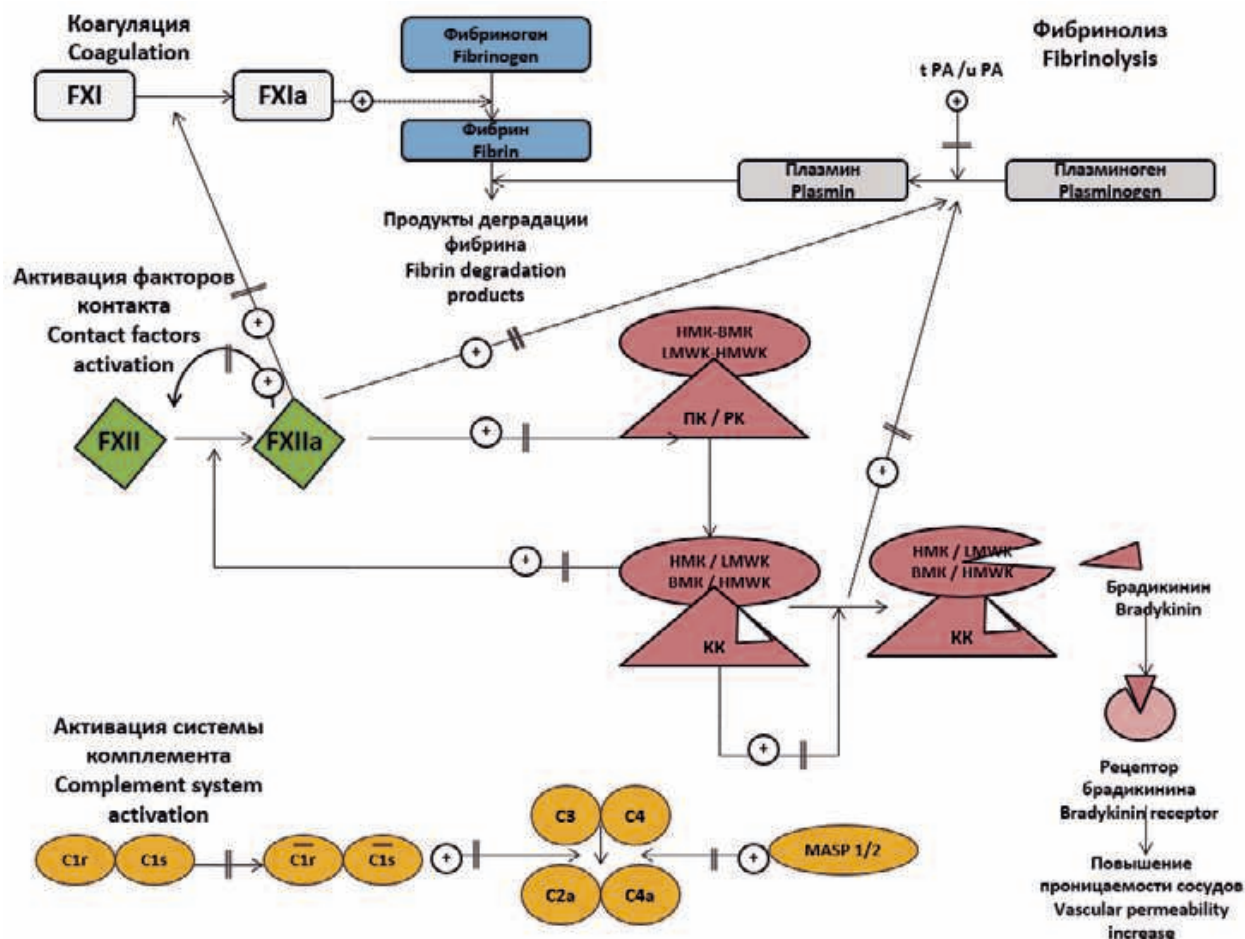
В исследование не были включены пациенты в возрасте моложе 18 лет и старше 70 лет, а также с онкологическими, эндокринологическими, инфекционными заболе-

Рисунок 1

Биологические функции C1-ингибитора эстеразы [4]

Figure 1

Biological functions of the C1-esterase inhibitor [4]

**Примечание:** FXI – фактор XI; FXIa – активированный фактор XI; FXII – фактор XII;

FXIIa – активированный фактор XII; BMK – высокомолекулярный кининоген; НМК – низкомолекулярный кининоген; КК – калликреин; MASP – маннозсвязывающая лектин-ассоциированная сериновая протеаза;

tPA/uPA, активатор тканевого/урокиназного плазминогена.

—►— указывает на ингибирование биологической функции с помощью фермента C₁I;

—►— указывает на активацию протеолитической активности;

---►— указывает на непрямую активацию протеолитической активности.

Note: FXI – factor XI; FXIa – activated factor XI; FXII – factor XII; FXIIa – activated factor XII;

HMWK – high-molecular-weight kininogen; LMWK – low-molecular-weight kininogen; KK – kallikrein;

MASP – mannose-binding lectin-associated serine protease; tPA/uPA, tissue/urokinase plasminogen activator.

—►— indicates inhibition of biological function by enzyme C₁I;

—►— indicates the activation of proteolytic activity;

---►— indicates indirect activation of proteolytic activity.

ваниями и органической патологией сердца. Из исследования были исключены пациенты, у которых в раннем послеоперационном периоде развивались кровотечения, так как им проводилась гемостатическая терапия. Контрольная группа включала 21 человека в возрасте ($\bar{X} \pm \sigma$) $41,8 \pm 12,4$ года. В контрольной группе мужчин было 17 / 80,9 %, женщин – 4 / 19,1 %.

Основываясь на протеолитической активности C1-ингибитора эстеразы, его активном участии в функционировании калликреин-кининовой системы, у 16 пациентов основной и у 14 человек контрольной группы на 1, 7, 10, 14-е сутки определяли клоттинговый метод на коагулометре ACL-7000 («Instrumentation Laboratory», USA) активность

прекалликреина (ПК), высокомолекулярного кининогена (ВМК), факторов XII и XI свертывания крови. В исследовании применялись иммуноистощенные плазмы с коагуляционной активностью менее 1 % по определяемому фактору (тест-системы «Technoclon», Австрия). Также определяли активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ).

Полученные результаты исследования проходили математическую обработку программой «STATISTICA-7». Нормальность распределения данных производилась методами Шапиро—Уилка или Колмогорова—Смирнова. При выявлении отличия от нормального распределения показателей достоверность различий оценивали с помощью критерия Вилкоксона—Манна—Уитни. Взаимозависимость показателей оценивали при помощи коэффициента корреляции Спирмена.

Исследование соответствовало этическим принципам Хельсинкской декларации (2013 г.), «Правилам клинической практики в Российской Федерации» (Приказ Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266) и одобрено этическим комитетом НГИУВ — филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (протокол № 1 от 27.05.2019 г.).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Динамика C_1I и других сериновых протеаз, белков свертывания крови и фибринолиза представлена в таблице 1. Уровень C_1I при ТЧМТ был достоверно ниже нормы весь период наблюдения с минимальным его значением в 1-е сутки исследования. К седьмым суткам отмечено повышение C_1I ($p < 0,05$) до нижней границы нормы, в дальнейшем он оставался таковым до конца периода исследования.

Активация системы комплемента оценивалась по динамике белков C_3 и C_4 . При ТЧМТ в 1-е сутки уровень белка C_3KK не имел отличий от значений показателей в контрольной группе. С 4-х по 14-е сутки белок C_3 превышал значения контрольной группы ($p < 0,001$) и на 7-е сутки был достоверно выше уровня в первые сутки исследования ($p < 0,05$). Максимальные значения C_3KK были выявлены только на 21-е сутки посттравматического периода. Уровень C_4KK достоверно увеличивался на 4-е сутки и оставался выше показателя в контрольной группе весь период исследования. Увеличение компонентов C_3 и C_4 указывало на активацию системы комплемента по классиче-

скому пути. Известно, что активация белков системы комплемента происходит по классическому пути при помощи комплекса антиген-антитело, а по альтернативному и лектиновому путям — «неиммунологическими» молекулами, в том числе эндотоксином [7]. Общая направленность динамики белков C_3 и C_4 в посттравматическом периоде была обусловлена участием их в защите организма от поврежденных клеток, инфекционных агентов, образующихся антител специализированными иммунными клетками [9]. Противовоспалительные свойства C_1I связаны с ингибированием активированной формы первого компонента комплемента, с которого происходит запуск каскада белков комплемента по классическому пути [10]. Поскольку C_1I подавляет два протеолитических фермента первого компонента комплемента $C1s$ и $C1r$, то становится понятной эффективность рекомбинантного C_1I в терапии сепсиса и септического шока [3]. На экспериментальной модели ТЧМТ противовоспалительные свойства C_1I были показаны Albert-Weissenberger С. (2014) [11]. Он установил, что введение рекомбинантного C_1I экспериментальным животным способствовало снижению посттравматической дегенерации головного мозга, стабилизации гематоэнцефалического барьера, уменьшению притока иммунных клеток в паренхиму мозга [11].

При ТЧМТ выявлена зависимость уровня C_1I от тяжести состояния пациентов при поступлении в клинику, выявлены достоверные корреляционные связи уровня белка с ШКГ и АРАСНЕ-II (C_1I -ШКГ: $r = 0,348$ при $p < 0,001$; C_1I -АРАСНЕ-II: $r = -0,234$ при $p < 0,005$). При этом корреляционные взаимоотношения C_1I и белка S100 как показателя тяжести повреждения клеток головного мозга были наиболее значимы: $r = -0,776$ при $p < 0,001$. Интенсивное потребление C_1I при ТЧМТ показано при активации системы свертывания крови и фибринолиза [12]. В 1-е сутки после ТЧМТ снижение плазменного уровня C_1I указывало на его активное потребление во внутреннем пути коагуля-

ции, линейно связанное с тяжестью травматического повреждения. В то же время на участие в воспалительной реакции C_1I указывали достоверные связи C_1I с СРБ ($r = 0,175$ при $p < 0,049$), белками C_3KK ($r = 0,472$ при $p < 0,001$), C_4KK ($r = 0,295$ при $p < 0,05$) и фибриногеном ($r = 0,308$ при $p < 0,001$).

Противовоспалительный эффект C_1I проявляется за счет его способности связываться с различными компонентами внеклеточного матрикса, включая коллаген IV типа, ламинин, энтактин и фибриноген [7]. Образование нековалентной связи C_1I с компонентом комплемента $C3b$ способствует подавлению способности лейкоцитов мигрировать в очаг воспаления [6]. Установлено, что связывание C_1I с грамотрицательным бактериальным эндотоксином препятствует взаимодействию эндотоксина с макрофагами и дальнейшему развитию воспалительного ответа [6].

При анализе динамики белка C_1I при ТЧМТ в зависимости от исхода (выжившие — умершие) и формирования воспалительных осложнений (пациенты, имеющие и не имеющие ГВО) выявлено активное потребление фермента в результате протеолиза и на второй неделе посттравматического периода в результате воспалительной реакции при присоединении ГВО (рис. 2).

При ТЧМТ нами была рассмотрена динамика других белков крови, обладающих протеолитической активностью: α_2 -макроглобулина и α_1 -антитрипсина, α_2 -антиплазмина. Было выявлено активное потребление этих белков в раннем посттравматическом периоде с последующим их увеличением на фоне присоединения вторичных ГВО. Так, концентрация α_1AT значимо повышалась с 1-х суток в среднем в 1,3 раза, далее динамично возрастала, достигая максимальных значений к 14-м суткам исследования, когда его уровень превышал контрольные значения в 1,7 раза. По частотному анализу установлено, что в 1-е сутки превышение контрольных значений α_1AT было в 67,3 %, а с 10-х суток и далее — в 100 % случаев. Эта важнейшая антипротеаза крови

Таблица 1

Динамика показателей свертывания крови и фибринолиза, ингибиторов сериновых протеаз и воспалительных белков при тяжелой черепно-мозговой травме

Table 1

Dynamics of the proteins of the blood coagulation and fibrinolysis, serine protease inhibitors and inflammatory proteins in severe traumatic brain injury

Показатели Values	Значения показателей на этапах исследования ($\bar{X} \pm m$) Indicators at study stages ($\bar{X} \pm m$)						
	Контрольная группа Control group	Этапы исследования (сутки) Study stages (days)					
		1	4	7	10	14	21
Белки-ингибиторы сериновых протеаз Proteins-serine proteinase inhibitors							
C ₁ I, мг/дл C ₁ I, mg/dl	25.1 ± 0.7	16.9 ± 0.7**	18.9 ± 0.7**	22.4 ± 0.9 ³ *	23.3 ± 0.9 ³ *	22.3 ± 0.8 ³ *	21.13 ± 0.8 ³ *
α ₂ АП, мг/дл α ₂ AP, mg/dl	6.10 ± 0.42	4.23 ± 0.29**	5.11 ± 0.31	5.51 ± 0.62	5.57 ± 0.34	5.90 ± 0.95	6.29 ± 1.35
α ₂ МГ, мг/дл α ₂ MG, mg/dl	162.8 ± 3.4	144.3 ± 5.8 ³ *	150.1 ± 5.6**	155.4 ± 7.8	159.6 ± 7.8	161.4 ± 9.7	166.1 ± 15.8
α ₂ АТ, мг/дл α ₂ AT, mg/dl	143.5 ± 3.7	183.3 ± 8.4**	206.3 ± 9.1**	218.1 ± 11.9**	246.4 ± 11.6	230.6 ± 11.8**	251.4 ± 18.9**
Белки системы комплемента Complement proteins							
C ₃ КК, г/л C ₃ КК, g/l	1.04 ± 0.03	1.06 ± 0.06	1.32 ± 0.06**	1.54 ± 0.08 ³ *	1.89 ± 0.11**	2.01 ± 0.09**	2.04 ± 0.09**
C ₄ КК, г/л C ₄ КК, g/l	0.26 ± 0.01	0.27 ± 0.02	0.32 ± 0.02 ³ *	0.34 ± 0.04 ³ *	0.40 ± 0.04**	0.41 ± 0.06 ³ *	0.40 ± 0.04 *
С-реактивный белок и S100 C-reactive protein and S100							
СРБ, мг/л CRP, mg/l	1.4 ± 0.3	85.0 ± 9.9**	99.6 ± 9.2**	105.4 ± 11.4**	100.4 ± 12.2**	93.2 ± 11.9**	84.2 ± 10.7**
S100, мкг/л S100 μg/l	0.130 ± 0,007	0.680 ± 0.067**	0.202 ± 0.015**	0.151 ± 0.009*	0.148 ± 0.014	0.136 ± 0.009	0.130 ± 0.009
Показатели свертывания крови и фибринолиза Blood clotting and fibrinolysis							
ЭГФ, минут EGF, min.	179.1 ± 8.9	270.6 ± 13.3**	305.8 ± 9.1**	324.5 ± 10.1**	306.5 ± 16.2**	342.4 ± 8.1**	344.3 ± 11.6**
XII-КЗФ, минут XII-KDF, min.	8.2 ± 0.29	108.9 ± 18.3**	161.2 ± 15.9**	216.3 ± 16.4**	131.6 ± 18.6**	162.1 ± 18.5**	184.9 ± 21.0**
ИРП, % PRI, %	100.9 ± 2.5	91.3 ± 2.8 ³ *	86.9 ± 2.1**	79.9 ± 4.3**	77.6 ± 4.3**	76.7 ± 3.8**	82.3 ± 5.3**
Активность АТ-III, % АТ-III activity, %	104.2 ± 2.4	88.5 ± 3.7 ³ *	99.4 ± 3.9	88.9 ± 6.0	95.9 ± 5.9	110.4 ± 5.2	103.7 ± 3.5
САПС, отн. SAPS, ratio	0.95 ± 0.04	0.78 ± 0.03**	0.83 ± 0.02 ³ *	0.81 ± 0.01 ³ *	0.82 ± 0.02 ³ *	0.80 ± 0.02**	0.78 ± 0.03 ³ *
РФМК, мг/дл SFC, mg/dl	0.78 ± 0.49	10.59 ± 1.04**	15.15 ± 1.57**	16.40 ± 1.08**	17.66 ± 1.22**	15.45 ± 1.02**	15.40 ± 1.46**
Д-димер, нг/мл D-dimer, ng/ml	52 ± 8	1450 ± 495**	958 ± 250**	1029 ± 312**	3174 ± 985**	1164 ± 226**	-
Фибриноген, г/л Fibrinogen, g/l	3.14 ± 0.12	3.69 ± 0.11**	4.63 ± 0.09**	5.50 ± 0.16**	5.94 ± 0.19**	6.38 ± 0.22**	6.04 ± 0.28**
АЧТВ, секунд APTT, sec.	37.9 ± 0.4	38.9 ± 1.1	39.3 ± 1.5	37.3 ± 0.9	37.8 ± 0.9	38.2 ± 1.1	36.8 ± 1.2

Примечание: * – достоверно значимое различие показателя в сравнение с его значением в контрольной группе, * – $p < 0,05$; 2* – $p < 0,02$; 3* – $p < 0,01$; 4* – $p < 0,001$.

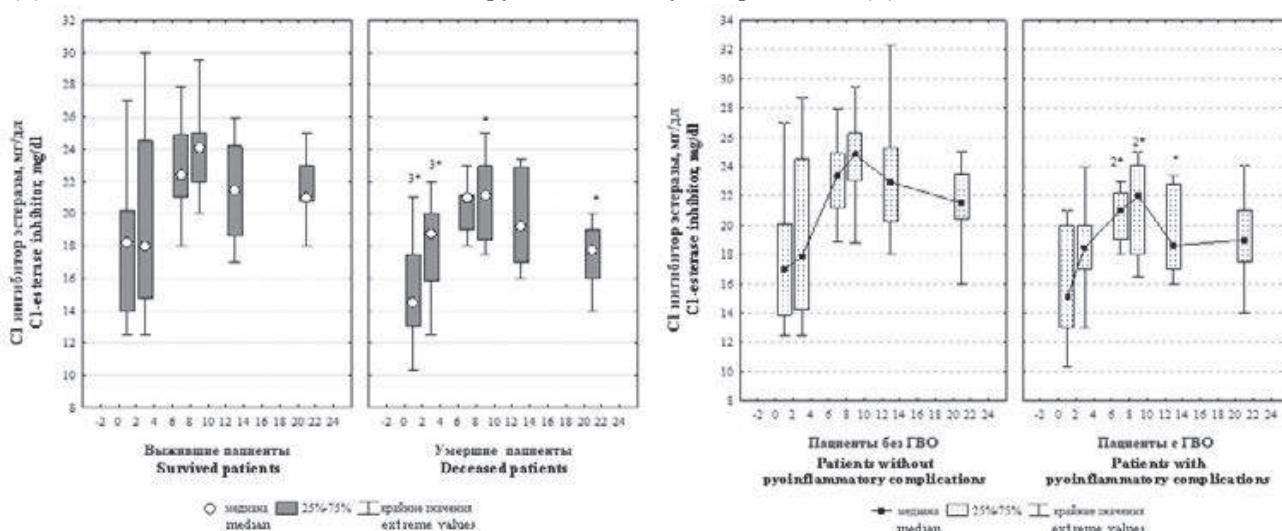
Note: * – statistically significant difference between the indicator and its value in the control group: * – $p < 0.05$; 2* – $p < 0.02$; 3* – $p < 0.01$; 4* – $p < 0.001$.

Рисунок 2

Динамика С1-ингибитора эстеразы у пациентов с тяжелой черепно-мозговой травмой в зависимости от исхода заболевания (а) и формирования гнойно-воспалительных осложнений (b)

Figure 2

Dynamics of C1-esterase inhibitor in patients with severe traumatic brain injury depending on the outcome (a) of the disease and the occurrence of pyoinflammatory complications (b)



Примечание: * — достоверно значимое различие показателя в сравнении с его уровнем в группе контроля (тест Вилкоксона—Манна—Уитни): * — $p < 0,05$; 2* — $p < 0,02$; 3* — $p < 0,01$; 4* — $p < 0,001$.

Note: * — significantly significant difference in the indicator compared to its level in the control group (Wilcoxon—Mann—Whitney test): * — $p < 0.05$; 2* — $p < 0.02$; 3* — $p < 0.01$; 4* — $p < 0.001$.

принимает участие в торможении активности тромбина, пламина, калликреина, активизированных факторов X и XI свертывания крови и нейтрофильной эластазы [9].

В первые сутки при ТЧМТ белок α_2 МГ был ниже показателя контрольной группы ($p < 0,01$), с 7-х суток исследования его уровень не отличался от показателя в контрольной группе. Низкий уровень этого белка с 1-х по 4-е сутки посттравматического периода был связан с его активным потреблением в протеолитических процессах. Известно, что α_2 -макрोगлобулин может связывать любые протеиназы: металлозависимые, тиоловые, кислые и сериновые протеолитические ферменты [9].

Белок α_2 -антиплазмин, прямой ингибитор пламина, достоверно увеличивался до уровня нижней границы нормы с 4-х суток посттравматического периода, что отражало его большую значимость в регуляции процессов фибринолиза [9].

На первоочередную роль С₁И в регулировании сложных протеолитических процессов указывали наиболее значимые корреляционные связи: С₁И- α_1 АТ: $r = 0,391$ при

$p < 0,0001$; С₁И- α_2 МГ: $r = 0,171$ при $p < 0,001$; С₁И- α_1 АП: $r = 0,455$ при $p < 0,005$. Снижение уровня С₁И указывало на его активное потребление в процессах микротромбообразования, его достаточный уровень необходим для ограничения развития синдрома внутрисосудистого свертывания крови [5].

У пациентов с ТЧМТ фибринолитическая активность (ЭГФ, XII-КЗФ) была достоверно сниженной весь период исследования ($p < 0,001$). При этом степень депрессии ЭГФ и XII-КЗФ была наиболее выраженной на второй неделе посттравматического периода. Показатель активности свертывающей и фибринолитической систем крови — РФМК — увеличивался с 1-х суток, достигая максимальных значений на 7-10-е сутки посттравматического периода. При этом были выявлены корреляционные взаимодействия С₁И-ИРП: $r = -0,359$ при $p < 0,001$ и С₁И-САПС: $r = 0,175$ при $p < 0,048$.

В настоящее время признаны такие противовоспалительные свойства белка С₁И как блокирование первого компонента комплемента (С1г, С1с), фермента MASP2 (маннозо-связывающий лепнин сериновая

протеаза-2); ингибирование фибринолитических протеаз (плазмин, тканевой активатор пламиногена) и плазменных белков калликреин-кининовой системы — калликреин, фактор XI и XII [1, 6, 9]. С1-ингибитор эстеразы способен взаимодействовать не только с калликреином, плазмином, фактором XII, но и с предшественником плазменного тромбопластина [1]. При этом для связи с плазмином не требуется цельной молекулы С₁И, фермент в одинаковой мере инактивируется как целой, так и частично расщепленной молекулой ингибитора [1, 9]. По литературным данным, основным ингибитором плазменного калликреина считают белок С₁И, он блокирует примерно 57 % его плазменной формы [12]. При этом «универсальный» белок-ингибитор α_2 -макрोगлобулин связывает только 43 % калликреина [12].

Поскольку С₁И отводится важная роль в регуляции внутреннего механизма свертывания крови и сосудистой проницаемости за счет взаимодействия с белками калликреин-кининовой системы [4], то следующим этапом нашего исследования было определение динамики белков калликреин-кининовой

системы при ТЧМТ (табл. 2). С первых суток посттравматического периода отмечено достоверно значимое снижение белков калликреин-кининовой системы: фактора XI, высокомолекулярного кининогена, прекалликреина в среднем в 1,6 раза; фактора XII – в 1,3 раза. Фактор XII при ТЧМТ был в среднем на 30 % ниже значений показателя в контрольной группе, при этом самые низкие его значения отмечены на 10-е сутки исследования ($57,5 \pm 13,5$ %). Наиболее низкие значения фактора XI свертывания крови были отмечены в первые сутки ($p < 0,001$), в последующем он повышался и на 10-14-е сутки соответствовал уровню в контрольной группе. Весь период исследования прекалликреина и высокомолекулярный кининоген оставались ниже значений показателя в группе контроля в 1,6 раза ($p < 0,05$).

Наиболее выраженные корреляционные взаимосвязи C_1I выявлены с фактором XI ($XI-C_1I$: $r = 0,407$ при $p < 0,027$). Коэффициенты корреляции C_1I с фактором XII, прекалликреином и высокомолекулярным кининогеном составили соответственно 0,179; 0,100; 0,037 при $p > 0,05$. В то же время установлена связь C_1I с показателями, отражающими активность внешнего и внутреннего механизмов фибринолиза (C_1I -ЭГФ:

$r = 0,490$ при $p < 0,050$; C_1I -XII-КЗФ: $r = -0,305$ при $p = 0,032$; C_1I -Д-димер: $r = -0,395$ при $p < 0,05$). Эти взаимосвязи отражают непосредственное антиплазминовое действие C_1I в кровотоке. Менее значимые корреляционные связи C_1I с белками калликреин-кининовой системы указывают на активное потребление белков системы фактора Хагемана в процессах микрососудистого тромбообразования в ответ на повреждение. Это подтверждается высоким уровнем корреляционного взаимоотношения C_1I с фактором XI ($XI-C_1I$: $r = 0,521$ при $p < 0,008$) при развитии пневмоний в остром периоде ТЧМТ. Известно, что активность контактных факторов блокируется в меньшей степени другими ингибиторами сериновых протеаз: антитромбином-III, α_1AT , α_2AP , α_2MG , белками системы протенина С [6]. В нашем исследовании фактор XI имел значимую связь с α_2MG ($XI-\alpha_2MG$: $r = 0,406$ при $p < 0,031$) и α_1AT ($XI-\alpha_1AT$: $r = 0,398$ при $p < 0,05$). Полученные данные демонстрируют вклад C_1I в инактивацию фактора XI, что важно для регуляции процессов внутрисосудистого тромбообразования и воспаления [9].

Таким образом, при ТЧМТ белку C_1I отводится важная роль регулирования равновесия каскадных

систем гомеостаза. Благодаря своей биологической активности он способен поддерживать равновесие калликреин-кининовой системы, свертывания крови, фибринолиза, белков комплемента, избыточная активация которых может привести к несовместимым с жизнью отклонениям при критических состояниях. При ТЧМТ установлено протеолитическое потребление C_1I в реакциях микротромбообразования в первые дни после ТЧМТ и в более поздние сроки – в воспалительных реакциях при формировании вторичных гнойно-воспалительных осложнений. Активное потребление C_1I в воспалительных реакциях и каскаде коагуляции делает этот белок важным маркером прогнозирования исхода заболевания.

В ранее опубликованной нами работе была показана роль C_1I в прогнозировании развития гнойно-воспалительных осложнений. Были выявлены результирующие модели прогнозирования, включающие C_1I , уровень лимфоцитов и тромбоцитов крови, СРБ и белок S100 [13]. Эти переменные также показали свою значимость в множественном регрессионном анализе раннего прогнозирования исхода ТЧМТ. Наиболее значимые уравнения множественной регрессии приведены в таблице 3. При помощи частотного анализа была показана

Таблица 2
Динамика активности контактных факторов в остром периоде тяжелой черепно-мозговой травмы
Table 2
Dynamics of the activity contact factors in the acute period of the severe traumatic brain injury

Показатель Value	Значения показателей на этапах исследования ($\bar{X} \pm m$) Indicators at study stages ($\bar{X} \pm m$)				
	Контрольная группа (n = 14) Control group (n = 14)	Этап исследования, сутки (n = 16) Study stage, days (n = 16)			
		1	7	10	14
Фактор XII, % Factor XII, %	101.48 $\pm$ 2.80	79.4 $\pm$ 10.2*	68.6 $\pm$ 9.7**	57.5 $\pm$ 13.5 ^{3*}	70.8 $\pm$ 11.1 ^{3*}
Фактор XI, % Factor XI, %	99.19 $\pm$ 3.51	63.9 $\pm$ 3.7**	76.1 $\pm$ 5.9**	106.5 $\pm$ 4.5	93.6 $\pm$ 10.9
Прекалликреин, % Prekallikrein, %	98.62 $\pm$ 3.12	61.6 $\pm$ 6.0**	60.7 $\pm$ 7.6**	67.0 $\pm$ 16.0*	71.1 $\pm$ 11.7*
Высокомолекулярный кининоген, % High-molecular-weight kininogen, %	103.29 $\pm$ 3.15	64.3 $\pm$ 3.7**	73.9 $\pm$ 7.8**	56.0 $\pm$ 1.0**	67.2 $\pm$ 8.4**

Примечание: * – достоверно значимое различие показателя в сравнение с его уровнем в контрольной группе (тест Вилкоксона–Манна–Уитни); * – $p < 0,05$; ^{2*} – $p < 0,02$; ^{3*} – $p < 0,01$; ** – $p < 0,001$.

Note: * – statistically significant difference between the indicator and its value in the control group (tests of Mann–Whitney–Wilcoxon); * – $p < 0.05$; ^{2*} – $p < 0.02$; ^{3*} – $p < 0.01$; ** – $p < 0.001$.

Таблица 3

Показатели и уравнения множественной регрессии для совокупностей независимых переменных в раннем прогнозировании
исхода тяжелой черепно-мозговой травмы

Table 3

Indicators and multiple regression equations for different sets of independent variables in early prediction of outcome from severe
traumatic brain injury

Показатели Values	Значения показателей множественной регрессии в зависимости от выбранных независимых переменных Values of multiple regression in dependence on selected independent variables		
	1	2	3
	C_1I / C_1I белок S100 / S100 protein Фибриноген / Fibrinogen	C_1I / C_1I белок S100 / S100 protein Фибриноген / Fibrinogen Тромбоциты / Platelets	C_1I / C_1I белок S100 / S100 protein С-реактивный белок / C-reactive protein Тромбоциты / Platelets Лимфоциты / Lymphocytes
Множественный R Multiple R	0.880	0.920	0.991
Коэффициент детерминации (R^2) Determination coefficient (R^2)	0.774	0.857	0.982
Нормированный коэффициент детерминации (нормированный R^2) Standardized determination coefficient (standardized R^2)	0.638	0.571	0.953
Число наблюдений Number of cases	32	30	25
p – значение p-value	0.045	0.049	0.008
m – стандартная ошибка m – standard error	0.300	0.319	0.108
1) $Y = [0,783 - (0,062 \times C_1I) - (0,069 \times S100) + (0,168 \times \text{ФГ})] \times 10$ 1) $Y = [0.783 - (0.062 \times C_1I) - (0.069 \times S100) + (0.168 \times \text{FG})] \times 10$			
2) $Y = [0,004 - (0,039 \times C_1I) - (0,029 \times S100) - (0,002 \times \text{Тр}) + (0,043 \times \text{ФГ})] \times 10$ 2) $Y = [0.004 - (0.039 \times C_1I) - (0.029 \times S100) - (0.002 \times \text{PI}) + (0.043 \times \text{FG})] \times 10$			
3) $Y = [1,112 - (0,055 \times \text{Лимф}) + (0,003 \times \text{СРБ}) - (0,073 \times C_1I) + (0,063 \times S100) + (0,003 \times \text{Тр})] \times 10$ 3) $Y = [1.112 - (0.055 \times \text{Lymph}) + (0.003 \times \text{CRP}) - (0.073 \times C_1I) + (0.063 \times S100) + (0.003 \times \text{PI})] \times 10$			
Точность распознавания неблагоприятного исхода в 1-е сутки при ТЧМТ Accuracy of recognition of poor outcome in the first day after STBI	75.3 %	85.5 %	95.4 %

Примечание: S100 – белок S100 (мкг/л); C_1I – C1-ингибитор эстеразы (мг/дл); ФГ – количество фибриногена в плазме крови (г/л); Тр – число тромбоцитов в крови – 109; СРБ (мг/л) – С-реактивный белок; Лимф – абсолютное количество лимфоцитов в формуле крови; 10 – эмпирический коэффициент, необходимый для приведения значения Y к целому числу.

Note: S100 – protein S100 (μg/l); FG – fibrinogen in the blood plasma (g/l); C_1I – C1-esterase inhibitor (mg/dl); PI – the number of platelets in the blood (×109); CRP – C-reactive protein (mg/l); Lymph. – the absolute number of lymphocytes in the blood formula; 10 – the empirical coefficient, which necessary to reduce the value of Y to an integer.

фактическая точность выделенных моделей прогнозирования в 1-е сутки после получения травмы, которая составляла 77-86 %. Вероятность неблагоприятного исхода ТЧМТ возросла до 98 % при добавлении к выбранным переменным показателя иммуносупрессии — числа лимфоцитов периферической крови. Фактическая точность распознавания неблагоприятного исхода ТЧМТ составила 75-95 %. То есть использование С₁И совместно с белком S100, уровнем иммуносупрессии (абсолютное число лимфоцитов) и показателей тромбообразо-

вания (снижение числа тромбоцитов и рост фибриногена) с вероятностью до 95 % позволяет прогнозировать неблагоприятный исход при ТЧМТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на активное изучение патогенетических реакций организма в ответ на травматическое повреждение головного мозга, понимание этих процессов на молекулярном уровне требует дальнейших детализаций. Проведенное исследование показало прогностическую роль белка С₁И для определения вероятности неблагоприятного ис-

хода при тяжелой черепно-мозговой травме. Учитывая вышеизложенное, можно предполагать, что применение рекомбинантного С₁И может быть перспективной терапевтической стратегией в лечении ТЧМТ.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА:

1. Davis AE. Biological activities of C1 inhibitor. *Mol. Immunol.* 2008; 45(16): 4057-4063.
2. Wagenaar-Bos IG, Hack CE. Structure and function of C1-inhibitor. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2006; 26(4): 615-632.
3. Hirose T, Ogura H, Takahashi H, Ojima M, Jinkoo K, Nakamura Y, et al. Serial change of C1-inhibitor in patients with sepsis: a prospective observational study. *J Intensive Care.* 2018; 6: 37.
4. Caliezi C, Willemin WA, Zeerleder S, Redondo M, et al. C1-esterase inhibitor: an anti-inflammatory agent and its potential use in the treatment of diseases other than hereditary angioedema. *Pharmacol Rev.* 2000; 52(1): 91-112.
5. Li HH. Self-administered C1-esterase inhibitor concentrates for the management of hereditary angioedema: usability and patient acceptance. *Patient Prefer Adherence.* 2016; 10: 1727-1737.
6. Yarova GA, Neshkova AE. Kallikrein-kininovaya system. Past and present (for the 90th anniversary of the opening of the system). *Bioorganic chemistry.* 2015; 41 (3): 275-291. Russian (Яровая Г.А., Нешкова А.Е. Калликреин-кининовая система. Прошлое и настоящее (к 90-летию открытия системы) // Биоорганическая химия. 2015. Т. 41, № 3. С. 275-291.)
7. Singer M, Jones AM. Bench-to-bedside review: the role of C1-esterase inhibitor in sepsis and other critical illnesses. *Crit Care.* 2011; 15(1): 203.
8. Lichterman LB. Classification of cranial trauma. Part II. Modern principles of classification of TBI. *Judiciary medicine.* 2015; 1(3): 37-48. Russian (Лихтерман Л.Б. Классификация черепно-мозговой травмы. Часть II. Современные принципы классификации ЧМТ // Судебная медицина. 2015. Т.1, № 3. С. 37-48.)
9. Dolgov VV, Shevchenko VV, Dolgov OP, Sharyshev AA, Bondar VA. Turbidimetry in laboratory practice. M.: Reafarm, 2007. 176 p. Russian (Долгов В.В., Шевченко В.В., Долгов О.П., Шарышев А.А., Бондарь В.А. Турбидиметрия в лабораторной практике. М.: Реафарм, 2007. 176 с.)
10. Jiang H, Wagner E, Zhang H, Frank MM. Complement 1 – inhibitor is a regulator of the alternative complement pathway. *J Exp Med.* 2001; 194(11): 1609-1616.
11. Albert-Weissenberger C, Mencl S, Schuhmann MK, Salur I, Göb E, Langhauser F, et al. C1-Inhibitor protects from focal brain trauma in a cortical cryolesion mice model by reducing thrombo-inflammation. *Front Cell Neurosci.* 2014; 8: 269.

12. Zhang J, Jiang R, Liu L, Watkins T, Zhang F, Dong JF. Traumatic brain injury-associated coagulopathy. *J Neurotrauma*. 2012; 29(17): 2597-2605.
13. Yepifantseva NN, Borshchikova TI, Churlyayev YuA, Ratkin IK, Yekimovskikh AV. Prognostics value of S100 protein, neuron-specific enolase, endothelin-1 in the acute period of severe brain injury. *Emergency Medicine*. 2013; 3(50): 85-90. Russian (Епифанцева Н.Н., Борщикова Т.И., Чурляев Ю.А., Раткин И.К., Екимовских А.В. Прогностическое значение белка S100, нейронспецифической енолазы, эндотелина-1 в остром периоде тяжелой черепно-мозговой травмы //Медицина неотложных состояний. 2013. № 3(50). С. 85-90.)

Сведения об авторах:

Борщикова Т.И., к.м.н., ассистент кафедры анестезиологии и реаниматологии, НГИУВ – филиал ФГБОУ ДНО РМАНПО МЗ РФ, Россия, г. Новокузнецк.

Епифанцева Н.Н., к.м.н., ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики, НГИУВ – филиал ФГБОУ ДНО РМАНПО МЗ РФ, Россия, г. Новокузнецк.

Кан С.Л., д.м.н., доцент, заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии, НГИУВ – филиал ФГБОУ ДНО РМАНПО МЗ РФ, Россия, г. Новокузнецк.

Никифорова Н.В., д.м.н., ассистент кафедры анестезиологии и реаниматологии, НГИУВ – филиал ФГБОУ ДНО РМАНПО МЗ РФ, заведующая отделением нейрореанимации, ГАУЗ КО «НГКБ № 29», Россия, г. Новокузнецк.

Адрес для переписки:

Борщикова Т.И., ул. Сеченова, д. 26, г. Новокузнецк, Кемеровская область, Россия, 654066, ГАУЗ КО «Новокузнецкий перинатальный центр», отделение анестезиологии-реанимации.

Тел: +7 (3843) 324-951; +7 (905) 961-97-37.

E-mail: tamara.borshchikova@mail.ru

Information about authors:

Borshchikova T.I., candidate of medical science, assistant of anesthesiology and critical care medicine department, Novokuznetsk Institute of Medical Extension Course – the branch of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Novokuznetsk, Russia.

Epifantseva N.N., candidate of medical science, assistant of clinical laboratory diagnostics department, Novokuznetsk Institute of Medical Extension Course – the branch of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Novokuznetsk, Russia.

Kan S.L., MD, PhD, docent, chief of anesthesiology and critical care medicine department, Novokuznetsk Institute of Medical Extension Course – the branch of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Novokuznetsk, Russia.

Nikiforova N.V., MD, PhD, assistant of anesthesiology and critical care medicine department, Novokuznetsk Institute of Medical Extension Course – the branch of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Novokuznetsk, Russia.

Address for correspondence:

Borshchikova T.I., Sechenova St., 26, Novokuznetsk, Kemerovo region, Russia, 654066, Novokuznetsk Perinatal Centre, anesthesiology and critical care medicine unit.

Tel: +7 (3843) 324-951; +7 (905) 961-97-37.

E-mail: tamara.borshchikova@mail.ru

