

Н. П. Волошина, В. В. Васильовський, М. Е. Черненко
 ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології
 НАМН України» (м. Харків)

Вплив інфекційного фактору на стан гематоенцефалічного бар'єру у хворих на розсіяний склероз

Був досліджений ліквор 135 хворих на розсіяний склероз на наявність збудників нейротропних інфекцій, а також з метою уточнення впливу інфекційних агентів на проникність гематоенцефалічного бар'єру. Доведено, що наявність інфекційного фактору збільшує проникність гематоенцефалічного бар'єру при різних типах перебігу захворювання та може бути несприятливим прогностичним критерієм перебігу розсіяного склерозу. Верифікований інфекційний агент є підставою к проведенню специфічної терапії.

Ключові слова: розсіяний склероз, гематоенцефалічний бар'єр, інфекційний агент.

N. P. Voloshyna, V. V. Vasylovskiy, M. E. Chernenko
 State institution "Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology
 of the NAMS of Ukraine" (Kharkiv)

Influence of infectious factor on the condition of blood-brain barrier in patients with multiple sclerosis

Was investigated liquor of 135 patients with multiple sclerosis on the presence of causative agents of neurophilic infections, and similarly with the purpose of clarification influence of pathogens on permeability of blood-brain barrier. It is well-proven that the presence of infectious factor increases permeability of blood-brain barrier at the different types of course of disease and can serve as the unfavorable prognostic criterion of course of multiple sclerosis. The verified pathogen is a founding of prescription of specific therapy.

Key words: multiple sclerosis, blood-brain barrier, infectious agent.

УДК 616.8-056.7:616.36:577.11

И. К. Волошин-Гапонов

ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины» (г. Харьков)

ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ ТАУ-ПРОТЕИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ГЕПАТОЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИЕЙ

Цель исследования — изучение возможности использования тау-протеина как биологического маркера для определения времени и степени аксонального повреждения нервной системы у больных гепатоцеребральной дегенерацией (ГЦД). Результаты проведенных исследований показали, что у больных ГЦД в невропатологической стадии болезни имеется достоверное повышение содержания тау-протеина в сыворотке крови. Отмечена зависимость содержания тау-протеина от фазы, длительности и тяжести течения заболевания.

Ключевые слова: гепатоцеребральная дегенерация, тау-протеин, биологические маркеры, аксональное повреждение, диагноз

Гепатоцеребральная дегенерация (ГЦД), или болезнь Вильсона — Коновалова — тяжелое наследственное прогрессирующее заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, в основе которого лежит нарушение метаболизма меди. ГЦД характеризуется более чем 400 мутациями гена АТР7В, расположенного на длинном плече 13-й хромосомы. Ген АТР7В экспрессируется преимущественно клетками печени. Дефект же кодируемой им АТФ-азы приводит к тому, что свободные ионы меди после «переполнения» буферных систем печени начинают поступать в кровотоки и избыточно накапливаются в головном мозге, особенно в его базальных ганглиях.[4—6, 15]

По мере накопления меди в структурах головного мозга преневрологическая стадия заболевания переходит в невропатологическую с развитием различных неврологических и психопатологических синдромов, а также колец Кайзера — Флейшера.

Согласно данным литературы и нашим наблюдениям, ГЦД встречается значительно чаще, чем диагностируется. Несмотря на длительную историю изучения этого заболевания, диагностика ГЦД запаздывает в среднем на 3—15 лет. Это объясняется выраженным

клиническим полиморфизмом, неспецифичностью основных клинических синдромов, а также тем, что широкий круг врачей, в том числе неврологов и психиатров, имеют недостаточную настороженность в отношении ГЦД. [2, 4, 7]

Неврологическая стадия заболевания ГЦД приобретает хронический ремиттирующий нейродегенеративный характер, в основе чего лежит нарушение метаболизма и изменение конформации клеточных белков с их последующим накоплением и агрегацией в определенных группах нейронов. К таким белкам, изменяющим структуру при нейродегенеративных заболеваниях, относится и тау-белок.

В многочисленных экспериментальных работах показано, что физиология и морфология нейрона во многом определяется архитектурой его цитоскелета. Тепловой тау-белок участвует в создании микротрубочек цитоскелета нейрона, регуляции роста аксонов и дендритов, а также принимает участие в проведении потенциала действия [10, 14].

Способность тау-протеина регулировать рост аксонов и дендритов зависит от уровня его фосфорилирования, что может играть и патологическую роль. В качестве физиологического эффекта нормально фосфорилированного тау-протеина является стимуляция роста нейрона, регуляция аксонального транспорта, управление динамикой сборки и поддержание стабильности микротрубочек. Гиперфосфорилирование этого белка манифестирует агрегацией с образованием токсичных олигомеров, выход его из микротрубочек с дальнейшей дезорганизацией последних, что в результате способствует апоптозу нейрона за счет развития гипоксии и оксидантного стресса. Последнее определяется тем, что в митохондриях, лишенных бесперебойной доставки по микротрубочкам субстратов окисления и кислорода, наступает разобщение дыхательной цепи.

В нормі тау-протеїни ідентифіковані ісключительно в нейронах, а в умовах патології вони визначаються в нейроглії і других тканих і жидкостях [8, 11—13].

Ети данні експериментів побудили клініцистів дослідити зв'язаний з мікротрубочками тау-протеїн в цереброспинальному лікворі і плазмі крові у больних с демієлінізуючими і дегенеративними захворюваннями [1, 9, 16, 17].

Однако ми не знашли в літературі свідень об дослідванні тау-протеїна у больних ГЦД і примененні его как біологічного маркера в ранній діагностиці цього дегенеративного захворювання.

Нами обслідовано 32 больних с гепатоцеребральною дегенерацією, із них жінок — 11 чоловік і чоловіків — 21 чоловік. На період звернення в клініку інституту середній вік больних склав $31,7 \pm 8,43$ років, вік діапазон больних був від 20 до 50 років.

Вік больних к появленню перших симптомів захворювання склав в середньому $26,0 \pm 7,12$ років, с коливаннями від 15 до 49 років. Час від появи перших симптомів захворювання до постановки остаточного діагнозу, а відповідно і початку етіопатогенетическої терапії, склало в середньому 2,8 роки і коливалось від 1 до 7 років. Довготривалість захворювання була від 1 року до 15 років і в середньому склала $9,2 \pm 2,3$ років.

Діагноз ГЦД встановлювали або підтверджали в клініці інституту на основі наявності кілець Кайзера — Флейшера, зниження вмісту в сироватці крові церулоплазміни нижче 20 мг/дл і збільшення екскреції міді с мочою більш ніж 100 мкг/сутки.

Аналіз клініческої картини у обслідованих нами больних виявил поліморфну, різної степені вираженості неврологіческу симптоматику с преобладанням ураження підкоркових базальних структур великих півкуль головного мозку. В зв'язності від вівідуючих неврологіческих симптомів, згідно класифікації Коновалова (1960), больні були розподілені слівдуючим образом: найбільше кількість больних (14) мило дрозательну форму захворювання, у 9 больних була дрозательно-ригідна форма ГЦД, у 6 больних — екстрапірамідно-коркова форма захворювання, у 2 больних — брюшна форма, а у 1 больногю — аритмогіперкінетическая (рання) форма. У більшості (75 %) больних в статусі отмечались кілца Кайзера — Флейшера.

Група контролю була склалена із 10 пацієнтів, у котрих не було ніяких ознак, зв'язаних с поурядженням центральної нервної системи. Вік контрольної групи знаходився в межах 26—35 років і в середньому склав $32,51 \pm 3,12$ років.

Для визначення вмісту тау-протеїна в сироватці крові больних і осіб контрольної групи нами був використаний імунофлуоресцентний метод [18]. Етот метод дає можливість виявлення субклеточного компонента с помощью специфіческої імунологіческої реакції. Он має високу специфічність і чутливість. Були використані стандартні набори виробництва фірми «Sigma» (США).

Даний метод дає можливість как якісесного візуального описання особностей розподілення оптическої глотності тау-білка у кожного пацієнта, так і кільчесного визначення рівня тау-білка в сироватці крові.

Оцінку інтенсивності флуоресцентного свічення проводили путем визначення оптическої глотності, расчет котрої проводили в умовних відносительних одиницях (OD) с примененієм десятичного логарифма $D = \text{Log } 10 F_{\text{тау}}/F_0$, т. е. оптическая глотність явлється відношенієм глотності фонового свічення (F_0) к глотності свічення конгломерата білка-тау ($F_{\text{тау}}$).

Результати проведенних дослідвань показали, что в сироватці крові больних ГЦД рівень тау-протеїна склав $0,39 \pm 0,037$ умовних одиниць оптическої глотності (OD) і був достовірно ($p < 0,05$) вище чем в групі контролю ($0,034 \pm 0,0032$ OD).

В результаті аналізу зв'язності вмісту тау-протеїна від довготривалості неврологіческої фази захворювання встановлено достовірна зв'язність цих показувелів. У больних с довготривалістю неврологіческої фази захворювання до 5 років вміст тау-протеїна в плазмі крові склав $0,29 \pm 0,031$ OD, а у больних с довготривалістю неврологіческої фази захворювання 5 років і більш етот показувелі був $0,49 \pm 0,05$ OD.

Проведене дослідвання в динаміці у больних, отлучаючих сучасне патогенетическое лічєніє, направленне на зв'язування іонів вольної токсическої міді і виведення их із організму с помощью хелатних препаратів (купренила), не показало достовірного зниження вмісту тау-протеїна в сироватці крові цих больних.

В зв'язності с етим можна передположити, что стабілізація мідьдепонуючого балансу, с нормалізацією вмісту церулоплазміни в крові, віроятно не может решить всіх проблем течення і реабілітації больних ГЦД. Очевидно, в патогенез розвитку дегенеративного процесу в мозгу больних ГЦД, крім токсического впливу вольної нецерулоплазминой міді, включаються і другие патогенні фактори, в частности і такі как аутоіммунні і гемодіаіруляторні.

В своїх дослідваннях ми не знашли зв'язності між формою ГЦД і вмістом тау-протеїна в плазмі крові больних. Однак отмечается тенденція к підвищенню ($0,43 \pm 0,039$ OD) вмісту тау-протеїна в плазмі крові тау-протеїна у больних с більш тяжелієм теченієм захворювання і особливо у тих больних, у котрих МР-томографічески отмечается мультисистемна атрофія головного мозку.

Также нами не отмечено достовірних гендерних особностей вмісту тау-протеїна в сироватці крові чоловіків і жінок, больних ГЦД.

Результати проведенних дослідвань дозволяють зробити слівдуючі висновки.

Високий рівень тау-протеїна в сироватці крові больних ГЦД свідечує про его гіперагрегації, что обусловлено вторичними нейродегенеративними процесами у цих больних.

Повищений рівень тау-протеїна в плазмі крові больних ГЦД может быть раннім біологіческим маркером розвитку неврологіческої фази захворювання.

Этот маркер может быть использован для осуществления мониторинга течения нейродегенеративного процесса у больных гепатоцеребральной дегенерацией, а следовательно и прогноза течения заболевания.

Список литературы

1. Тепловој белок-тау как маркер аксонального повреждения головного мозга / [Н. П. Волошина, О. В. Егоркина, Е. А. Лекомцева и др.]. // Украинський вісник психоневрології. — 2009. — Т. 17, вип. 4(61). — С. 3—5.
2. Волошин-Гапонов І. К. Сучасні уявлення про етіологію та патогенез хвороби Вільсона — Коновалова / І. К. Волошин-Гапонов // Украинський вісник психоневрології. — 2012. — Т. 20, вип. 3(72). — С. 19—21.
3. Коновалов Н. В. Гепатоцеребральная дистрофия / Н. В. Коновалов. — М.: Медицина, 1960. — 555 с.
4. Мартынюк Г. А., Хорунжевская И. С. Клинико-диагностические особенности семейного случая болезни Вильсона — Коновалова. Хронический гепатит В: практические рекомендации Американской ассоциации по изучению заболеваний печени / Г. А. Мартынюк, И. С. Хорунжевская // РЖГГК. — 2008. — № 1. — С. 4—25.
5. Аутоантитела к белкам нервной ткани при гепатолентикулярной дегенерации / [Морозов С. Г., Усанова М. П., Полещук В. В. и др.] // Журнал неврологии и психиатрии. — 2001. — № 10. — С. 37—39.
6. Никифоров А. С. Клиническая неврология : учебник для слушателей последипломного образования: В 3 т.: т. 1 / Никифоров А. С., Коновалов А. Н., Гусев Е. И. — М.: Изд-во Медицина, 2002. — 704 с.
7. Сухарева Г. В. Гепатолентикулярная дегенерация / Г. В. Сухарева. В кн.: Избранные главы клинической гастроэнтерологии. — М., 2005. — С. 199—209.

8. Role of Tau protein in bots Physiological and pathological conditios / [J. Avila, J. J. Lucas, Rez Mar, F. Hernjndes] // *Physiol. Rev.* — 2004. — Vol. 84. — P. 361—384.
9. Bartosik-Psujek, H. Tau protein and 14-3-3 are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis and correlate with intrathecal synthesis of IgG / H. Bartosik-Psujek, J. J. Archelos // *Journal of Neurology.* — 2004. — Vol. 251, № 4. — P. 414—420.
10. Brandt R. The tau proteins in neuronal growth and development / R. Brandt // *Bioscience.* — 1996. — P. 118—130.
11. Nod-like protein in inflammation and disease / [L. Carnerio, J. Magalhes, I. Tattoli, et al.] // *J. Pathol.* — 2008. — № 214. — P. 136—148.
12. Drubin D. Tau protein function in living cells / D. Drubin, M. Kirschner // *J. Cell Biol.* — 1986. — Vol. 103. — P. 2739—2746.
13. Goedert M. Molecular characterization of microtubule-associated proteins tau and MAP2 / M. Goedert, R. A. Crowther, C. C. Garner // *Trends Neurosci.* — 1991. — № 14 (5). — P. 193—199.
14. Hirano A. Neurons and Astrocytes / A. Hirano. In: *Textbook of Neuropathology* Eds. Davis R., Robertson D. — Baltimore: William and Wilkins, 1997. — P. 1—109.
15. Novel mutations of the ATP7B gene in Japanese patients with Wilson disease / [Kusuda Y., Hamaguchi K., Mori T. et al.] // *J. Hum. Genet.* — 2000. — 45.
16. Cerebrospinal fluid totaltau protein levels in patients with multiple sclerosis / [Terzi M., Birinci A., Cetinkaya E., Onar M. K.] // *Asta Neurol Scand.* — 2007. — Vol. 15, № 5. — P. 325—330.
17. Zaffaroni M. Biological markers of a MS neurodegenerative phase / M. Zaffaroni // *Neurological Sciences.* — 2006. — Vol. 24 (5). — P. 279—282.
18. Zemlan P. F. US Patent and Method of detecting axonal-derived protein tau in patients with traumatic CNS injury / P. F. Zemlan // *Traumatic CNS injury.* — 2003.

Надійшла до редакції 25.12.2012 р.

I. К. Волошин-Гапонов

ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України» (м. Харків)

Особенности вмісту тау-протеїну у сироватці крові хворих на гепатоцеребральну дегенерацію

Мета дослідження — вивчення можливості використання тау-протеїну як біологічного маркера для визначення часу і ступеня аксонального ушкодження нервової системи у хворих на гепатоцеребральну дегенерацію (ГЦД). Результати проведених досліджень показали, що у хворих на ГЦД в невропатологічній стадії хвороби має місце достовірне підвищення вмісту тау-протеїну в сироватці крові. Відмічена залежність вмісту тау-протеїну від фази, тривалості і тяжкості перебігу захворювання.

Ключові слова: гепатоцеребральна дегенерація, тау-протеїн, біологічні маркери, аксональне ушкодження, діагноз.

I. K. Voloshyn-Gaponov

State institution "Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the NAMS of Ukraine" (Kharkiv)

Tau protein as the marker of axonal damage of cerebrum in patients with hepatocerebral degeneration

The aim of the research is to study the possibility of using the tau protein as a biological marker for determination of the time and degree of axonal damage of the nervous system in patients with hepatocerebral degeneration (GCD). The results of undertaken studies had showed that the patients with GCD in neuropathological stage of the disease had a significant increasing of tau protein content in the serum of blood. It was marked the dependence of tau protein content on a phase, duration, severity and course of the disease.

Keywords: hepatocerebral degeneration, tau protein, biological markers, axonal damage, diagnosis.