

## ВИКОРИСТАННЯ НЕЙРОСПЕЦИФІЧНИХ ПРОТЕЇНІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ТЯЖКОСТІ ТРАВМАТИЧНОГО УШКОДЖЕННЯ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

©С. Я. Коровка

Донецький національний медичний університет ім. М. Горького

**РЕЗЮМЕ:** З метою вироблення об'єктивних критеріїв для оцінки тяжкості ушкодження головного мозку вивчено вміст нейроспецифічних протеїнів NSE і S100B в динаміці після моделювання тяжкої черепно-мозкової травми. Виявлено прогресивне наростання в крові концентрацій NSE і S100B, що відображає процеси як первинного травматичного ушкодження, так і вторинної посттравматичної деструкції мозку. Встановлені взаємозв'язки є патогенетичним обґрунтуванням для визначення NSE і S100B в якості маркерів, що об'єктивно характеризують ступінь ушкодження тканини мозку.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** NSE, S100B, діагностичні маркери, патогенез, травма мозку.

**Вступ.** Використання методів нейровізуалізації і електрофізіологічного обстеження, що є традиційними для діагностики стану хворих після черепно-мозкової травми (ЧМТ) не завжди дозволяє об'єктивно оцінити ступінь ураження тканини головного мозку [1, 2]. Тому все більшу увагу привертають методи лабораторного визначення рівня нейроспецифічних білків (НСБ) – біологічно активних молекул, специфічних для нервових тканин, які виконують функції, характерні для нервової системи [3, 4, 5]. Найбільш вивченими у біохімічному і імунологічному планах є нейронспецифічна енолаза (NSE) та нейрогліальний білок S100.

NSE є  $\gamma\gamma$ -субодиниця ферменту з циклу гліколізу – енолази, яка перетворює 2-фосфо-D-гліцеринову кислоту у фосфоенолпіруват з відщепленням однієї молекули води [2, 6]. Оскільки NSE локалізується в цитоплазмі клітин нейроектодермального походження, її вважають маркером залучення до патологічного процесу нейронів головного мозку і периферійної нервової системи [2, 7].

Пул протеїнів S100 є великою групою кислих кальційзв'язуючих білків, концентрація яких в мозку в 100 000 разів перевищує вміст в інших тканинах. Ці речовини складають не менш ніж 90 % розчинної фракції білків нервових клітин і зосереджені переважно в астроглії [3, 5, 7]. Основною їх функцією є медіаторна й модуляторна в глія-нейрональних і глія-гліальних взаємовідносинах. Основним медіатором цих процесів виступає білок S100B, що секритується гліальними клітинами.

Встановлено, що поява в крові, спині та в спинномозковій рідині хворих на ЧМТ підвищеного вмісту NSE і/або S100B може корелювати з розвитком нейродеструкції й порушенням функції гематоенцефалічного бар'єру [7].

**Мета роботи:** Різноманіття патофізіологічних, біохімічних і морфофункціональних змін, що формуються в організмі потерпілих, примушує продовжити вивчення ролі НСБ в патогенезі ЧМТ з метою вироблення об'єктивних критеріїв для оцінки динаміки і тяжкості ушкодження головного мозку в посттравматичному періоді.

**Матеріал і методи дослідження.** Дослідження виконане на 61 білому безпородному щурі-самці масою  $200 \pm 10$  гр. ЧМТ наносили одним ударом по склепінню черепа вантажем, що вільно падав, за методикою В. М. Єльського (2008). Енергія удару складала 0,52 Дж, летальність за перші 5 діб після травми – 87 %. Підготовку тварин до експериментів, знеболювання і виведення з експерименту здійснювали відповідно до Європейської Конвенції з захисту хребетних тварин, використовуваних для дослідницьких і інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Контрольну групу склали 15 несправжньооперованих тварин.

Наступне розкриття головного мозку показало наявність піднадкісткових, субдуральних й епідуральних гематом, гематом на основі черепа, ділянок розтрощення мозкової тканини й дедриту в зоні удару, набряк в ділянці гіпофіза. Це дозволило встановити, що у тварин мала місце закрыта ЧМТ при наявності шкірної гематоми й перелому кісток склепіння черепа без зсуву, середньо-тяжкого ступеня тяжкості з наявністю розтрощення кори тім'яних і скроневи часток (у зоні удару) і основи лобових і скроневи часток (у зоні протиудару); ушкодження речовини головного мозку у вигляді дифузійних дрібноточкових крововиливів; "оболонкової" гематоми – у зоні удару. У декапітаційній крові, яку збирали через 3, 24, 48, 72 години та через 5 діб після травми, досліджували вміст NSE і S100B. Аналіз проводили імуноферментними наборами фірми DRG International, Inc. (США) – для визначення NSE та фірми FUJIREBIO™ Diagnostics, Inc. (Швеція) – для визначення S100B на ридері PR2100 ("Sanofi Diagnostic Pasteur", Франція). Дані були піддані статистичній обробці з використанням методу множинних порівнянь в програмі статистичного аналізу StatPlus-2009 (AnalystSoft Inc.).

**Результати й обговорення.** Дослідження динаміки вмісту в крові маркерів посттравматичного ушкодження головного мозку представлено в таблиці 1.

Через 3 і 24 години після травми рівень білка S100B перевищував контрольні значення в 4,6–

Таблиця 1. Вміст в крові НСБ в посттравматичному періоді,  $M \pm m$

Показник	Контроль	Час після травми				
		3 години	24 години	48 годин	72 години	5 діб
S 100B, пкг/мл	26,5± 2,55	120,7± 10,9 *	132,0± 11,6 *	189,3± 16,9 *	221,6± 20,3 *	243,9± 25,7 *
NSE, нг/мл	1,32± 0,09	10,25± 1,18 *	12,76± 1,06 *	20,84± 1,68 *	25,86± 2,36 *	32,56± 3,51 *

Примітка: \* -  $p < 0,05$  при порівнянні середніх величин з контрольною групою.

5,0 разів, відповідно ( $p < 0,05$  в обох випадках). Вторинний приріст рівня в крові білка S100B відбувався через 48 годин після травми – в 7,1 раза; надалі його рівень стабілізувався на цих значеннях, перевищуючи контрольний через 72 години і 5 діб після травми в 8,4 і 9,2 раза відповідно ( $p < 0,05$  в усіх випадках).

Необхідно зазначити, що рівень в крові білка S100B через 48 годин після травми був статистично достовірно вищим, ніж через 24 години (у 1,4 раза;  $p < 0,05$ ), тоді як між значеннями 48, 72 годин та 5 діб різниці відмічено не було. Очевидно, що ріст рівня в крові білка S100B відбувався не поступально, а стрибкоподібно, з двома максимумами: перший через 3, а другий – за 48 годин після травми. Мабуть в пізньому періоді відбувалося посилення деструкції нервової тканини за рахунок вторинної гіпоксії, енергодефіциту і розвитку системної токсемії.

В посттравматичному періоді вміст білка S100B зростає прогресивно, що відображало процеси як первинного травматичного ушкодження мозку, так і вторинної посттравматичної деструкції, що розвивається згодом. Необхідно також враховувати, що однією з провідних причин появи білка S100B в крові після ЧМТ, як у ранньому, так і в пізньому періоді, є підвищення проникності гематоенцефалічного бар'єру [7]. На думку Е. В. Григор'єва [4] міра зростання рівня білка S100B в крові і/або спинномозковій

рідині відображає тяжкість стану хворого при ЧМТ, інсультах, а також при інших нейродегенеративних захворюваннях. Підвищення вмісту білка S100B в крові є предиктором летального викиду при важкій ЧМТ і розвитку посттравматичної енцефалопатії при легкій і середньотяжкій травмі [3].

Як впливає з даних, наведених в таблиці 1, рівень NSE в посттравматичному періоді істотно підвищувався в усі терміни спостереження та був статистично значимо вищим за контрольні величини. При цьому характер приросту рівня NSE, на відміну від білка S100B, був не стрибкоподібним, а поступальним, проте відрізнявся значно більшим ступенем. Так, рівень NSE через 3 години після травми перевищував контрольний в 7,8 раза, а через 24 години – в 9,7 раза. Це вказувало на різкий приріст значень маркера з першої доби після травми внаслідок посттравматичної деструкції нервової тканини та порушення проникності гематоенцефалічного бар'єру.

Через 48 годин після травми рівень NSE продовжував збільшуватися й перевищив контрольний в 15,8 раза. При цьому він був статистично достовірно вищим за рівень 24 годин (у 1,6 раза,  $p < 0,05$ ). Цей факт, як і у випадку з білком S100B, вказував на різке погіршення стану мозкової тканини на другу добу після травми. Порівняння динаміки рівнів в крові обох нейрональних білків представлено на рисунку 1.

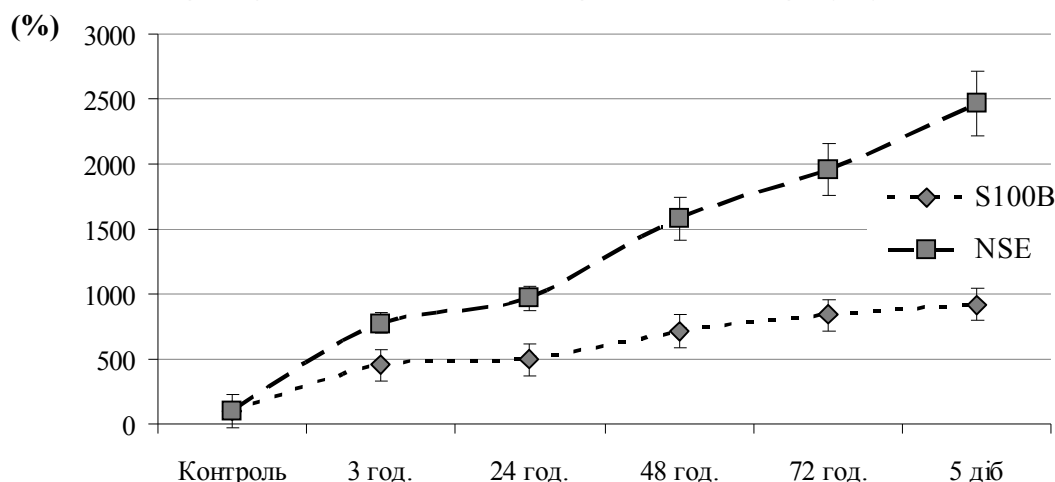


Рис. 1. Динаміка вмісту білків S100B і NSE в посттравматичному періоді (усі показники виражені в % від контрольного рівня, який прийнятий за 100 %).

Через 72 години і 5 діб після травми рівень NSE перевищував контрольний в 19,6 раза і 24,7 раза відповідно, що вказувало на прогрес деструктивних процесів в пізні терміни посттравматичного періоду.

Обговорюючи патогенетичний взаємозв'язок динаміки НСБ з періодами формування посттравматичного ушкодження головного мозку необхідно відмітити, що гліальні клітини не лише створюють структурний тривимірний каркас для нейронів, але й інтенсивно взаємодіють з ними завдяки наявності іонних каналів, а також рецепторів до нейротрансмітерів та інших сигнальних молекул в їх дистальних відростках. Астроцити здатні реєструвати зміну активності нейронів і відповідати підвищенням концентрації кальцію в цитозолі з генерацією кальцієвих хвиль. Далі, при безпосередній участі білків S100, кальцієвий сигнал перетворюється в модуляцію експресії відповідних генів, зміну морфології астроглії й секрецію ними ряду нейроактивних молекул, таких як глутамат, D-серин, АТФ, таурин, нейротрофи і цитокіни [3].

Проте, необхідно враховувати, що білок S100В проявляє нейротрофічну активність при фізіологічній концентрації, тоді як при високій – здатний чинити нейротоксичну дію. Білок S100В, що вивільняється з нейронів при їх некрозі, посилює нейродегенерацію шляхом запуску S100В-індукованого апоптозу [3]. У мікромольних концентраціях позаклітинний S100В чинить нейротоксичну дію, інду-

куючи не лише апоптоз, але й некроз. Це обумовлено здатністю S100В активувати прозапальні цитокіни, індуцибельну NO-синтазу і, як наслідок, – оксидативний стрес. S100В посилює експресію IL-1 $\beta$  і IL-6 в нервовій тканині, а, через активацію утворення NO, – IL-8 та TNF $\alpha$ . У свою чергу, інтерлейкіни індукують експресію S100В, замикаючи патогенетичний круг нейротоксичних ефектів, який формується через 48–72 години після травми. Безумовно, ключову роль при цьому відіграє неадекватність процесів метаболічного забезпечення і накопичення в тканині мозку та в крові ендотоксинів з подальшим формуванням синдрому ендогенної інтоксикації і поліорганної недостатності.

**Висновки.** В посттравматичному періоді виявлено прогресивне накопичення в крові NSE та S100В, динаміка яких була обумовлена розвитком первинних і вторинних ушкоджень тканини головного мозку і гематоенцефалічного бар'єру. Встановлені взаємозв'язки є патогенетичним обґрунтуванням для використання NSE та S100В в якості маркерів, що об'єктивно характеризують ступінь ушкодження головного мозку.

Визначення рівня НСБ в крові сприяє ранній діагностиці, оскільки статистично значущі зміни їх концентрації відбуваються раніш, ніж ті ушкодження, які можна виявити методами інструментального обстеження. Внаслідок цього, рівні НСБ можуть бути використані як критерії для оцінки прогнозу перебігу ЧМТ.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Диагностика и мониторинг нейронального повреждения при тяжелой черепно-мозговой травме / Андреева Н. А., Шуматов В. Б., Клименко В. Е. [и др.] // *Общая реаниматология*. – 2010. – № 1. – С. 17-21.
2. Надеждина М. В. Нейронспецифическая енолаза как индикатор поражения мозговой ткани при ишемических инсультах / Надеждина М. В., Корякина Г. М., Хинко М. А. // *Неврологический вестник*. – 2007. – № 1. – С. 41-44.
3. Белобородова Н. В. Диагностическая значимость белка s100b при критических состояниях / Белобородова Н. В., Дмитриева И. Б., Черневская Е. А. // *Общая реаниматология*. – 2011. – № 6. – С. 72-76.
4. Нейронспецифические белки – маркеры энцефалопатии при тяжелой сочетанной травме / Григорьев Е. В.,

Вавин Г. В., Гришанова Т. Г. [и др.] // *Медицина неотложных состояний*. – 2012. – № 2 (27). – С. 40-46.

5. Белок S100В и аутоантитела к нему в диагностике поврежденного мозга при черепно-мозговых травмах у детей / В. Г. Пинелис, О. В. Карасева, В. П. Реутов [и др.] // *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. – 2010. – № 8. – С. 30-35.

6. Жукова И. А. Нейронспецифическая енолаза как неспецифический маркер нейродегенеративного процесса / Жукова И. А., Алифирова В. М., Жукова Н. Г. // *Бюллетень сибирской медицины*. – 2011. – № 2. – С. 15-21.

7. Serum S100b. A noninvasive marker of blood-brain barrier function and brain lesions / A. A. Kanner, N. Marchi, V. Fazio [et al.] // *Cancer*. – 2003. – Vol. 97. – P. 2806–2813.

## THE USAGE OF NEUROSPECIFIC PROTEINS FOR DETERMINATION OF SEVERITY OF TRAUMATIC BRAIN INJURY

©S. Ya. Korovka

*Donetsk National Medical University by M. Horkyi*

**SUMMARY.** The content of neurospecific proteins NSE and S100B was investigated in dynamics after severe craniocerebral trauma for determination of objective criteria of injury estimation severity. The progressive increase of NSE and S100B concentration in blood was revealed, that reflect processes of primary traumatic injury and secondary post-traumatic destruction. These established relations are pathogenetic basis for NSE and S100B estimation such as markers for objective assessment of brain injury degree.

**KEY WORDS:** NSE, S100B, diagnostic markers, pathogenesis, brain injury.