

УДК 616.831-001:616

Тепловий білок тау як новий біомаркер психо-аксонального пошкодження головного мозку у хворих на розсіяний склероз

Василовський В.В., Гапонов І.К., Лекомцева Є.В.

У роботі викладено сучасний погляд на проблему діагностики психо-аксонального пошкодження головного мозку у осіб з розсіяним склерозом, де особливу увагу було приділено ролі теплового тау (τ) протеїну як нового серологічного біомаркеру дифузного психо-аксонального пошкодження. Було проведено дослідження вмісту патологічного тау білку у 50 хворих на розсіяний склероз (19-54 років), у 10 хворих на психоепілепсію (24-42 років) та у 10 здорових жінок (20-35 років) імунофлюоресцентним методом з використанням первинних та вторинних моноклональних антитіл. Показано, що особи з розсіяним склерозом мали високу концентрацію тау порівняно з контролем, що може відображати тяжкість перебігу хвороби та розвиток різноманітних психоневрологічних змін.

Ключові слова: маркери психо-аксонального пошкодження головного мозку, тепловий тау (τ) протеїн, розсіяний склероз

В работе изложен современный взгляд на проблему диагностики психо-аксонального повреждения головного мозга у лиц с рассеянным склерозом, где особое внимание уделено роли теплового тау (τ) протеина как нового биомаркера психо-аксонального повреждения. Проведено исследование содержания патологического тау белка у 50 лиц с РС (19-54 года), у 10 лиц с психоэпилепсией (24-42 лет) и у 10 здоровых женщин (20-35 лет) иммунофлюоресцентным методом с использованием первичных и вторичных моноклональных антител. Показано, что у лиц с РС отмечается высокая концентрация тау по сравнению с контролем, что может отображать тяжесть течения и развитие различных психоневрологических изменений.

Ключевые слова: маркеры психо-аксонального повреждения головного мозга, тепловой τ -тау протеин, рассеянный склероз

V.V. Vasilovsky, I.K. Gaponov, Yevgeniya Vl. Lekomtseva Heating Tau Protein as a New Biomarker of Psycho-axonal Damage of Main-brain in Patients with Multiple Sclerosis

The article presented a current view of problem of diagnostics of psycho-axonal brain damage in multiple sclerosis where the particular attention was given to the role of heat tau (τ) protein as a brand-new serological biomarker of psychological axonal damage. This investigation measured pathological tau protein in 50 patients with multiple sclerosis (ranged 19-54 years) compare with 10 patients with psycho-epilepsy (24-42 years) and 10 healthy controls (20-35 years) by immunofluorescence method using primary and secondary monoclonal antibodies. It was shown that patients with multiple sclerosis had very high concentration of tau in sera vs. controls that could reflect the severe of disease and development of different psychoneurological changes.

Key words: markers of psycho-axonal brain damage, heat tau (τ) protein, multiple sclerosis

На сьогоднішній день захворювання центральної нервної системи являються самою актуальною проблемою сучасної психоневрології. Огromне медико-соціальне значення цієї проблеми визначається, перше за все, їх великою часткою в структурі захворюваності, так, наприклад, поширеність розсіяного склерозу (РС) в Україні становить приблизно 49,0 на 100 тис. нас. [1].

Складною і необхідною проблемою практичної психоневрології є рання діагностика РС з верифікацією етіо-патогенетических і психоневрологіческих даних. Визначення біомаркерів ураження структур нейронних мембран, дозволяє вирішити проблему своєчасної і адекватної діагностики, її причин і особливостей течення різних психологіческих варіантів [2]. Визначення маркерів, які б відображали стан структурних, і відповідно психологіческих даних, відображають ступінь тяжкості течення цього стану, становить дуже необхідну проблему практичної психоневрології і в частині, психології.

Психо-аксональне ураження головного мозку є відмінною патологіческою рисою мозкової травми (ЧМТ) і пов'язано з дифузним ураженням і виходом аксоплазми з нейрона [3-6]. Авторами показано, що на протязі 6-12 годин після ЧМТ [7] або ураження головного мозку інфекційно-воспалительного генезу [2, 8-9] спостерігається дезорганізація нейрофіламентного скелета і мембрани аксонів з наступним порушенням аксоплазматического потоку. Одним з умов, асоційованим з аксональним ураженням, також є демієлінізуючий процес. Во многих работах показано, что белок необходимый для создания цитоскелета нейрона был идентифицирован [10-15] и обозначен как тау (τ) протеин (Tau protein), [16] белки, являющиеся неотъемлемой частью цитоскелета нейрона, оказывают важное влияние на его физиологию [11-18]. Тау регулирует образование микротрубочек и служит для проведения информации из одной ее части в другую. Уникальная возможность тау восстанавливать нормальные свойства микротьюбульной агрегации делают его одним из важнейших регуляторов передачи информационного процесса в нервной системе и основным показателем отражающим все психические данные пациента и его психологическую дисфункцию [16-18]. Роль теплового белка тау- τ в механизмах психо-аксонального повреждения, на сегодняшний день, до конца не изучена.

Визначення особливостей вмісту теплового білка тау у РС дозволить розширити представлення не тільки про нейропатохімію, але і про психологіческу природу цього захворювання,

повысить качество диагностики разнообразных психологических синдромов. Таким образом, все изложенное свидетельствует о необходимости исследования рассматриваемой проблемы и обуславливает актуальность данной работы.

Целью данного исследования было изучение содержания тау- τ у РС.

Обследуемые, материал и методы исследования: В основу работы положены результаты обследования 50 больных РС, которые находились на консультации в ДУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины» в возрасте от 19 до 54 лет (средний возраст обследованных – $35,023 \pm 9,051$ лет). Данные пациенты составили основную исследовательскую группу. Из них 18 мужчин (22 %) в возрасте от 24 до 51 лет (средний возраст составляет $31,58 \pm 8,49$ лет) и 67 женщин (78 %) в возрасте от 19 до 52 лет (средний возраст – $36,03 \pm 9,02$ лет).

У всех РС наблюдались психические и разнообразные психологические изменения, такие как, резкие смены настроения, выраженные психические изменения личности, снижение памяти. Контрольная группа состояла из 10 практически здоровых лиц: женщины в возрасте от 20 до 35 лет, с благоприятной наследственностью и отсутствием неврологической и соматической патологии. Группа сравнения была сформирована из 10 пациентов с эпилепсией, женщины в возрасте от 24 до 42 лет (средний возраст группы обследованных составил $31,57 \pm 9,67$ лет). Средняя длительность течения эпилепсии составила $24,11 \pm 5,92$ лет, больные эпилепсией, принявшие участие в обследовании, были с частыми припадками и фармакорезистентным течением эпилепсии.

Для определения содержания тау в сыворотке крови человека был использован иммунофлуоресцентный метод (метод Zemlan F., 2003) [19]. В исследовании были использованы мышинные антитела IgG (γ -chain specific) FITC конъюгированные (Affinity isolated antigen specific antibodies) и моноклональные анти- τ (Tau) антитела Clone TAU-2, Mouse Ascites Fluid (SIGMA, США). Оценка результатов флуоресцентного свечения проводилась с применением микроскопа «Olympus» BX41 (Япония) при увеличении $\times 100$, $\times 600$: коэффициент поглощения, Zeiss – 135, расчет оптической плотности в условных единицах производился с применением десятичного логарифма ($D = \log_{10} \frac{F_{\text{tau}}}{F_0}$). Обследование включало сбор анамнестических данных, неврологическое, психологические обследования.

Статистическая обработка результатов исследования производилась с использованием пакета статистических программ «Statgraph», для оценки связи между рядами наблюдений проводили корреляционный анализ с вычислением линейного коэффициента Стьюдента (t- критерий).

Результаты и их обсуждение:

Результаты исследования и статистической обработки данных изучения содержания тау у всех обследованных лиц показало, что содержание тау повышено у РС как по сравнению со здоровым контролем, так и при сравнении с группой психоневрологического контроля. Наше исследование показало, что концентрация тау в сыворотке крови достоверно повышена; данный показатель повышен на 0,83 усл. ед. оптической плотности (OD) у больных с РС по сравнению со здоровым контролем ($p < 0,001$) и на 0,64 OD – по сравнению с больными психопилепсией (группа сравнения) ($p < 0,05$). Анализ степеней отклонения от контрольных значений (t-критерий) уровня тау- τ выявил, что наблюдаемая разница между показателями была достаточно выражена ($t = 1,42$ и $t = 2,6$, соответственно). Таким образом, у лиц с психо-эпилепсией и у лиц с РС отмечается достоверное повышение уровня тау протеина в сыворотке крови.

Вопрос о содержании тепловых протеинов цитоскелета нейрона является принципиально важным с точки зрения патогенеза психологических изменений и дифференциальной диагностики. У лиц с РС высокий уровень тау в крови может отражать как степень выраженности воспалительных изменений в нервной системе, которые вызваны повреждением нейромембраны, так и степень выраженности психических изменений и психологической дисфункции; также наши полученные данные совпадают с данными зарубежных авторов [2, 6, 19].

Анализ данных иммунофлуоресцентного исследования содержания тау и изучения особенностей распределения его плотности, показал, что у лиц с РС имеет место повышение уровня тау на 0,83 по сравнению с контрольными показателями ($p < 0,001$) и показал, что у лиц с РС встречаются разные плотности распределения депозитов тау протеина: однородное и фрагментарное.

Результаты проведенного исследования делают целесообразным, интересным и нужным дальнейшее изучение содержания тау протеина у лиц с РС и изучение состояния других маркеров психоаксонального повреждения головного мозга в сочетании с корреляциями разнообразных психологических тестов и с определением их прогностической роли в патогенезе психических и психологических изменений.

Выводы: В работе приведено новое решение научно-практической задачи, которая состояла в изучении содержания патологического теплового τ -протеина у лиц с РС, как нового, адекватного маркера психо-аксонального повреждения головного мозга. Показано, что у лиц с РС, имеет место значительное повышение его уровня. Идентификация тау может служить хорошим маркером психо-аксонального повреждения, которое сопровождает течение РС. Данное исследование свидетельствует о необходимости продолжения рассматриваемой проблемы.

Literatura

1. Voloshin P.V., Mishhenko T.S., Lekomceva E.V. Analiz poshirenosti ta zahvorjuvanosti na nervovi hvorobi v Ukraïni // Mizhnarodnij nevrologichnij zhurnal.- 2006.- № 3 (7).- S. 9-14.
2. Samujel's M. Nevrologija (per. s angl.).- M.: Praktika, 1997.- 638 s.
3. Binder L., Frankfurter A., Rebhun L. The distribution of tau in the mammalian central nervous system // J. Cell Biol.- 1985.- Vol. 101.- P. 1371-1378.
4. Bonte F. et al Differential diagnosis between Alzheimer's and frontotemporal disease by the posterior cingulated sign // J. Nucl. Med.- 2004.- № 45 (5).- P. 771-774.
5. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem.- 1976.- Vol. 72.- P. 248-254.
6. Brandt R. The tau proteins in neuronal growth and development // Bioscience.- 1996.- P. 118-130.
7. Bulut M., Koksall O., Dogan S. et al Tau protein as a serum marker of brain damage in mild traumatic brain injury: Preliminary results // Advances in Therapy.- 2006.- № 23 (1).- P. 12-22.
8. Carneiro L., Magalhaes J., Tattoli I., Philpot D., Travassos L. Nod-like proteins in inflammation and disease // J. Pathol.- 2008.- № 214.- P. 136-148.
9. Cleveland D., Hwo Y., Kirschner M. Purification of tau, a microtubule-associated protein that induces assembly of microtubules from purified tubulin // J. Mol. Biol.- 1977.- Vol. 116.- P. 207-225.
10. Daniels M. The role of microtubules in the growth and stabilization of nerve fibers // Ann. Acad. Sci.- 1975.- Vol. 253.- P. 535-544.
11. Delacourte A. Tauopathies: recent insights into old diseases // Folia Neuropathol.- 2005.- № 43.- P. 244-257.
12. Drubin D., Kirschner M. Tau protein function in living cells // J. Cell Biol.- 1986.- Vol. 103.- P. 2739-2746.
13. Guimarães J., Cardoso M., Sá M. Tau protein seems not to be a useful routine clinical marker of axonal damage in multiple sclerosis // Multiple Sclerosis.- 2006.- Vol. 12, N 3.- P. 354-356.
14. Higuchi M., Trojanowski J., Lee V. Tau protein and taupathy. Chapter in the book Tau positive filamentous lesions in neurodegenerative diseases.- 2000.- 332 p.
15. Irazuzta J., Courten-Myers G., Zemlan F., Bekkedal M., Rossi J. Serum cleaved Tau protein and neurobehavioral battery of tests as markers of brain injury in experimental bacterial meningitis // Brain Research.- 2001.- № 913 (1). P. 95-105.
16. Irving E., Yatsushiro K., Culloch J., Dewar D. Rapid alteration of Tau in oligodendrocytes after focal ischemic injury in the rat: involvement of free radicals // Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism.- 1997.- № 16.- P. 612-622.
17. Kapaki E., Paraskevas G., Michalopoulou M., Kilidireas K. Increased cerebrospinal fluid tau protein in multiple sclerosis // Eur. Neurol.- 2000.- № 43 (4).- P. 228-232.
18. Roder H.M., Hutton M.L. Microtubule-associated protein tau as a therapeutic target in neurodegenerative disease // Expert Opin. Ther. Targets.- 2007.- № 11 (4).- P. 435-442.
19. Zemlan P.F. (2003) US Patent 6589746 - Method of detecting axonally-derived protein tau in patients with traumatic CNS injury // Traumatic CNS injury.
20. Psihologicheskie issledovanija: sb. nauchn. tr., Vypusk 2 / pod redakciej A.Ju. Agafonova, V.V. Shpuntovoj.- Samara: izd. «Univers-Grupp», 2006 g. – 292 s.