

# Нейроспецифические белки в оценке состояния ткани мозга при атеротромботическом инсульте (клинико-биохимическое исследование)

М.Ю. Максимова, В.Г. Ионова, Е.Н. Сыскина, А.А. Шабалина, М.В. Костырева, О.А. Сенектутова

Научный центр неврологии РАМН;

Московский государственный медико-стоматологический университет (Москва)

*Исследование содержания нейроспецифических белков позволяет оценить тяжесть изменения ткани мозга. Было обследовано 26 больных с атеротромботическим подтипом ишемического инсульта. Контрольную группу составили 15 здоровых лиц. Всем больным проводилось неврологическое обследование, КТ или МРТ головного мозга. Пациенты с опухолями мозга, инфарктами мозга, интрацеребральными гематомами, черепно-мозговыми травмами, инфекционными заболеваниями центральной нервной системы в последние три месяца до поступления в стационар были исключены из исследования. Тяжесть неврологических нарушений оценивалась с помощью шкалы инсульта Национального института здоровья. Содержание белка S100 и нейроспецифической енолазы (NSE) в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости определялось иммуноферментным методом. Высокое содержание белка S100 и NSE в цереброспинальной жидкости и сыворотке крови у больных с атеротромботическим инсультом обусловлено как разрушением клеток ткани мозга, так и нарушением целостности гематоэнцефалического барьера, и указывает на тяжелую степень структурных изменений мозга.*

**Ключевые слова:** нейроспецифические пептиды, атеротромботический инсульт, биохимические маркеры острого инсульта

Одним из наиболее перспективных направлений ангионеврологии стала нейрохимия, в сферу которой вошли исследования спектра нейроспецифических белков. Именно этому классу биологически активных молекул, характеризующихся высокой специфичностью для клеток нервной ткани, отводится значительная роль в оценке состояния ткани мозга при нарушениях мозгового кровообращения.

Развитие концепции, базирующейся на предположении о том, что специфические свойства той или иной ткани определяются, в конечном счете, первичной структурой специфичных для нее белков, привело к открытию нейроспецифических белков [25].

Безусловно, термин «нейроспецифичность» уже давно стал весьма относительным, причем степень этой относительности продолжает увеличиваться параллельно росту чувствительности и специфичности способов качественного и количественного определения белков.

Гипотеза о присутствии в мозге некоторых биологических видов уникальных белков, сохранившихся в процессе эволюции и выполняющих функции, специфические для нервной системы и общие для всех видов, побудила В.В. Мооге и соавт. провести сравнительный физико-химический анализ белкового спектра экстрактов из мозга [25]. Сопоставление белковых карт, полученных методом двумерного электрофореза в крахмальном геле, для фракций, приготовленных из мозга при ионообменной хроматографии и гель-фильтрации, позволило обнаружить два нейроспецифических белка [25, 29]. Впоследствии один из них был идентифицирован как белок S100 [25].

Белок S100 был выделен из мозга быка в лаборатории В.В. Мооге в 1965 г. [25]. Общий химический анализ белка S100 не выявил в его составе углеводов, липидов и нуклеиновых кислот. При исследовании аминокислотного состава отмечено высокое содержание глутаминовой и аспарагиновой кислот, фенилаланина и относительно небольшое количество триптофана, тирозина и пролина [25].

Несмотря на чрезвычайную разнородность данных, полученных на ранних этапах исследований молекулярной структуры белка S100, к настоящему времени сформировалось общепринятое мнение о количестве и размерах субъединиц, образующих его нативную форму. Считается, что в своем большинстве естественные разновидности белка S100 являются димерами, построенными из субъединиц двух типов –  $\alpha$  и  $\beta$ , близких по размеру и сходных по аминокислотному составу и первичным структурам [16].

Анализ гена белка S100P (ген расположен на 21-й хромосоме в локусе 21q22.3 [5]) показал, что он имеет структуру интронов и экзонов, аналогичную той, что наблюдается и у других представителей семейства белков S100: ген этой субъединицы содержит 3 экзона, при этом в третьем экзоне находится участок, кодирующий  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающий центр. Промоторный регион гена белка S100P содержит регуляторный элемент, чувствительный к воздействию cAMP, в ответ на которое происходит усиление биосинтеза этого белка [13].

История идентификации нейроспецифической енолазы (NSE), или антигена 14-3-2, тесно связана с открытием первого нейроспецифического белка S100. С середины 60-х годов В.В. Мооге и его сотрудники вели систематический поиск неизвестных цитоплазматических нейроспецифических белков в экстрактах из мозга [7, 29].

В 1977 г. А. Grasso в сотрудничестве с В.В. Moore и соавт. опубликовали детальное описание способа получения гомогенных препаратов белка NSE [10].

Выделение двух первых нейроспецифических белков, а также приготовление специфических антисывороток уже на начальных этапах исследований позволили получить сначала косвенные, а затем и непосредственные свидетельства того, что один из них является специфически нейрональным (NSE), а второй – глиальным (S100) белком [8]. Однако причины специализированного появления нейроспецифической енолазы именно в нейронах остаются пока невыясненными.

Аминокислотный состав NSE характеризуется большим количеством моноаминодикарбоновых кислот (аспарагиновой и глутаминовой), а также глицина, аланина и лейцина [10].

Первичные структуры определяются последовательностями нуклеотидов в соответствующих генах, различных для всех видов субъединиц (в частности, ген NSE – EN02 находится в локусе 12p13) [6]. Структуры всех этих генов (и соответствующих полипептидных белковых цепей) были расшифрованы на рубеже 80–90-х годов [23].

### **Биологическая функция нейроспецифических белков**

В 1966 г. Н. Hyden и Н. McEwen впервые сообщили об иммунофлюоресцентном исследовании распределения белка S100 на срезах ткани мозга [15]. Авторы обнаружили специфическую локализацию белка преимущественно в клетках нейроглии, а также небольшие его количества в ядрах нейронов. Вопрос о синтезе антигена S100 в нейронах остается открытым: имеются как позитивные результаты [11, 12], демонстрирующие наличие этого антигена в мембранах нейронов и синаптических окончаниях, так и негативные данные [8], свидетельствующие об его отсутствии в нейронах на уровне как световой, так и электронной микроскопии.

Различия в содержании этого белка в мозге и в тканях ненейроэктодермального происхождения таковы, что к настоящему времени сложилось общее мнение о том, что в пределах нервной системы антиген S100 локализуется преимущественно в глиальных элементах – астроцитах, шванновских клетках и олигодендроглиоцитах (при этом остаются дискуссионными вопросы о возможной локализации небольшого количества антигена S100 вне нейроглии).

В связи с глиальной локализацией белков этой группы основная масса исследований была посвящена изучению их распределения в ткани опухолей головного мозга [9]. Несмотря на некоторые различия в концентрациях, характерных для той или иной гистологической группы опухолей, практически все публикации отражают их тенденцию к упрощению в отношении белка S100, т.е. к значительному уменьшению концентраций белков этой группы в ткани опухоли [1].

Так как концентрации нейроспецифических белков в биологических жидкостях низки, то разработка поиска белка S100 в этих системах стала возможной с созданием радиоиммунного и иммуноферментного методов его детекции [18].

F. Michetti и соавт. показали возможность выделения белка S100 в цереброспинальной жидкости при периферических невропатиях, в 60% случаев – при боковом амиотрофическом склерозе, в 70% – при рассеянном склерозе в фазе обострения, в 100% – при остром энцефаломиелите, а также при травматическом и опухолевом повреждении нервной ткани. Эти исследователи проанализировали образцы цереброспинальной жидкости 397 больных. Белок S100 был обнаружен у пациентов с опухолевой компрессией спинного мозга (в 75% случаев), инфарктами мозга (52%), субарахноидальными кровоизлияниями и гематомами мозга (47%), деменцией (27%), рассеянным склерозом (6%), воспалительными заболеваниями нервов (30%), а также с вирусной (36%) и бактериальной (15%) инфекциями центральной нервной системы. В этом исследовании впервые на основании исходных концентраций антигена S100 была сделана попытка прогнозирования исхода заболевания при тех или иных критических состояниях, обусловленных патологией нервной системы [25].

Разработка высокоспецифичных и чувствительных методов определения всех форм енолазы позволила исследовать их качественное и количественное распределение в различных тканях и клетках. Концентрации около 15–20 мкг/мг растворимого белка установлены для NSE в экстрактах из мозга крысы и человека [22].

На высоком техническом уровне проведено исследование К. Мокуро и соавт. [27], которые иммуноферментным методом определяли белок S100 в цереброспинальной жидкости больных с неврологическими заболеваниями. Также авторами было впервые проведено определение уровня S100 в цереброспинальной жидкости здоровых доноров (0,33 нг/мл). Статистически значимое увеличение концентрации белка S100 было выявлено при энцефалитах – более чем в 6 раз по сравнению с нормой, при инфарктах мозга – в 4, при рассеянном склерозе – в 3, при хроническом полирадикулоневрите – в 5, а также при опухолях мозга – в 80 раз. Отмечая высокое техническое качество этой работы, нельзя не обратить внимание на недостаточную репрезентативность обследованных групп: так, в группах больных с менингитами или болезнью Паркинсона было проанализировано от 18 до 24 образцов цереброспинальной жидкости, а в группах больных с рассеянным склерозом и опухолями мозга – лишь по два.

Другим клиническим направлением, которое позволяет не только косвенно оценивать проницаемость гематоэнцефалического барьера для антигена S100, но и определять непосредственно степень возможной аутоагрессии, является иммунохимическое определение аутоантител к этому антигену в сыворотке крови [2, 17, 24].

Клеточная локализация церебральных форм енолазы исследовалась иммуногистохимическими методами. Обнаруживаясь практически во всех нейронах, NSE распределяется по цитоплазме этих клеток.

Имуноферментный анализ NSE впервые был разработан группой исследователей под руководством К. Kato и соавт. и применен для определения уровней данного антигена в сыворотке крови больных с нейроblastомами. Они определили, что нормальные концентрации NSE в сыворотке взрослых людей (2,87 нг/мл) несколько ниже, чем у детей. У обследованных пациентов с нейроblastомами содержание NSE в сыворотке составляло 13,6–330 нг/мл [19].

Весьма интересно сообщение R. Dauberschmidt и соавт. о применении радиоиммунного метода анализа NSE для выявления степени изменения ткани мозга и для контроля стабильности гематоэнцефалического барьера при травмах головного мозга. Уровень этого белка определялся в сыворотке крови и в цереброспинальной жидкости больных с травмами различной степени тяжести. Было показано увеличение концентрации NSE в сыворотке от 7 до 64 нг/мл и в цереброспинальной жидкости от 2 до 9 нг/мл. При этом более тяжелой клинической картине соответствовала более высокая концентрация NSE. На основании анализа кривых изменения концентрации белка в динамике патологического процесса авторы предлагают использовать количественное определение NSE для прогнозирования возможных исходов заболевания (чем выше концентрация NSE в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости, тем выше вероятность смерти больного).

В общем плане исследования астроцитарно-нейрональных взаимодействий весьма интересна работа V. Bonhomme и соавт., экспериментально доказавших, что при усилении защитной реакции астроцитов на введение токсических веществ происходит снижение концентрации NSE в крови. На этом основании авторы предполагают, что астроциты могут до определенной степени «экранировать» нейроны, защищая их от действия некоторых эндо- и экзотоксинов; при этом NSE является надежным маркером степени изменения нейронов. Таким образом, в данной работе еще раз была показана уникальная специфичность NSE для нейронов и продемонстрирована целесообразность выявления NSE для оценки их функционального состояния на различных стадиях заболевания [4].

### Характеристика больных и методов исследования

В исследование были включены 26 больных с атеротромботическим инсультом в возрасте от 50 до 82 лет. Все больные были доставлены в стационар службой скорой медицинской помощи в первые сутки заболевания.

Пациенты с инфарктами мозга, интрацеребральными гематомами, черепно-мозговыми травмами, инфекционными заболеваниями центральной нервной системы, перенесенными в последние три месяца до поступления в стационар, и опухолями мозга были исключены из исследования.

Диагностика острого нарушения мозгового кровообращения (НМК) и основного сосудистого заболевания проводилась с использованием общеклинических методов, неврологического осмотра, ультразвукового исследования магистральных артерий головы, рентгеновской компьютерной томографии или магнитно-резонансной томографии головного мозга, офтальмологического исследования, ЭКГ, исследования гемореологических показателей (фибриноген, МНО, АЧТВ) и биохимических показателей крови (глюкоза, мочевины, креатинин, холестерин, билирубин).

Для объективизации степени выраженности имеющихся клинических симптомов и оценки тяжести неврологических нарушений при поступлении больных в стационар и в динамике острого периода инсульта нами применялись следующие международные шкалы:

1. Шкала инсульта Национального института здоровья (NIHSS – с диапазоном значений от 0 до 36 баллов (норма – 0 баллов));
2. Индекс Бартел – с диапазоном значений от 0 до 100 баллов (норма 100 баллов) – дающий представление о повседневной функциональной активности.

### Биохимические маркеры состояния ткани мозга

Определение белка S100 (S100 IB и S100 BB формы) в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости проводилось иммуноферментным методом с использованием реактивов CanAg Diagnostics. Метод определения белка S100 является твердофазным неконкурентным методом, основанным на прямой «сэндвич-технологии».

Образцы пациентов инкубируются вместе с биотинилированными анти S100 моноклональными мышинными антителами в покрытых стрептовидином ячеек микропланшета. В процессе инкубации белок, содержащийся в образцах, адсорбируется на покрытых стрептовидином ячеек с анти S100 антителами. Стрипы затем промываются и инкубируются с анти S100 антителами, меченными пероксидазой хрена. Далее добавляется хромогенный субстрат и происходит ферментативная реакция, в процессе которой появляется окраска. Интенсивность окраски зависит от содержания антигена в образце.

Определение нейроспецифической енолазы (NSE) в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости также было основано на количественном иммуноферментном анализе прямого «сэндвичного» типа.

### Результаты и обсуждение

Острое развитие инсульта отмечено в 70%, подострое – в 8%, апоплектиформное – в 12% случаев.

*Общемозговые симптомы.* Головная боль встречалась у больных с тромбозом внутренней сонной артерии (ВСА) довольно часто. Тошнота и рвота – в единичных случаях. Они сочетались с головной болью и выраженными неврологическими нарушениями; редко возникали в начальном периоде инсульта, чаще развивались при ухудшении состояния больного.

Менингеальный синдром в острой стадии НМК был выявлен в 40%. Как правило, он был выражен умеренно и сочетался с другими общемозговыми симптомами и очаговыми нарушениями, указывающими на обширную область изменения мозга.

Оглушение и психомоторное возбуждение встречались чаще (50%) и наряду с очаговыми симптомами нередко являлись начальными признаками инфаркта мозга.

Сопор (у 6 больных), как правило, отмечался при апоплектиформном и остром течении инсульта.

У 8 больных (30%) изменения сознания не было.

*Очаговые неврологические симптомы.* Частым симптомом в острой стадии инфаркта был полушарный парез зрачка, он выявлен в 9 случаях из 26. В 2 наблюдениях парез зрачка был наиболее выражен – глазные яблоки повернуты «в сторону

очага». В 4 случаях парез зрака был выражен умеренно – глазные яблоки повернуты в сторону, однако больной по инструкции или спонтанно доводит глазные яблоки до средней линии. Легкая степень пареза зрака отмечена у 3 больных, когда больной лишь «хуже смотрит в противоположную от очага сторону».

Во всех наблюдениях отмечался парез лицевой мускулатуры. В большинстве из них нарушалась иннервация нижнего отдела лицевой мускулатуры, и лишь изредка проявлялся периферический парез лицевой мускулатуры (3 больных). Изолированного нарушения функции подъязычного нерва мы не отмечали. Нарушение функции подъязычного нерва всегда сочеталось с нарушением иннервации лицевого нерва.

Бульбарные нарушения наблюдались у 16 больных. Ядра языкоглоточного и блуждающего нервов не являются зоной кровоснабжения артерий каротидной системы, и поэтому нарушения их функций в острой стадии инфаркта должны рассматриваться как вторичные стволовые симптомы или как проявление ранее перенесенных НМК в вертебрально-базиллярной системе. Умеренно выраженные нарушения глотания, парез мягкого неба со снижением рефлекса с мягкого неба, особенно на стороне полушарного очага – наиболее часто встречающийся симптомокомплекс, возникающий как результат вторичного стволового синдрома.

Двигательные нарушения оказались наиболее частыми и постоянными симптомами при закупорке ВСА. В острой стадии инфаркта чаще они наблюдались в виде гемиплегии или грубых гемипарезов. Таких случаев было 22. В остальных 4 случаях имели место разнообразные, так называемые диссоциированные «корковые» двигательные расстройства.

В 8 случаях в остром периоде отмечалась выраженная гипотония мышц у больных с обширными инфарктами головного мозга. В 4 случаях гипотония была двусторонней и в 4 случаях – односторонней. Двусторонняя мышечная гипотония встречалась наряду с грубыми двигательными нарушениями у больных с измененным сознанием и всегда являлась плохим прогностическим признаком. Раннее и устойчивое повышение мышечного тонуса в острой стадии инфаркта мозга наблюдалось у большинства больных. Мышечная гипертония распределялась избирательно: в руке – чаще всего в пронаторах предплечья, в сгибателях предплечья и в меньшей степени в аддукторах плеча и мышцах кисти, в ноге – в разгибателях голени и бедра.

Нарушения речи наблюдались у 18 больных: в 6 случаях имела место тотальная афазия, в 4 – смешанная, в одном случае – сенсорная афазия, в 3 – моторная афазия и в остальных 5 – корковая дизартрия.

При поступлении больных тяжесть неврологической симптоматики в среднем по группе составила 14 [10; 16] баллов по шкале NIHSS.

В острейшем периоде атеротромботического инсульта 9 из 26 больных (35%) умерли. В группе больных с летальным исходом тяжесть неврологических нарушений в первые сутки инсульта в среднем по группе составила 17 [15; 20] баллов по шкале NIHSS. Во всех случаях причиной смерти

таблица 1: Величина и количество инфарктов при атеротромбозе внутренней сонной артерии.

Величина инфарктов и их количество				Всего случаев
обширные	большие	средние	малые глубинные инфаркты	
8-8*	11-11*	7-10*	13**	26

Примечание: \* первое число – количество случаев, второе – суммарное количество инфарктов; \*\* число случаев, в которых обширные, большие и средние инфаркты сочетались с множественными малыми глубинными инфарктами.

был обширный инфаркт мозга вследствие продолженного из ВСА в интрацеребральные сосуды тромба. Наиболее четко отрицательная динамика очаговой и общемозговой симптоматики была сопряжена с апоплектиформным развитием инсульта. Сопор, выраженная степень полушарного пареза зрака, двусторонняя мышечная гипотония также оказались наиболее отрицательными прогностическими признаками.

У 13 больных имелась тенденция к регрессу двигательных нарушений.

В группе выживших пациентов тяжесть неврологических нарушений на 7 сутки заболевания составила 9 [7; 13] баллов, на 21 день – 9 [7; 11] баллов; уровень социальной адаптации по шкале Бартел на 7 сутки – 34 [15; 50] баллов, на 21 сутки – 37 [25; 50] баллов.

*Анализ данных томографического исследования.* Из 26 случаев с атеротромбозом ВСА в 8 случаях были обнаружены 8 обширных инфарктов мозга, в 11 случаях – 11 больших инфарктов, в 7 случаях – 12 средних инфарктов (у 5 из этих пациентов таких инфарктов в каждом случае было больше 1). Кроме того, в 17 уже указанных случаях с обширными, большими и средними инфарктами были выявлены малые глубинные инфаркты большого мозга (табл. 1).

Обширные инфаркты в 8 случаях локализовались в бассейнах средней и передней мозговых артерий. В 3 случаях они были одиночными, в 5 – сочетанными, т.е. в этих случаях были выявлены малые глубинные инфаркты в базальных ядрах полушарий большого мозга.

Большие инфаркты во всех 11 случаях локализовались в бассейне средней мозговой артерии. В 5 – случаях эти инфаркты были одиночными, в 6 – они сочетались с инфарктами меньшей величины, локализовавшимися как в том же, так и в противоположном полушарии большого мозга.

Изолированные средние инфаркты наблюдались только в 2 случаях. В остальных 5 они сочетались с другими инфарктами: с другими средними – в 2 случаях, со средним инфарктом и малыми глубинными инфарктами – в 2 случаях, с множественными малыми глубинными инфарктами – в 1 случае.

### Исследование биохимических маркеров состояния ткани мозга

Исследование экспрессии нейроспецифических белков в качестве маркеров состояния ткани мозга у больных с ише-

таблица 2: Маркеры состояния ткани мозга в цереброспинальной жидкости при атеротромботическом инсульте (первые сутки заболевания).

Показатели, среднее значение	Группы больных	Контроль (n=15)
	Атеротромботический инсульт (n=26)	
Белок S100, мкг/л	6,4±1,5*	3,7±0,6
Нейроспецифическая енолаза (NSE), мкг/л	6,3±1,1*	5,2±1,1

Примечание: \* различие между группой АТИ и контролем со степенью статистической значимости  $p < 0,05$ .

таблица 3: Маркеры состояния ткани мозга в сыворотке крови при атеротромботическом инсульте (первые сутки заболевания).

Показатели, среднее значение	Группы больных	Контроль (n=15)
	Атеротромботический инсульт (n=26)	
Белок S100, мкг/л	0,2±0,1*	0,1±0,04
Нейроспецифическая енолаза (NSE), мкг/л	51,5±13,7*	21,2±7,3

Примечание: \* различие между группой АТИ и контролем со степенью статистической значимости  $p < 0,05$ .

мическим инсультом наряду с методами нейровизуализации – одно из перспективных направлений в ангионеврологии [14, 20, 21, 28].

У больных с атеротромботическим подтипом ишемического инсульта выявлено статистически значимое повышение содержания белка S100 и NSE в цереброспинальной жидкости и сыворотке крови (табл. 2, 3), что обусловлено изменением ткани мозга, разрушением нейрональных мембран и активацией нейроглии [30, 32, 33].

Высокий уровень содержания белка S100 и NSE отражает большой объем структурных изменений мозга [26, 31]. При объеме инфаркта мозга более 5 см<sup>3</sup> содержание белка

S100 и NSE в сыворотке крови значительно выше, чем при объеме инфаркта мозга менее 5 см<sup>3</sup>, причем концентрация белков коррелирует с тяжестью неврологических нарушений [34].

Высокое содержание нейроспецифических белков как в сыворотке крови, так и в цереброспинальной жидкости выявлено при корково-подкорковых инфарктах мозга, в то время как у больных с малыми глубинными инфарктами мозга отмечено незначительное повышение белка S100 и NSE [34].

F.C. Varone и соавт. (1993) показали возможность использования NSE как клинико-диагностического критерия для оценки степени изменения нейронов головного мозга при ишемическом и геморрагическом инсульте. Эти исследователи обнаружили повышение концентрации NSE в сыворотке крови больных с ишемическим инсультом, причем концентрация белка коррелировала с тяжестью заболевания [3].

Уровень экспрессии белка S100 зависит от механизма развития ишемического инсульта: у пациентов с кардиогенной эмболией содержание белка S100 выше, чем у пациентов с лакунарным инсультом. В ряде клинических исследований у пациентов с инсультом установлена связь между ранним увеличением концентрации S100 в сыворотке крови и исходом заболевания [34].

Сопоставляя количественные данные содержания белка S100 и NSE в цереброспинальной жидкости и сыворотке крови, можно сделать вывод о том, что прорыв гематоэнцефалического барьера приходится на 1 сутки атеротромботического инсульта.

Высокое содержание белка S100 и NSE в цереброспинальной жидкости было выявлено у 80% (21 из 26) пациентов с атеротромботическим инсультом; 9 из них (35%) впоследствии умерли при явлениях отека мозга. Таким образом, иммуноферментный скрининг белка S100 и NSE в цереброспинальной жидкости и сыворотке крови позволяет объективизировать степень изменения состояния ткани мозга. Количественное определение белка S100 и NSE может быть рекомендовано в качестве дополнительного теста при определении тяжести течения атеротромботического инсульта, а также для контроля эффективности проводимой терапии.

## Список литературы

1. Березин В.А., Велик Я.В. Специфические белки нервной ткани. Киев: Наукова думка, 1990: 264.
2. Крыжановский Г.Н. Детерминантные структуры в патологии нервной системы. М.: Медицина, 1980: 360.
3. Barone F.C., Clerk R.K., Price W.J. et al. Neuron-specific enolase increases in cerebral and systemic circulation following focal ischemia. Brain Res. 1993; 1: 71–72.
4. Bonhomme V., Hans P. et al. Neuron-specific enolase as a marker of in vitro neuronal damage Part III. Investigation of the astrocyte protective effect against kainate-induced neurotoxicity. J. Neurosurg. Anesthesiol. 1993; 2: 9–22.
5. Burmeister M., Kim S. et al. A map of the distal region of the long arm of human chromosome 21 constructed by radiation hybrid mapping and pulsed-field gel electrophoresis. Genomics 1991; 9: 19–30.
6. Chen S.-H., Giblett E.R. Enolase: human tissue distribution and evidence for three different loci. Am. hum. Genet. 1976; 39: 277–280.
7. Cicero T.J., Cowan W.M. et al. The cellular localization of the two brain specific proteins, S100 and 14-3-2. Brain Res. 1970; 18: 25–34.
8. Cocchia D. Immunocytochemical localization of the S100 protein in the central nervous system of adult rat. Neurosci. Lett. 1979; 13 (suppl. 3): 158.

9. Eng L.F., Ghirmikar R.S., Lee Y.L. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969–2000). *Neurochem. Res.* 2000; 25 (9–10): 1439–1451.
10. Grasso A., Roda G. et al. Preparation and properties of the brain specific protein 14-3-2. *Brain Res.* 1977; 124: 497–507.
11. Haglid K.G., Hamberger A. et al. Cellular and subcellular distribution of the S100 in rabbit and rat central nervous system. *J. Neurosci. Res.* 1976; 2: 175.
12. Hansson H.A., Hyden H., Ronnback L. Localization of S100 protein in isolated nerve cells by immunoelectron microscopy. *Brain Res.* 1975; 93: 123.
13. Higashida H., Sano M., Kato K. Forskolin induction of S100 protein in glioma and hybrid cells. *J. cell. Physiol.* 1985; 122: 39–44.
14. Hill M.D., Jackowski G., Bayer N., Lawrence M., Jaeschke R. Biochemical markers in acute ischemic stroke. *CMAJ Can. Med. Assoc. J.* 2000; 162: 1139–1140.
15. Hyden H., McEwen H. A glial protein specific for the nervous system. *Proc. nat. Acad. Sci. USA.* 1966; 55: 354–358.
16. Isobe T., Okuyama T. The amino acid sequence of S100 protein (PAP-IB protein) and its relation to calcium-binding proteins. *Europ. J. Biochem.* 1978; 89: 379–388.
17. Jankovic B.D. Neural tissue hypersensitivity in psychiatric disorders with immunologic features. *J. Immunol.* 1985; 135 (2): 8536–8575.
18. Kato K., Nakajima T., Ishiguro Y. Sensitive enzyme immunoassay for S100 protein: determination in human cerebrospinal fluid. *Biomed. Res.* 1982; 3: 24–28.
19. Kato K., Umeda Y. et al. Use of antibody Fab-fragments to remove interference by rheumatoid factors with the enzyme-linked sandwich immunoassay. *FEBS Lett.* 1979; 102: 253–256.
20. Laskowitz D.T., Blessing R., Floyd J. et al. Panel of biomarkers predicts stroke. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2005; 1053: 30.
21. Lynch J.R., Blessing R., White W.D. et al. Novel diagnostic test for acute stroke. *Stroke* 2004; 35: 57–63.
22. Marangos P.J., Schmechel D. et al. Measurement of neuronal and non-neuronal enolase of rat, monkey and human tissues. *J. Neurochem.* 1979; 33: 319–329.
23. Martin B.M., Marangos P.J. et al. Structural studies of human neuron-specific enolase. *Fed. Proc. ASBC Abstr.* 1986; 45: 2146.
24. Mecocci P., Parnetti L. et al. Serum anti-GFAP and anti-S100 autoantibodies in brain aging, Alzheimer's disease and vascular dementia. *J. Neuroimmunol.* 1995; 57: 165–170.
25. Michetti F., Massaro A., Russo G. The S100 antigen in cerebrospinal fluid as a possible index of cell injury in the nervous system. *J. Neurol. Sci.* 1980; 44: 259–263.
26. Marcovina S.M., Crea F., Davignon J. et al. Biochemical and bioimaging markers for risk assessment and diagnosis in major cardiovascular diseases: a road to integration of complementary diagnostic tools. *J. Int. Med.* 2007; 261: 214–234.
27. Mokuno K., Kato K. et al. Neuron-specific enolase and S100 protein levels in cerebrospinal fluid of patients with various neurological disorders. *J. Neurol. Sci.* 1983; 60: 434–454.
28. Montaner J., Delgado P., Purroy F. et al. Biochemical diagnosis of acute stroke using a panel of plasma biomarkers. *Cerebrovasc. Dis.* 2005; 19: 47.
29. Moore B.W., McGregor D. Chromatographic and electrophoretic fractionation of soluble proteins of brain and liver. *J. Biol. Chem.* 1965; 133: 1647–1653.
30. Reynolds M.A., Kirchick H.J., Dahlen J.R. et al. Early biomarkers of stroke. *Clin Chem.* 2003; 49: 1733–1739.
31. Ridker P.M., Brown N.J., Vaughan D.E. et al. Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events. *Circulation* 2004; 109: IV–6.
32. Takahashi M., Chameczuk A., Hong Y., Jackowski G. Rapid and sensitive immunoassay for the measurement of serum S100B using isoform-specific monoclonal antibody. *Clin Chem.* 1999; 45: 1307–1311.
33. Vasan R.S. Biomarkers of cardiovascular disease: molecular basis and practical considerations. *Circulation* 2006; 113: 2335–2362.
34. Wunderlich M.T., Ebert A.D., Kratz T. et al. The early neurobehavioral outcome after stroke is related to the release of neurobiochemical markers of brain damage. *Stroke* 1999; 30: 1190–1195.

## Neurospecific peptides in the assessment of brain damage in patients with atherothrombotic stroke

M.Ju. Maximova, V.G. Ionova, E.N. Syskina, A.A. Shabalina, M.V. Kostyreva, O.A. Sinektutova

*Research Center of Neurology, Russian Academy of Medical Sciences;  
Moscow State Medical-Stomatologic University (Moscow)*

**Key words:** neurospecific peptides, atherothrombotic stroke, biochemical markers of acute stroke

Assessment of neurospecific peptides provide quantitative information about the severity of ischemic cell damage. We studied 26 patients with atherothrombotic stroke. Control group comprised 15 healthy volunteers. Each patient underwent neurological examination and CT or MRI of the brain on admission. Patients with documented or clinical evidence of nervous system tumor, brain infarction, hemorrhage, head trauma, or central nervous system infection within 3 months before admission were excluded from this study. Stroke severity was rated using the National

Institutes of Health Stroke Scale. S100 and NSE assays were performed using a radioimmunoassay technique. S100 and NSE levels were measured in cerebrospinal fluid (CSF) and serum. CSF and serum S100 and NSE levels were elevated in patients with atherothrombotic stroke compared with the control group. Elevation of S100 and NSE levels in CSF and serum after ischemic stroke may be a result of combined leakage out of necrotic cells and passage through an impaired brain-blood barrier, indicating severe ischemic cell injury.

**Контактный адрес:** Максимова Марина Юрьевна – докт. мед. наук, главн. науч. сотр. 2-го неврологического отделения Научного центра неврологии РАМН. 125367, Москва, Волоколамское шоссе, д. 80. Тел.: +7 (495) 490-25-05.

Ионова В.Г. – докт. мед. наук, проф., руководитель лаб. гемореологии и гемостаза НЦН РАМН;

Сыскина Е.Н. – асп. кафедры неврологии стоматологического факультета МГМСУ;

Шабалина А.А. – канд. мед. наук, старш. науч. сотр. лаб. гемореологии и гемостаза НЦН РАМН;

Костырева М.В. – врач-лаборант лаб. гемореологии и гемостаза НЦН РАМН;

Сенектутова О.А. – асп. кафедры неврологии стоматологического факультета МГМСУ (Москва).