

УДК 616.8-092.9-071-08:612.015.348

Н. П. Волошина, д-р мед. наук, проф., зав. отд. нейроинфекцій і розсіяного склероза ГУ «ІНПН АМН України», О. В. Егоркіна, науч. сотрудник отд. нейроинфекцій і розсіяного склероза, Е. В. Лекомцева, ст. науч. сотрудник лаб. биохимии, И. К. Гапонов, ст. лаборант отд-ния нейропсихокрибернетики ГУ «ІНПН АМН України», Т. В. Горбач и Г. И. Губина-Вакулик, каф. биохимии Харьковского Национального медицинского ун-та ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии АМН Украины», Харьковский Национальный медицинский университет (г. Харьков)

ТЕПЛОВОЙ БЕЛОК ТАУ — КАК МАРКЕР АКСОНАЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА

В работе изложен современный взгляд на проблему адекватной диагностики аксонального повреждения головного мозга у больных с рассеянным склерозом и посттравматической эпилепсией. Показано, что повышенный уровень тау-протеина является маркером аксонального повреждения головного и спинного мозга и может быть использован для мониторинга результатов терапии и способствовать постановке прогноза течения и исхода заболевания.

Ключевые слова: тау-белок, демиелинизация, патология аксона, биологические маркеры.

Различные биомаркеры в человеческих жидкостях дают возможность диагностировать и мониторировать лечение многих неврологических заболеваний. Одним из таких маркеров может быть тепловой белок (*Tau protein*).

В многочисленных экспериментальных работах показано, что физиология и морфология нейрона во многом определяется архитектурой его цитоскелета, основой которого являются белки нейрофиламентов. Тепловой тау-белок участвует в создании микротрубочек цитоскелета нейрона, в регуляции роста аксонов и дендритов, а также в проведении потенциала действия. Нейрофиламенты, в том числе и тау-белки, особенно многочисленные в крупных нейронах с длинным аксоном, таких как мотонейроны. Они содержат полипептидные субъединицы, которые формируются в теле мотонейрона и транспортируются по аксону. В норме тау-белки определяются преимущественно в структурах нейрона, в то время как в условиях патологии они определяются и в других различных тканях и жидкостях [1—8].

Для тау-белка характерна биохимическая гетерогенность в различных субпопуляциях нейронов. Функциональное состояние тау-белка зависит от уровня его фосфорилирования. При нормальном фосфорилировании он является стимулятором роста нейрона, регулятором аксонального транспорта и поддержки стабильности микротрубочек. Гиперфосфорилирование этого белка манифестирует агрегацией с образованием токсических олигомеров, выходом его из микротрубочек с дальнейшей дезорганизацией последних. В митохондриях, лишенных бесперебойной доставки по микротрубочкам субстратов окисления и кислорода, наблюдается разобщение дыхательной цепи и активация свободнорадикального окисления активными формами кислорода. Все это приводит к повреждению аксона вследствие дегенерации и к апоптозу нейрона [9—13].

В последнее время в литературе широко обсуждается вопрос об участии аксонального повреждения в патогенезе как демиелинизирующих заболеваний,

в первую очередь рассеянного склероза (РС), так и при травматическом повреждении головного мозга, когда происходит диффузное повреждение аксона с дезорганизацией нейрофиламентного скелета и мембраны аксона с последующим нарушением аксоплазматического тока и дисфункцией возбуждения, приводящей к нарушению процессов биоэнергетики клетки и к патологической гиперактивности нейрона [14—16].

Нами в основу работы положены результаты обследования 40 больных РС в возрасте от 19 до 54 лет (средний возраст обследованных больных $35,023 \pm 9,051$ лет) и 15 больных с посттравматической эпилепсией (5 мужчин и 10 женщин) в возрасте от 24 до 42 лет (средний возраст составил $31,57 \pm 9,67$ лет).

Группа контроля была составлена из 20 пациентов, у которых не было никаких признаков, связанных с повреждением центральной нервной системы. Возраст больных был в пределах 28—32 лет и в среднем составил ($29,11 \pm 2,24$) лет.

Для определения содержания теплового белка в сыворотке крови человека нами был использован иммунофлуоресцентный метод [17]. Этот метод дает возможность выявления субклеточного компонента с помощью специфической иммунологической реакции. Он обладает высокой специфичностью и чувствительностью. Были использованы стандартные наборы производства фирмы «Sigma» (США).

Данный метод дает возможность как качественного визуального описания особенностей распределения оптической плотности тау-белка у каждого пациента, так и количественного определения уровня тау-белка в сыворотке крови.

Оценку интенсивности флуоресцентного свечения проводили путем измерения оптической плотности, расчет которой проводили в условных относительных единицах (*OD*) с применением десятичного логарифма $OD = \lg F_{\text{тау}}/F_0$.

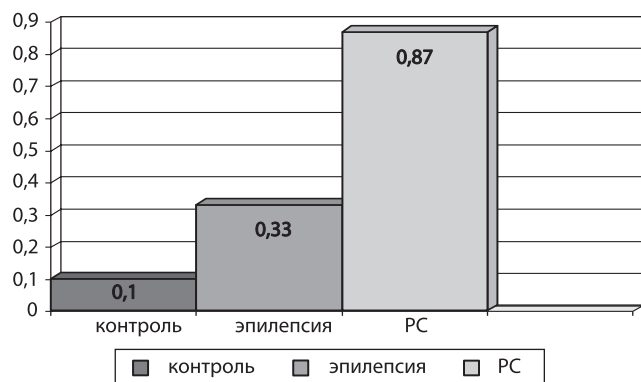
На каждом фотоизображении, после оцифровывания, с помощью гистографического метода определяли оптическую плотность любого пикселя, выделенной площади или всего изображения. После этого строили калибровочную кривую зависимости оптической плотности от концентрации рекомбинантного тау в калибровочных пробах и исследуемых образцах и с ее помощью определяли концентрацию тау-белка в исследуемых образцах. Концентрация выражается в пикограммах на миллилитр (пг/мл).

Результаты проведенных исследований показали, что у больных РС и посттравматической эпилепсией имеется достоверно повышенное содержание тау-протеина в сыворотке крови (см. рисунок).

Если в контрольной группе средний уровень тау-протеина составил 0,1 условную единицу оптической плотности, то у больных с рассеянным склерозом этот показатель составил 0,87 усл. ед. оптической плотности ($p < 0,05$). Значительно меньше тау-белка было в сыворотке крови у больных с посттравматической эпилепсией (0,33 OD), однако достоверно больше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$).

В перерасчете оптической плотности в концентрацию тау-белка в пикограммах на миллилитр средний показатель контроля составил 46,7 пг/мл, у больных с посттравматической эпилепсией концентрация тау-белка была 154,22 пг/мл, а у больных с РС — 407,52 пг/мл.

У больных РС с существенным повышением содержания тау-белка наблюдается ускоренное ухудшение состояния в неврологическом статусе. Особенно существенное увеличение по сравнению с контролем было при рецидивирующе-ремиттирующем типе рассеянного склероза, и это отмечалось особенно в период обострения (до 1,12 OD).



Содержание тау-белка в сыворотке крови больных рассеянным склерозом, посттравматической эпилепсией и практически здоровых людей

Следует отметить, что повышение содержания тау-белка до 0,4—0,5 условных единиц оптической плотности отмечалось у больных и на ранних стадиях заболевания рассеянным склерозом.

Таким образом, этот маркер может служить подтверждением диагноза и критерием для осуществления прогноза течения и исхода заболевания.

Повышенный уровень тау-белка может быть ранним маркером аксонального повреждения головного и спинного мозга.

Этот маркер может быть использован для мониторинга результатов терапии, направленной на предотвращение повреждения аксона, а также может способствовать прогнозированию течения и исхода заболевания.

Список литературы

- Hirano, A. Neurons Astocytes // Textbook of Neuropathology / A. Hirano; Eds. Davis R. Robertson D. — Williams and Wilkins, 1997. — P. 1—109.
- Role of Tay-protein in both Physiological and pathological conditions / Avila J., Lucas J. J., Mar Rez, Hernjndes F. // Physiol. Rev. 2004. — Vol. 84 — P. 361—384.
- Nod-like protein in inflammation and disease / Carnerio L., Magalhes J., Tattoli I., Philpot D., Travassos L. // J. Pathol. — 2008. — № 214. — P. 136—148.
- Cleveland, D. Purification of tau, a microtubule-associated protein that induces of microtubules from purified tubulin / D. Cleveland, Y. Hwo, M. Kirschnel // J. Mol. Biol. — 1977. — Vol. 116. — P. 207—225.

- Daniels, M. The role of microtubules in the growth and stabilization of nerve fibers / M. Daniels // Ann. Acad. Sci. — 1975. — Vol. 253. — P. 535—544.
- Brandt, R. The tau proteins in neuronal growth and development / R. Brandt // Bioscience. — 1996. — P. 118—130.
- Drubin, D. Tau protein function in living cells // D. Drubin, M. Kirschner / J. Cell Biol. — 1986. — Vol. 103. — P. 2739—2746.
- 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.
- Higuchi, M. Tau protein and taupathy. Chapter' in the book Tau positive filamentous lesions in neurodegenerative diseases / M. Higuchi, J. Trojanowski, V. T. Lee. — 2000. — 332 p.
- Rober, H. M. Microtubule-associated protein tau as a therapeutic in neurodegeneration / H. M. Rober, M. L. Hutton // Expert Opin. Ther. Targets. — 2007. — № 11 (4). — P. 435—442.
- Rademarers, R. The role of tau (MAPT) in frontotemporal dementia and related tauopathies / R. Rademarers, M. Cruts, C. van Broeckhoven // Hum. Mutat. — 2005. — № 24 (4). — P. 277—295.
- Rapid tau protein dephosphorylation and differential rephosphorylation during cardiac arrest-induced cerebral ischemia and reperfusion / C. Mailliot, V. Dimster, R. Rosentha [et al.] // Journal of Cerebral Blood & Metabolism. — 2000. — № 20. — P. 543—549.
- Cellular phosphorylation of tau by GSK influences tau binding to microtubules to microtubules and microtubule organization / Wagner U., Uttoni M., Gallo J., Miller C. // J. of Cell Science. — 1996. — № 109. — P. 1537—1543.
- Волошина, Н. П. Клиническая нейрофизиология аутоиммунных демиелинизирующих и нейродегенеративных заболеваний / Н. П. Волошина, О. В. Егоркина, И. К. Гапонов // Матеріали наук.-практ. конф. «Карпатські читання». — Ужгород, 2008. — С. 34—35
- Chowolhury, D. Axonal Guillfin-Barrt Syndrome: a critical review / D. Chowolhury, A. Arora // Acta Neurol. Scand. — 2001. — № 103. — P. 266—277.
- Евтушенко, С. К. Рассеянный склероз у детей (клиника, диагностика, лечение) / С. К. Евтушенко, М. А. Москаленко. — Киев. — 2009. — 254 с.
- Zemian, P. F. US Patent & — Method of detecting axonally-derived protein tau in patients with traumatic CNS injury / P. F. Zemian // Traumatic CNS injury. — 2003.

Надійшла до редакції 15.10.09 р.

Н. П. Волошина, О. В. Егоркина, Є. В. Лекомцева, І. К. Гапонов, Т. В. Горбань, Г. І. Губіна-Вакулік
 ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології АМН України», Харківський Національний медичний університет (м. Харків)

Тепловий білок тау — як маркер аксонального пошкодження головного мозку

У роботі викладено сучасний погляд на проблему адекватної діагностики аксонального пошкодження головного мозку у хворих на розсіяний склероз і посттравматичну епілепсію. Показано, що підвищений рівень тау-протеїну є маркером аксонального пошкодження головного та спинного мозку і може бути використаний для моніторингу результатів терапії та сприяти прогнозуванню перебігу та наслідку захворювання.

Ключові слова: тау-білок, демієлінізація, патологія аксону, біологічні маркери.

N. P. Voloshyna, O. V. Yegorkina, E. V. Lekomtseva, I. K. Gaponov, T. V. Gorban', G. I. Gubina-Vakulik
 State institution "Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the AMS of Ukraine", Kharkiv National medical university (Kharkiv)

Thermal tau-protein — as the marker of axonal damage of cerebrum

In the work it was stated the modern point of view to the problem of adequate diagnostics of axonal damage of cerebrum at the patients with multiple sclerosis and posttraumatic epilepsy. It was showed that the abnormally high level of tau-protein is the real marker of the axonal damage of head and spinal brain and that can be used for monitoring of the results of the therapy and improve the quality of making the prognosis of the course and the outcome of disease.

Keywords: tau-protein, demyelination, pathology of axon, biological markers.