

## НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ БЕЛКИ КАК МАРКЕРЫ РЕГЕНЕРАЦИИ НЕРВНОЙ ТКАНИ ПРИ ОЧАГОВЫХ УШИБАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА

**Е. А. Галашина** — НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, младший научный сотрудник отдела фундаментальных и клинико-экспериментальных исследований, кандидат биологических наук; **В. Ю. Ульянов** — НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, заместитель директора по научной и инновационной деятельности, доктор медицинских наук; **Г. Ю. Выгодчикова** — НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, врач-исследователь; **Ю. А. Чибрикова** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, студентка 6-го курса лечебного факультета; **С. С. Климов** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, студент 6-го курса лечебного факультета.

## NEUROSPECIFIC PROTEINS AS MARKERS OF NERVOUS TISSUE REGENERATION IN FOCAL CEREBRAL CONTUSIONS

**E. A. Galashina** — Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery of Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Department of Fundamental, Clinical and Experimental Research, Junior Research Assistant, Candidate of Biological Science; **V. Yu. Ulyanov** — Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery of Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Deputy Director for Science and Innovation, Doctor of Medical Science; **G. Yu. Vygodchikova** — Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery of Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Medical Researcher; **Yu. A. Chibrikova** — Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, General Medicine Department, 6-year-student; **S. S. Klimov** — Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, General Medicine Department, 6-year-student.

Дата поступления — 3.07.2017 г.

Дата принятия в печать — 19.09.2017 г.

**Галашина Е. А., Ульянов В. Ю., Выгодчикова Г. Ю., Чибрикова Ю. А., Климов С. С.** Нейроспецифические белки как маркеры регенерации нервной ткани при очаговых ушибах головного мозга. Саратовский научно-медицинский журнал 2017; 13 (3): 720–722.

**Цель:** изучение динамики содержания иммунологических маркеров регенерации нервной ткани у пациентов с очаговыми ушибами головного мозга в посттравматическом периоде. **Материал и методы.** Методом иммуноферментного анализа изучали количественное содержание в сыворотке крови нейрегулина-1-beta1 (human NRG1-beta1), глиального фибриллярного кислого протеина (GFAP), антител человека к сульфатированному 3-глюкуронилпараглобозиду (anti-SGPG) у больных с очаговыми ушибами головного мозга на 1–4-е, 7-е, 14-е, 21-е и 30-е сутки с момента получения травмы, у пациентов контрольной группы — однократно. **Результаты.** У больных с очаговыми ушибами головного мозга в посттравматическом периоде содержание NRG1-beta1 характеризовалось двухфазным повышением концентраций на 7-е и 21-е сутки, GFAP — на 14-е сутки, anti-SGPG — на 21-е и 30-е сутки в отличие от пациентов контрольной группы. **Заключение.** Функциональное восстановление головного мозга при его очаговых ушибах в посттравматическом периоде базируется на значительном усилении процессов регенерации аксонов и периферических нервных волокон и меньшем усилении внутриклеточных структур, выраженность и направленность которых может определяться динамикой иммуноцитохимических маркеров.

**Ключевые слова:** нейроспецифические белки, регенерация, нервная ткань, головной мозг, очаговый ушиб.

**Galashina EA, Ulyanov VYu, Vygodchikova GYu, Chibrikova YuA, Klimov SS.** Neurospecific proteins as markers of nervous tissue regeneration in focal cerebral contusions. Saratov Journal of Medical Scientific Research 2017; 13 (3): 720–722.

**The aim:** to study the dynamics of immunological markers of nervous tissue regeneration in patients with focal cerebral contusions in posttraumatic period. **Material and Methods.** Quantitative content of human NRG1-beta1, GFAP and anti-SGPG in patients with focal cerebral contusions was analyzed on the 1<sup>st</sup>-4<sup>th</sup>, 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>, 21<sup>st</sup> and 30<sup>th</sup> day post-injury, and one time only — in patients of control group. **Results.** In patients with focal cerebral contusions the content of NRG1-beta1 was characterized by two-phase increase on the 7<sup>th</sup> and 21<sup>st</sup> day, GFAP — on the 14<sup>th</sup> day, anti-SGPG — on the 21<sup>st</sup> and 30<sup>th</sup> day compared to the patients of control group. **Conclusion.** Functional restoration of the brain in cerebral focal contusions in the posttraumatic period is based on the significantly intensified axon and peripheral nervous fiber regeneration processes with intercellular structure regeneration being less intensified. The degree and direction of these processes is predicated upon the dynamics of immunocytochemical markers.

**Key words:** neurospecific proteins, regeneration, nervous tissue, cerebrum, focal contusion.

**Введение.** При очаговых ушибах головного мозга патогенетическими звеньями травматической болезни являются аксональный и нейрональный некрозы, нарушения метаболизма нервной ткани, нейровоспаление. Наряду с патогенетическими происходит активация и саногенетических звеньев, которая включает внутриклеточную регенерацию, ремиелинизацию и нейропластичность [1, 2]. Функционирование нервных клеток после травмы, а именно их самовывживание, пролиферация, созревание и дифференцирование обеспечивают нейротрофические факторы, реализующие медленную несинаптическую межклеточную коллаборацию.

Нейроспецифические белки в зависимости от картировочной гомологии формируют всевозможные подсемейства. Наиболее исследованным и крупным из них является подсемейство нейрегулинов-1, которые содержатся в нервной ткани. Повышение содержания нейрегулина-1-beta1 (NRG1-beta1) способствует пролиферации и дифференцировке различных клеток, а именно нейронных, глиальных, образующих функциональный синцитий. Сигнальные направления нейрегулин-ErbB имеют ведущее значение в регуляции роста шванновских клеток, образующих миелиновую оболочку, а также в дифференцировке клеток-предшественниц нейроцитов, регенерации мотонейронов и микроглии в периоды максимальной утраты клеточной популяции вещества головного мозга [3].

**Ответственный автор** — Галашина Елена Анатольевна  
Тел.: +79271345529  
E-mail: koniuchienko1983@mail.ru

**Содержание иммунологических маркеров регенерации нервной ткани у пациентов с очаговыми травматическими повреждениями головного мозга**

Показатели	Контроль, n=40	Осложненная травма шейного отдела позвоночника, n=40				
		Сутки				
		1-4-е	7-е	14-е	21-е	30-е
NRG1-beta1, пг/мл	127,6 (115,6; 186,6)	691,2 (621,4; 727,0) p<0,001	4770,5 (4555,2; 5015,7) p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	1254,6 (1110,2; 1389,5) p<0,001 p <sub>2</sub> <0,001	2344,9 (2074,4; 2996,2) p<0,001 p <sub>3</sub> <0,001	407,3 (377,7; 466,4) p<0,001 p <sub>4</sub> <0,001
GFAP, нг/мл	0,31 (0,30; 0,33)	1,28 (1,25; 1,31) p<0,001	1,31 (1,29; 1,34) p<0,001 p <sub>1</sub> >0,05	5,09 (4,57; 5,15) p<0,001 p <sub>2</sub> <0,001	1,29 (1,24; 1,32) p<0,001 p <sub>3</sub> <0,001	1,21 (0,91; 1,23) p<0,001 p <sub>4</sub> <0,001
Анти-SGPG, Ratio	0,15 (0,11; 0,19)	0,16 (0,13; 0,19) p>0,05	0,18 (0,14; 0,22) p>0,05 p <sub>1</sub> >0,05	0,17 (0,15; 0,21) p>0,05 p <sub>2</sub> >0,05	0,76 (0,69; 0,78) p<0,001 p <sub>3</sub> <0,001	0,79 (0,71; 0,83) p<0,001 p <sub>4</sub> >0,05

Примечание: формат представления данных — медиана (Me), нижний (25%) и верхний (75%) квартили; p — показатель достоверности по сравнению с контролем; p<sub>1</sub> — показатель достоверности по сравнению с 1–4-ми сутками; p<sub>2</sub> — показатель достоверности по сравнению с 7-ми сутками; p<sub>3</sub> — показатель достоверности по сравнению с 14-ми сутками; p<sub>4</sub> — показатель достоверности по сравнению с 21-ми сутками.

Завершение раннего периода травматической болезни головного мозга знаменует начало образования прочной глиомезодермальной ткани, образуемой из «реактивных» астроцитов, олигодендроцитов, фибробластов, лейкоцитов и макрофагов. Последние усиливают образование белка промежуточных микрофиламентов: глиального фибриллярного кислого протеина (GFAP), который высокоспецифичен для нервной ткани, обеспечивает образование и жизнедеятельность ее цитоскелета, а также дифференцирование астроцитов, обеспечение макроэргами нейроцитов при усилении синаптической активности, построение гематоэнцефалического барьера, рост астроцитарных отростков, контакты их с олигодендроглиоцитами, миелиновыми оболочками и синапсами [4]. Сульфатированный глюкуронилпараглобозид (SGPG), олигосахаридные цепи которого близко расположены к липидному бислою клеточной мембраны, вовлечен в адгезию и межклеточные взаимодействия, присутствует в шванновских клетках и мембранах нейронов, в том числе в миелиновой оболочке и аксолементе, а также эндотелиальных клетках нервных волокон [5].

Ограниченность систематических литературных сведений об изменении уровней иммуноцитохимических маркеров регенерации нервной ткани у больных с очаговыми ушибами вещества головного мозга делает весьма актуальным данное исследование.

**Цель:** изучить динамику содержания иммунологических маркеров регенерации нервной ткани у пациентов с очаговыми ушибами головного мозга в посттравматическом периоде.

**Материал и методы.** Объектом исследования стали 40 больных обоего пола с очаговыми ушибами вещества головного мозга. Все больные поступили в институт в течение 1–4-х суток с момента травмы и были сопоставимы по механизму, тяжести повреждений и выраженности неврологического дефицита. Контрольную группу составили 40 условно здоровых доноров сыворотки крови, не имеющих явных метаболических нарушений гомеостаза, тестируемых общеклиническими методами. У всех пациентов обследование осуществляли в ранние утренние часы до приема пищи путем пункции кубитальной вены, получая образец крови в объеме 5 мл. Кровь экспонировали для коагуляции при комнатной темпера-

туре, центрифугировали при 2000 об./мин 10 минут до получения сыворотки. Методом твердофазного иммуноферментного анализа изучали концентрации нейрегулина1-beta1 (human NRG1-beta1) (RayBio, USA), глиального фибриллярного кислого протеина (GFAP) (BioVendor, Czech Republic), антител человека к сульфатированному 3-глюкуронилпараглобозиду (anti-SGPG) (Buhlmann Laboratories, Switzerland) в соответствии с инструкциями к наборам на 1-е, 7-е, 14-е, 21-е и 30-е сутки после травмы в основной группе и однократно — в контрольной группе. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью пакета программ IBM SPSS-20 Statistics. Большинство полученных данных не соответствовало закону нормального распределения, по этой причине для сравнения средних значений использовали непараметрический U-критерий Манна — Уитни. Рассчитывали показатель достоверности p, значения которого считали статистически достоверными при p<0,05.

**Результаты.** Изменения уровня NRG1-beta1 в сыворотке крови у больных основной группы характеризовались двухфазными изменениями: увеличением на 7-е сутки в 6,9 раза (p<sub>1</sub><0,001) и на 21-е сутки в 1,9 раза (p<sub>2</sub><0,001) и уменьшением на 14-е сутки в 3,8 раза (p<sub>2</sub><0,001) и на 21-е сутки в 5,8 раза (p<sub>4</sub><0,001) по сравнению с другими контрольными точками.

Содержание GFAP в сыворотке крови больных основной группы характеризовалось пиковым повышением на 14-е сутки в 4,1 раза по сравнению с предыдущими сутками (p<sub>2</sub><0,001). В остальные периоды наблюдения содержание изучаемого параметра оставалось стабильно высоким по сравнению с контрольным (p<0,001).

Уровень anti-SGPG не продемонстрировал достоверных изменений на 1–4-е, 7-е, 14-е и 30-е сутки после травмы, и статистически значимое его увеличение отмечено только на 21-е сутки в 4,5 раза (p<sub>3</sub><0,001) (таблица).

**Обсуждение.** Согласно данным литературы, функциональное восстановление головного мозга при очаговых ушибах головного мозга базируется на усилении процессов регенерации аксонов, в нейронах возможна только внутриклеточная регенерация. Отдельные авторы приводят разрозненные, а порой и противоречивые сведения об изменениях содержа-

ния цитоплазматических нейроспецифических белков с преимущественно нейрональной и глиальной локализацией при альтерации нервной ткани [6].

Отмеченное нами пиковое увеличение NRG1-beta1 на 7-е сутки исследования является одним из механизмов саногенеза, нацеленных на увеличение чувствительности нервной ткани к действию данного маркера регенерации. Полученные сведения об изменении концентрации NRG1-beta1 соответствуют литературным [7] о тропных влияниях на нервную ткань. Второй, менее выраженный подъем концентрации NRG1-beta1, фиксирующийся на 21-е сутки посттравматического периода, способствует выживанию нейронов, их дифференцировке, регенерации мотонейронов, активации микроглии в периоды максимальной потери клеточного пула вещества головного мозга в зоне «ишемической полутени».

Максимальная концентрация GFAP на 14-е сутки с момента получения травмы в сыворотке крови пострадавших, на наш взгляд, связана с увеличением объема очага первичного повреждения, что инициирует усиленный синтез GFAP астроцитами, способствуя их дальнейшей дифференцировке, росту астроцитарных отростков. Кроме того, с помощью GFAP протекают процессы митоза астроцитов, что имеет исключительное значение при повреждениях головного мозга. Полученные данные об изменении концентрации данного показателя совпадают с данными, приведенными в некоторых источниках [8, 9], рассматривающих исследования факторов роста нервной ткани при патологии головного мозга различной этиологии.

Статистически достоверное повышение содержания anti-SGPG в сыворотке крови на 21-е и 30-е сутки посттравматического периода соответствует литературным данным [10, 11] о развитии вторичных аутоиммунных механизмов в раннем периоде травматической болезни и выработки антител, главными мишенями для которых является сульфатированный 3-глюкуронилпараглобозид.

**Заключение.** Функциональное восстановление головного мозга при его очаговых ушибах в посттравматическом периоде базируется на значительном усилении процессов регенерации аксонов и периферических нервных волокон и меньшем усилении внутриклеточных структур, выраженность и направленность которых может определяться динамикой иммуноцитохимических маркеров.

**Конфликт интересов.** Работа выполнена в рамках инициативного плана НИР НИИТОН ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России «Роль нейроспецифических белков в механизмах альтерации и регенерации нервной ткани при очаговых ушибах головного мозга малого объема: их диагностическое и прогностическое значение». Регистрационный номер АААА-А17-117070760041-0.

**Авторский вклад:** концепция и дизайн исследования — В.Ю. Ульянов; получение данных — Е.А. Галашина, Г.Ю. Выгодчикова, Ю.А. Чибрикова, С.С. Климов; анализ данных — Е.А. Галашина; интерпретация результатов — Е.А. Галашина; написание статьи — Е.А. Галашина; утверждение рукописи для публикации — В.Ю. Ульянов.

## References (Литература)

1. Agadzhanian VV. Septic complications in polytrauma. *Polytrauma* 2006; (1): 9–17. Russian (Агаджанян В.В. Септические осложнения при политравме. *Политравма* 2006; (1): 9–17).
2. Moroz BV. Actual problems of pathophysiology. M.: Meditsina, 2001; 424 p. Russian (Мороз Б.В. Актуальные проблемы патофизиологии. М.: Медицина, 2001; 424 с.).
3. Konyuchenko EA, Vygodchikova GYu, Ulyanov VJu, et al. Comparative analysis of neuregulin-1-β1 and cytokines content in blood serum of patients with focal brain injuries. *Modern problems of science and education* 2016; (3): 166. Russian (Конюченко Е.А., Выгодчикова Г.Ю., Ульянов В.Ю. и др. Сопоставительный анализ содержания нейрегулина1-beta1 и цитокинов в сыворотке крови пациентов с очаговыми травматическими повреждениями головного мозга. *Современные проблемы науки и образования* 2016; (3): 166).
4. Ulyanov VJu, Nikolenko VN, Drozdova GA, Norkin IA. Spinalcord traumatic disease: pathogenetic and sanogenetic elements of the homeostasis. *Saratov, 2016*; 196 p. Russian (Ульянов В.Ю., Николенко В.Н., Дроздова Г.А., Норкин И.А. Травматическая болезнь спинного мозга: патогенетические и саногенетические звенья гомеостаза. *Саратов, 2016*; 196 с.).
5. Sufianova GZ, Shapkin AG. Nervous tissue damage: mechanisms, models, methods of assessment. M.: Izdatel'stvo RAMN, 2014; 288 p. Russian (Суфианова Г.З., Шапкин А.Г. Повреждение нервной ткани: механизмы, модели, методы оценки. М.: Изд-во РАМН, 2014; 288 с.).
6. Ulyanov VYu, Norkin IA, Drozdova GA, Konyuchenko EA. Nerve tissue growth factors as markers of evaluation of neurogenesis processes in traumatic spinal cord disease. *Saratov Journal of Medical Scientific Research* 2014; 10 (3): 446–449. Russian (Ульянов В.Ю., Норкин И.А., Дроздова Г.А., Конюченко Е.А. Факторы роста нервной ткани как маркеры оценки процессов нейрогенеза при травматической болезни спинного мозга. *Саратовский научно-медицинский журнал* 2014; 10 (3): 446–449).
7. Glauser TA. Neuregulin-1 and ErbB4 Immunoreactivity is Associated with Neuritic Plaques in Alzheimer Disease Brain and in Transgenic Model of Alzheimer Disease. *Journal Neuro pathology and Experimental Neurology* 2013; 62 (1): 42–54.
8. Odinak MM, Tsygan NV. Growth factors of nervous tissue in the central nervous system. SPb.: Nauka, 2005; 157 p. Russian (Одинак М.М., Цыган Н.В. Факторы роста нервной ткани в центральной нервной системе. СПб.: Наука, 2005; 157 с.).
9. Krasnov AV. Astrocytic brain proteins: structure, function and clinical relevance. *The Neurological Journal* 2012; (1): 37–42. Russian (Краснов А.В. Астроцитарные белки головного мозга: структура, функции, клиническое значение. *Неврологический журнал* 2012; (1): 37–42).
10. Ber M. Neuroprotection: models, mechanisms, therapy. M.: BINOM; Laboratoriyaznaniy, 2011; 429 p. Russian (Бэр М. Нейропротекция: модели, механизмы, терапия. М.: БИНОМ; Лаборатория знаний, 2011; 429 с.).
11. Zhang Q. Effect of ciliary neurotrophic factor for the expression of glial fibrillary acidic protein for spinal cord injury in the rat. *Acta Acad Med Mil Tertiae* 2000; (5): 477–480.