

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ НЕКОТОРЫХ НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ РТУТНОЙ ИНТОКСИКАЦИЕЙ В ПОСТКОНТАКТНОМ ПЕРИОДЕ

© 2024 г. Г. М. Бодиенкова¹*, Е. В. Боклаженко¹

¹ФГБНУ “Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований”, Ангарск, Россия

*E-mail: immun11@yandex.ru

Поступила в редакцию 21.04.2023 г.

После доработки 18.05.2023 г.

Принята к публикации 19.05.2023 г.

Цель исследования заключалась в выявлении закономерностей изменения некоторых нейроспецифических белков (BDNF, S100 β , ОБМ) в сыворотке крови пациентов с хронической ртутной интоксикацией (ХРИ) после прекращения воздействия токсиканта. В клинических условиях проведено обследование мужчин с установленным диагнозом ХРИ в отдаленном периоде после разобщения с токсикантом на химическом производстве. Концентрации нейроспецифических белков (BDNF, S100 β , ОБМ) в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью коммерческих тест-систем ChemiKine (США), CanAg (Швеция) и AnshLabs (США) соответственно. Полученные результаты свидетельствуют и подтверждают прогрессивность болезненного процесса в отдаленном, постконтактном периоде хронической интоксикации ртутью, что соответствует клинике проявления заболевания. У пациентов с ХРИ через 5 лет разобщения с токсикантом зарегистрированы повышенные концентрации в сыворотке крови BDNF, белка S100 β и ОБМ. Длительно сохраняющиеся высокие уровни нейротрофических белков могут отражать течение нейродеструктивных процессов, происходящих в нервной ткани, и прогрессирование заболевания. Дефицит BDNF у лиц с ХРИ, обследованных в связанной выборке через 8 лет постконтактного периода, возможно, свидетельствует об ослаблении нейрогенеза. Дальнейшие исследования будут способствовать более точному определению и пониманию использования сывороточных концентраций BDNF, белка S100 β , ОБМ в качестве маркеров активности патологического процесса и конкретной мишени для эффективного лечения.

Ключевые слова: мозгоспецифический нейротрофический фактор, белок S100 β , общий белок миелина, хроническая ртутная интоксикация, постконтактный период

DOI: 10.31857/S1027813324010102, EDN: GYNKXW

ВВЕДЕНИЕ

До настоящего времени сохраняет свою актуальность проблема токсических поражений нервной системы парами металлической ртути, несмотря на значительное сокращение использования ее в технологических процессах. Особенно значимым аспектом проблемы является длительное течение нейроинтоксикации в постконтактном периоде, не приводящее к полному восстановлению здоровья, а в ряде случаев наблюдается ухудшение клинических проявлений в отдаленном периоде, затем прекращается взаимодействия с токсикантом [1]. При многих заболеваниях нервной системы, сопровождающихся деструктивными, демиелинизирующими процессами, отмечается выход нейроспецифических белков из поврежденных клеток нервной системы в интерстициальное пространство и далее

в биологические среды [2]. Одним из современных направлений нейрофизиологии является использование сывороточных концентраций нейроспецифических белков, в частности мозгового нейротрофического фактора (BDNF), белка S100 β , общего белка миелина (ОБМ), в качестве маркеров нейробиохимических изменений. В настоящее время установлено, что нарушение синтеза нейробелков наблюдается при развитии и течении многих патологических процессов (депрессивных расстройств, шизофрении, инсульте, алкоголизме, болезни Альцгеймера, Паркинсона, расстройствах аутистического спектра, невропатической боли и др.) [3, 4]. Продолжает находиться в стадии активного изучения детализация механизмов, лежащих в основе нейродеструктивных процессов при интоксикации ртутью. Это является необходимым для дальнейшего поиска и обоснования

патогенетических мишеней, определяющих новые подходы к диагностике и лечению нейроинтоксикаций. Одним из значимых биомаркеров неврологических расстройств является мозгоспецифический нейротрофический фактор (BDNF), сывороточный уровень которого, коррелируя с концентрацией в центральной нервной системе, может рассматриваться также как показатель эффективного лечения [5]. BDNF один из представителей группы подсемейства нейротрофинов, семейства факторов роста, белок из класса цитокинов, обладающий высокой функциональной активностью, которая значительно отличается в зависимости от стадии онтогенеза. BDNF участвует в развитии и сохранении нейрональных клеток мозга [6, 7]. Указанный нейротрофин может принимать участие как в формировании патологий нервной системы, так и в индукции толерантности мозга к стрессирующим факторам внешней и внутренней среды. В настоящее время подтверждена роль BDNF в регуляции нейрональной пластичности [8].

Наиболее специфичным белком мозговой ткани является широко известный мозгоспецифический белок S100 β , присутствующий в клетках головного мозга. Постоянство концентрации его обеспечивает нормальное функционирование всех систем головного мозга. Увеличение уровня S100 β в крови происходит вследствие структурно-функциональных повреждений, прежде всего глиальных клеток мозга, и повышения проницаемости ГЭБ. Через фосфорилирование других белков он принимает участие в передаче сигнала, обеспечивая тем самым пластические процессы [9]. Чувствительным маркером повреждения нервной ткани, проницаемости гематоэнцефалического барьера является один из ключевых структурно-функциональных компонентов миелиновой оболочки — общий белок миелина (ОБМ). Разрушение миелина является универсальным механизмом реакции нервной ткани на повреждение в результате дисрегуляции белково-липидного соотношения мембраны миелина. При повреждении ЦНС нарушается функция гематоэнцефалического барьера, что сопровождается повышением концентрации ОБМ в сыворотке крови [10, 11]. Кроме известных эффектов влияния нейротрофинов на нервную систему, в литературе имеются данные о множестве регуляторных влияний на иммунную систему [12]. Не исключена сопряженность указанных нейробелков со многими другими биорегуляторами, в частности с цитокинами, гормонами, сигнальными молекулами и др. Результаты ранее выполненных нами исследований работающих в условиях контакта с парами металлической ртути и пациентов с ХРИ в зависимости от выраженности патологического процесса свидетельствовали о нарушении адекватной работы механизмов цитокиновой регуляции, нейроаутоиммунного ответа. С нарастанием тяжести

патологического процесса изменяются динамика и взаимосвязь указанных показателей [13].

В этой связи перспективным является дальнейшее выяснение участия нейробелков в дифференцированном регулировании ответа нейронов различных областей мозга в отдаленном периоде после прекращения воздействия токсиканта и использование их в качестве маркеров диагностики и терапевтической мишени при заболеваниях нервной системы различного генеза. Тем более что в настоящее время активно разрабатываются инновационные технологии, направленные на применение нейроспецифических белков в целях модуляции патологического процесса [14].

Цель исследования — выявить закономерности изменения нейроспецифических белков (BDNF, S100 β , ОБМ) в сыворотке крови пациентов с хронической ртутной интоксикацией после прекращения воздействия токсиканта.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В стационарных условиях проведено обследование мужчин (возраст — 53.38 ± 0.82 года, стаж работы в контакте с токсикантом — 15.62 ± 0.8 лет) с установленным диагнозом профессиональной ХРИ ($n = 22$). В клинической картине обследованных лиц превалировала энцефалопатия, характеризующаяся преимущественно проявлением психических расстройств (чаще в виде органического астенического расстройства или органического расстройства личности с когнитивными и эмоционально-волевыми нарушениями различной степени выраженности). Группу сравнения составили мужчины ($n = 27$) сопоставимые по возрасту (47.2 ± 4.7 года) и общему трудовому стажу (14.2 ± 1.2 года), не имеющие клинических признаков острых или хронических заболеваний любой природы и контакта в условиях производства с химическими факторами. Лабораторные исследования выполнены в лаборатории иммунобиохимических и молекулярно-генетических исследований института. Клиническое обследование и постановка диагноза — в клинике института в соответствии с классификационными критериями болезней и состояний МКБ 10-го пересмотра. Концентрации нейрональных белков в сыворотке крови определяли стандартным методом твердофазного иммуноферментного анализа на высокоскоростном иммуноферментном анализаторе “Alisei”. Концентрацию BDNF в сыворотке крови определяли у 22 пациентов в связной выборке сразу после прекращения воздействия ртути, через 5 и 8 лет постконтактного периода с помощью тест-систем “ChemiKine Elisa”, США (каталожный № DBD 00). Сывороточные концентрации белков S100 β и ОБМ определяли у этих же пациентов только через 5 лет с использованием реактивов

фирмы CanAg, Швеция (каталожный № 708–10) и AnshLabs, США (каталожный № 931–1080) соответственно. Кровь для исследования у пациентов во все сроки наблюдения брали однократно при поступлении в стационар, до проведения лечения, натощак. Использовали пробирки “Vacutainer”, которые центрифугировали на лабораторной центрифуге ЦЛМН-Р10–01 (“Электрон-М”, Россия) при 1500 об/мин в течение 15 мин для получения сыворотки. Сыворотку отбирали в отдельные пробирки “Эппендорф” (Eppendorf) и хранили в низкотемпературном холодильнике (Sanyo, Япония) при температуре -70°C .

Полученные результаты обрабатывали статистически с помощью пакета прикладных программ “Statistica 6.0” (StatSoft, США). Возраст и стаж работы обследованных пациентов представлены в виде средней (M) и ее ошибки (m). Проверку нормальности распределения переменных выполняли с использованием критерия Шапиро – Уилкса. Данные представлены в виде медианы (Me), нижнего (Q_{25}) и верхнего (Q_{75}) квартилей. Для определения значимости между независимыми выборками при ненормальном распределении использовали критерий Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что гиперактивация в иммунной системе и процесс нейровоспаления приводят к дисрегуляции отдельных нейроспецифических белков, способствуют ослаблению нейрогенеза, а также развитию процессов дегенерации [14]. Ранее выполненные исследования позволили зарегистрировать изменения в содержании BDNF и белка S100 β в сыворотке крови работающих в период воздействия паров металлической ртути в условиях производства, которые изменялись в зависимости от тяжести течения патологического процесса [15, 16].

Наблюдение за пациентами в динамике после прекращения производственного контакта с ртутью показало, что в течение 5 лет уровни BDNF статистически значимо не изменялись и оставались на прежнем высоком относительно контроля (659.20 (443.60–776.20) пг/мл) уровне. Медианные значения указанного показателя составили 1176.20 (535.60–1781.10) пг/мл против 989.95 (803.30–1209.20) пг/мл сразу после прекращения контакта с токсикантом. А через последующие 3 года наблюдалось снижение концентраций до 370.51 (59.33–1256.57) пг/мл как относительно первого ($p = 0.001$), так и второго ($p = 0.003$) обследования в постконтактном периоде, а также по сравнению с контрольной группой 473.80 (262.30–797.00) пг/мл. Дефицит нейротрофинов и ослабленный нейрогенез способствуют более быстрой гибели клеток гиппокампа

и вызывают пластические перестройки [17]. Что касается эндогенного белка S100 β , то в исследованиях, выполненных ранее, показано статистически значимое возрастание его у стажированных рабочих (83.38 ± 4.64 нг/л) и пациентов с ХРИ (95.60 ± 5.61 нг/л) при сопоставлениях с работающими вне контакта с нейротоксикантами (64.93 ± 2.68 нг/л). Причем наиболее выраженное повышение белка S100 β отмечено при ХРИ [18]. В результате обследования пациентов с ХРИ через 5 лет после прекращения контакта с ртутью зарегистрированы также статистически значимо высокие медианные значения показателя (85.62 (73.83 – 118.30 нг/л)) относительно группы сравнения (63.46 (43.80 – 89.34 нг/л); $p = 0.03$). Учитывая факт того, что протеины S100 β могут участвовать в воспалительных реакциях, регулировать дифференцировку глии и нейронов, запускать программируемую смерть клеток, есть основания полагать, что в нашем случае уровень белка S100 β может отражать степень выраженности патологического процесса.

Результаты определения и оценки сывороточных концентраций одного из маркеров деструкции миелина ОБМ у лиц с ХРИ через 5 лет после прекращения контакта с парами металлической ртути свидетельствуют о его повышенных значениях по сравнению с группой сравнения более чем в 2 раза (1.13 (0.45 – 1.85 нг/л) против 0.49 (0.16 – 0.81 нг/л) в контроле; $p = 0.04$). Сразу после прекращения воздействия ртути концентрации указанного белка у лиц с ХРИ не определяли, но, тем не менее, можно предположить их нарастание у работающих в условиях воздействия токсиканта. Об этом отчасти могут свидетельствовать зарегистрированные корреляции между уровнями АТ к отдельным нейроспецифическим белкам, в том числе к ОБМ, и скоростью проведения импульсов по аксонам различных структур периферической нервной системы, что подтверждает значимость этого показателя в диагностике активности демиелинизирующих процессов при ХРИ в отдаленном периоде [19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют и подтверждают прогрессивность болезненного процесса в отдаленном периоде интоксикации ртутью, что соответствует клинике проявления заболевания. У пациентов с ХРИ через 5 лет разобщения с токсикантом зарегистрированы повышенные концентрации в сыворотке крови BDNF, белка S100 β и ОБМ. Длительно сохраняющиеся высокие уровни нейротрофических белков могут свидетельствовать о прогрессировании заболевания. Дефицит BDNF в отдаленном постконтактном периоде (через 8 лет) возможно отражает ослабление нейрогенеза. Дальнейшие исследования будут

способствовать более точному определению и пониманию использования сывороточных концентраций BDNF, белок S100 β , ОБМ в качестве маркеров активности патологического процесса и конкретной мишени для эффективного лечения.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена за счет финансовых средств, выделенных в рамках Государственного задания ФГБНУ ВСИМЭИ.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Этическое одобрение. Обследование пациентов соответствовало этическим стандартам в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2000) и “Правилами клинической практики в Российской Федерации”, утвержденными приказом Минздрава России от 19.06.2003 № 266.

Информированное согласие. Исследования выполнены с информированного согласия пациентов на участие в них и одобрено Этическим комитетом ВСНЦ ЭЧ СО РАМН (Протокол № 5 от 14.11.2012).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лахман О.Л., Рукавишников В.С., Шаяхметов С.Ф., Соседова Л.М., Катаманова Е.В., Бодиевкова Г.М., Кудяева И.В., Шевченко О.И., Русанова Д.В., Журба О.М. // Медицина труда и промышленная экология. 2015. № 9. С. 82–83.
2. Астахин А.В., Евлашева О.О., Левитан Б.Н. // Астраханский медицинский журнал. 2015. Т. 10. № 2. С. 42–46.
3. Левчук Л.А., Вялова Н.М., Михалицкая Е.В., Семкина А.А., Иванова С.А. // Современные проблемы науки и образования. 2018. № 6. С. 58.
4. Бодиевкова Г.М., Курчевенко С.И. // Медицина труда и промышленная экология. 2014. № 4. С. 34–37.
5. Lopresti A.L., Maker G.L., Hood S.D., Drummond P.D. // Prog. Neuropsychopharmacol Biol. Psychiatry. 2014. V. 48. P. 102–111. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.09.017>
6. Woolf C.J., Salter M.W. // Science. 2000. V. 288. № 5472. P. 1765–1768. <https://doi.org/10.1126/science.288.5472.1765>
7. Colucci-D'Amato L., Speranza L., Volpicelli F. // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21. № 20. P. 7777. <https://doi.org/10.3390/ijms21207777>
8. Dwivedi Y. // Neuropsychiatric Disease and Treatment. 2009. V. 5. P. 433–449. <https://doi.org/10.2147/ndt.s5700>
9. Ермаков С.В., Можейко Р.А., Батулин В.А., Белоконь О.С. // Вестник современной клинической медицины. 2018. Т. 11. № 6. С. 11–15.
10. Астахин А.В., Евлашева О.О., Левитан Б.Н. // Астраханский медицинский журнал. 2016. Т. 11. № 4. С. 9–17.
11. Усманова Д., Маджидова Ё.Н. // Сибирское медицинское обозрение. 2017. № 1(103). С. 60–63. <https://doi.org/10.20333/2500136-2017-1-60-63>
12. Kytikova O. Yu., Novgorodtseva T.P., Antonyuk M.V., Gvozdenko T.A. // Bulletin of Siberian Medicine. 2021. V. 20. № 1. P. 158–167. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-1-158-167>
13. Бодиевкова Г.М., Боклаженко Е.В. // Нейрохимия. 2021. Т. 38. № 4. С. 385–390. <https://doi.org/10.31857/S1027813321040026>
14. Липатова Л.В., Серебрянная Н.Б., Капустина Т.В., Сивакова Н.А. // Аллергология и иммунология. 2017. Т. 18. № 1. С. 60.
15. Бодиевкова Г.М., Боклаженко Е.В. // Успехи современного естествознания. 2015. № 5. С. 105–108.
16. Бодиевкова Г.М., Боклаженко Е.В. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2011. № 3–2 (79). С. 140–143.
17. Григорьян Г.А., Дыгало Н.Н., Гехт А.Б., Степанчев М.Ю., Гуляева Н.В. // Успехи физиологических наук. 2014. Т. 45. № 2. С. 3–19.
18. Боклаженко Е.В., Бодиевкова Г.М. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2010. № 1 (71). С. 14–16.
19. Боклаженко Е.В., Бодиевкова Г.М., Русанова Д.В. // Медицинская иммунология. 2019. Т. 21. № 6. С. 1197–1202. DOI: 10.15789/1563-0625-2019-6-1197-1202.

Patterns of Changes in Certain Neurospecific Proteins in Patients with Post-Contact Period Chronic Mercury Intoxication

G. M. Bodienkova¹ and E. V. Boklazhenko¹

¹Federal State Budgetary Scientific Institution “East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research”, Angarsk, Russia

The aim of the study was to identify patterns of change in certain neurospecific proteins (BDNF, S100 β , MBP) in the serum of patients with chronic mercury intoxication (CMI) after stopping exposure to

the toxicant. In clinical conditions, men with an established diagnosis of chronic mercury intoxication were examined in a distant period after isolation from a toxicant in chemical production. Serum concentrations of neurospecific proteins (BDNF, S100 β , MBP) were determined by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay using a commercial test-systems of ChemiKine (USA), CanAg (Sweden) and AnshLabs (США) respectively. The obtained results indicate and confirm the progressionality of the disease process in the distant, post-exposure period of chronic mercury intoxication, which corresponds to the clinic of the manifestation of the disease. Elevated serum concentrations of BDNF, S100 β protein, and MBP were reported in patients with CMI after 5 years of exposure to the toxicant. Long-lasting high levels of neurotrophic proteins may reflect the course of neurodestructive processes occurring in the nervous tissue and the progression of the disease. BDNF deficiency in CMI individuals examined in a linked sample at 8 years post-exposure may be indicative of attenuation of neurogenesis. Further studies will contribute to a more accurate definition and understanding of the use of serum concentrations of BDNF, S100 β protein, MBP as markers of pathological process activity and a specific target for effective treatment.

Keywords: brain-specific neurotrophic factor, S100 β protein, myelin basic protein, chronic mercury intoxication, post-contact period