

burst fractures of the spine. *Saratov journal of medical scientific research* 2011; 7 (1): 146–147. Russian (Зарецков В. В., Арсений В. Б., Лихачев С. В., Артемов Л. А., Титова Ю. И., Зуева Д. П. Способ хирургического лечения осколчатых переломов тел позвонков. Саратовский научно-медицинский журнал 2011; 7 (1): 146–147.)

2. Afaunov AA, Usikov VD, Afaunov AI. Possibilities of Transpedicular Osteosynthesis in Treatment of Thoracic and Lumbar Spine Injuries. *Vestnik Traumatologii i Ortopedii im. N. N. Priorova* 2004; (4): 68–74. Russian (Афаунов А. А., Усиков В. Д., Афаунов А. И. Возможности транспедикулярного остеосинтеза при лечении травм грудного и поясничного отделов позвоночника. Вестник травматологии и ортопедии им. Н. Н. Приорова 2004; (4): 68–74.)

3. Magerl F, Aebi M, Gertzbein SD, Harms J, Nazarian S. A comprehensive classification of thoracic and lumbar injuries. *Eur Spine J* 1994; (3): 184–201.

4. Usikov VD. Spine Transpedicular Osteosynthesis Manual. St. Petersburg, 2006; 120 p. Russian (Усиков В. Д. Руководство по транспедикулярному остеосинтезу позвоночника; СПб., 2006; 120 с.)

5. Kuleshov AA, Lisyanskiy IN, Vetrile MS, Gavryushenko NS, Fomin LV. Comparative Experimental Study of Hook and Pedicle Fixation Systems Used at Surgical Treatment of Spine Deformities. *Vestnik Traumatologii i Ortopedii im. N. N. Priorova* 2012; (3): 20–24. Russian (Кулешов А. А., Лисянский И. Н., Ветрилэ М. С., Гаврюшенко Н. С., Фомин Л. В. Сравнительное экспериментальное исследование крючковой и транспедикулярной системы фиксации, применяемых при хирургическом

лечении деформации позвоночника. Вестник травматологии и ортопедии им. Н. Н. Приорова 2012; (3): 20–24.)

6. Rerikh VV, Borzykh KO, Rakhmatillaev ShN. Surgical Treatment of Burst Fractures of the Thoracic and Lumbar Spine Accompanied with Spinal Canal Narrowing. *Hirurgia Pozvonochnika* 2007; (2): 8–15. Russian (Рерих В. В., Борзых К. О., Рахматиллаев Ш. Н. Хирургическое лечение взрывных переломов грудных и поясничных позвонков, сопровождающихся сужением позвоночного канала. Хирургия позвоночника 2007; (2): 8–15.)

7. Boos H, Aebi M. Spinal Disorders. Fundamentals of Diagnosis and Treatment. Springer 2008; 1166 p.

8. Knop C, Blauth M, Bühren V, Hax PM et al. Surgical treatment of injuries of the thoracolumbar transition. *Epidemiology, Unfallchirurg* 1999; (1): 24–35.

9. Afaunov AA, Usikov VD, Usikov VV. Method for Vertebral Reposition in Case of Fragmentation-Type Fractures and Fractures-Dislocations: Patent RU2223705, IPC A61B17/56; Application Number RU2002122054; Application Date 12.08.2002; Patent Publication Date 20.02.2004. *Bul. № 5. Russian* (Афаунов А. А., Усиков В. Д., Усиков В. В. Способ репозиции позвоночника при осколчатых переломах и переломовывихах // Пат. № 2223705 РФ, МКИ А 61 В 17/56; № заявки 2002122054; заявл. 12.08.2002; опубл. 20.02.04. Бюл. №5.)

10. De Voeck H, Opdecam P. Split coronal fractures of the lumbar spine treatment by posterior internal fixation and transpedicular bone grafting. *International Orthopaedics* 1999; (2): 87–90.

УДК 616–01/–099:616–092.6

Оригинальная статья

ФАКТОРЫ РОСТА НЕРВНОЙ ТКАНИ КАК МАРКЕРЫ ОЦЕНКИ ПРОЦЕССОВ НЕЙРОГЕНЕЗА ПРИ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СПИННОГО МОЗГА

В. Ю. Ульянов — ФГБУ «Саратовский НИИТО» Минздрава России, отдел инновационных проектов в нейрохирургии и вертебрологии, старший научный сотрудник, кандидат медицинских наук; **И. А. Норкин** — ФГБУ «Саратовский НИИТО» Минздрава России, директор, профессор, доктор медицинских наук; **Г. А. Дроздова** — ФГБОУ ВПО «РУДН», медицинский факультет, кафедра общей патологии и патологической физиологии, профессор, доктор медицинских наук; **Е. А. Конюченко** — ФГБУ «Саратовский НИИТО» Минздрава России, отдел фундаментальных и клинико-экспериментальных исследований, младший научный сотрудник.

NERVE TISSUE GROWTH FACTORS AS MARKERS OF EVALUATION OF NEUROGENESIS PROCESSES IN TRAUMATIC SPINAL CORD DISEASE

V. Yu. Ulijanov — Saratov Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopaedics, Department of Innovative Projects in Neurosurgery and Vertebrology, Senior Research Assistant, Candidate of Medical Science; **I. A. Norkin** — Director of Saratov Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopaedics, Professor, Doctor of Medical Science; **G. A. Drozdova** — Peoples' Friendship University of Russia, Faculty of Medicine, Department of General Pathology and Pathological Physiology, Professor, Doctor of Medical Science; **E. A. Konjuchenko** — Saratov Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopaedics, Department of Fundamental and Clinical Experimental Studies, Junior Research Assistant, Candidate of Biological Science.

Дата поступления — 02.07.2014 г

Дата принятия в печать — 10.09.2014 г.

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.

Цель: проведение иммунологической дифференциации эффектов регенерации нервной ткани в остром и раннем периодах травматической болезни спинного мозга на основании оценки динамики содержания нейроспецифических белков в сыворотке крови пострадавших. **Материал и методы.** Методом иммуноферментного анализа изучено содержание нейроспецифических белков в сыворотке крови 40 пациентов с повреждениями спинного мозга. **Результаты.** Динамика количественных и хронометрических изменений содержания нейроспецифических белков в сыворотке крови пациентов в остром и раннем периодах травматической болезни спинного мозга характеризуется двухфазным повышением концентрации CNTF; монотонным повышением содержания NT-3 во все сроки наблюдения; двухфазным увеличением уровней NT-4 на 1–4-е и 14-е сутки с момента травмы. **Заключение.** Комплексное исследование уровней содержания нейроспецифических белков в сыворотке крови позволяет селективно оценивать отдельные компоненты процесса регенерации нервной ткани в остром и раннем периодах травматической болезни спинного мозга.

Ключевые слова: спинной мозг, травматическая болезнь, нейрогенез, регенерация, факторы роста нервной ткани, иммуноферментный анализ.

Ulijanov VYu, Norkin IA, Drozdova GA, Konjuchenko 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.

Objective: immunological differentiation effects regeneration of nerve tissue in the acute and early periods of traumatic spinal cord disease on the basis of assessment of the dynamics of content neurospecific proteins in serum affected. **Material and Methods.** Content of neurospecific proteins in the blood serum has been studied by enzyme immunoassay in 40 patients with spinal cord injuries. **Results.** Dynamics and quantitative changes in the content of chromometric neurospecific proteins in serum of patients in acute and early periods of traumatic spinal cord disease is characterized by two-phase increase in the concentration CNTF; monotonic increase in the content of NT-3 in all periods of observation; biphasic increase in the levels of NT-4 to 1-4th and 14-th day from the date of injury. **Conclusion.** Complex research of neurospecific levels of proteins in the serum allows one to evaluate selectively the individual components of the process of regeneration of nerve tissue in acute and early periods of traumatic spinal cord disease.

Key words: spinal cord, traumatic disease, neurogenesis, regeneration, nerve tissue growth factors, enzyme immunoassay.

Введение. Первичная альтерация вещества спинного мозга при травмах определяет не только формирование в нем так называемой зоны «пенумбры» в результате спраунга и апоптоза нейронов, но и активацию саногенетических механизмов нейротрофической поддержки за счет влияния на клеточные программы нейрогенеза. Последние в посттравматическом периоде реализуются посредством усиления экспрессии факторов роста нервной ткани в области вторичного повреждения спинного мозга, что сопровождается значительным увеличением их концентраций в спинномозговой жидкости и периферической крови. Интенсивность экспрессии различных факторов роста нервной ткани определяется индивидуальной потребностью нейронов в нейротрофической поддержке и фазой нейрогенеза [1–3].

Под влиянием факторов роста нервной ткани происходит так называемая «истинная» регенерация поврежденных нейронов, рост аксонов неповрежденных нейронов и восстановление пула олигодендроцитов. Данные процессы определяют появление нового функционального синцития нервной ткани в зоне вторичного повреждения, что является крайне необходимым условием для поддержания клеточного гомеостаза нейронов, процессов ремиелинизации аксонов и минимальной компенсации утраченных функций спинного мозга в посттравматическом периоде [4, 5].

В этой связи определение иммунологических маркеров регенерации нервной ткани в посттравматическом периоде является методом выбора для оценки состояния функционирующего клеточного пула спинного мозга.

Цель: проведение иммунологической дифференциации эффектов регенерации нервной ткани в остром и раннем периодах травматической болезни спинного мозга на основании оценки динамики содержания нейроспецифических белков в сыворотке крови пострадавших.

Материал и методы. Объектом исследования явились 40 пострадавших обоего пола с осложненными травматическими повреждениями шейного отдела позвоночника, находившихся в клинике нейрохирургии ФГБУ «СарНИИТО» Минздрава России в период с 2011 по 2013 г. Все пациенты поступили в стационар в течение 1–4 суток с момента получения травмы и были сопоставимы по возрасту, механизму повреждений и степени выраженности неврологического дефицита (классы А, В по шкале Frankel). Контрольную группу составили 40 сопоставимых по полу и возрасту практически здоровых лиц.

У обследуемых обеих групп осуществляли взятие периферической крови из кубитальной вены в объеме 5 мл. Образцы крови экспонировали при температуре 23°C и после образования сгустка центрифугировали при 2000 об/мин в течение 10 минут для

получения сыворотки. Количественное содержание нейроспецифических белков в сыворотке крови изучали методом иммуноферментного анализа с помощью наборов для определения цилиарного нейротрофического фактора, CNTF (R and D Systems USA and Canada), нейротрофина-3 (NT-3) и нейротрофина-4 (NT-4) (Ray Bio Human) в соответствии с инструкциями к их применению.

Исследования нейроспецифических белков в сыворотке крови у пациентов основной группы осуществляли на 1–4-е, 7-е, 14-е, 21-е и 30-е сутки с момента получения травмы, контрольной группы — однократно.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью пакета программ IBM SPSS 20 Statistics. Проверяли гипотезы о виде распределения (критерий Шапиро — Уилкса). Большинство наших данных не соответствовали закону нормального распределения, поэтому для сравнения значений использовали непараметрический U-критерий Манна — Уитни, на основании которого рассчитывали показатель достоверности (p). Различия между значениями считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. Полученные нами данные о содержании CNTF в сыворотке крови больных основной группы (таблица) свидетельствовали о двухфазных изменениях его концентрации. Уровень CNTF в сыворотке крови увеличивался на 1–4-е сутки в 12,01 раза по сравнению с контрольным значением ($p < 0,001$) и на 14-е сутки в 1,92 раза по сравнению с предыдущим сроком ($p_2 < 0,001$). Снижение концентрации CNTF в 4,96 раза в сыворотке крови, не достигающее контрольных значений, происходило на 7-е сутки ($p_1 < 0,001$), в 1,52 раза — на 21-е ($p_3 < 0,001$) и в 3,01 раза — на 30-е сутки ($p_4 < 0,001$) с момента травмы по сравнению с предыдущими сроками.

Уровень NT-3 в сыворотке крови больных основной группы (таблица) характеризовался пиковым повышением значений в 3,96 раза по сравнению с контрольным ($p < 0,001$) на 1–4-е сутки с момента травмы. В остальные сроки наблюдения концентрации NT-3 в сыворотке крови сохранялись на стабильно высоком уровне относительно контрольной величины.

Исследование содержания NT-4 в сыворотке крови пациентов основной группы (таблица) показало нарастающее увеличение его концентрации в 9,71 раза по сравнению с контролем на 1–4-е сутки ($p < 0,001$) и в 1,37 раза на 14-е сутки ($p_2 < 0,001$) по сравнению с предыдущими сроками. Затем на 21-е и 30-е сутки происходило снижение уровня изучаемого показателя соответственно в 2,64 раза ($p_3 < 0,001$) и в 1,48 раза ($p_4 < 0,001$) по сравнению с предыдущими периодами.

Таким образом, динамика количественных и хронометрических изменений содержания нейроспецифических белков в сыворотке крови пациентов в остром и раннем периодах травматической болезни спинного мозга характеризовалась двухфазным повышением концентрации CNTF, более выраженным на 1–4-е и менее выраженным — на 14-е сутки; моно-

Ответственный автор — Ульянов Владимир Юрьевич
Тел.: 8 (8452) — 39-31-91.
E-mail: v.u.ulyanov@gmail.com.

**Содержание иммунологических маркеров регенерации нервной ткани
в остром и раннем периодах ТБ спинного мозга**

Показатели	Контроль, n = 40	Осложненная травма шейного отдела позвоночника, n = 40				
		Сроки наблюдения (сутки)				
		1–4	7	14	21	30
CNTF, пг/мл	4,78 (4,62; 4,87)	57,45 (42,32; 68,19) p≤0,001	11,58 (10,93; 12,33) p≤0,001 p ₁ ≤0,001	22,33 (19,89; 25,16) p≤0,001 p ₂ ≤0,001	14,60 (11,59; 16,11) p≤0,001 p ₃ ≤0,001	14,86 (14,04; 15,55) p≥0,05 p ₄ ≤0,001
NT-3, пг/мл	21,3 (17,49; 24,55)	84,43 (72,54; 90,90) p≤0,001	91,00 (78,09; 99,00) p≤0,001 p ₁ ≤0,01	97,53 (88,97; 102,41) p≤0,001 p ₂ ≤0,001	98,66 (90,76; 102,31) p≤0,001 p ₃ ≥0,05	97,79 (90,51; 101,91) p≤0,001 p ₄ ≥0,05
NT-4, пг/мл	27,20 (21,52; 36,77)	264,38 (228,99; 289,75) p≤0,001	267,10 (230,09; 287,98) p≤0,001 p ₁ ≥0,05	368,39 (319,14; 422,50) p≤0,001 p ₂ ≤0,001	139,08 (123,85; 167,35) p≤0,001 p ₃ ≤0,001	93,88 (87,69; 99,30) p≤0,001 p ₄ ≤0,001

Примечание: p — показатель достоверности по сравнению с контролем; p₁ — показатель достоверности по сравнению с 1–4-ми сутками; p₂ — показатель достоверности по сравнению с 7-ми сутками; p₃ — показатель достоверности по сравнению с 14-ми сутками; p₄ — показатель достоверности по сравнению с 21-ми сутками.

тонным повышением содержания NT-3 во все сроки наблюдения; двухфазным увеличением уровней NT-4 на 1–4-е и 14-е сутки с момента травмы.

Обсуждение. Методами твердофазного иммуноферментного анализа было установлено, что нейроны стремятся к потреблению факторов роста путем рецептор-опосредованного эндоцитоза и ретроградного транспорта. Являясь полифункциональными модуляторами и принадлежа к классу цитокинов, факторы роста нервной ткани осуществляют передачу сигналов между различными клетками нервной системы, обеспечивая свое трофическое влияние путем активации саногенетических механизмов восстановления нервной ткани после травмы, регенерации и мобилизации компенсаторных возможностей нейронов и глии. Эти механизмы обусловлены активацией прогениторных клеток, усилением метаболизма, пролиферации и дифференцировки развивающихся нейронов, сохранением зрелых нейронов и обеспечением их нормальной жизнедеятельности за счет активации макромолекулярного синтеза ДНК, РНК и белков клеток, а также регенерацией нейронов при повреждении [3, 4].

В доступной литературе приводятся разрозненные, а порой и противоречивые сведения об изменении содержания нейроспецифических белков в биологических субстратах при различной патологии центральной нервной системы. Полученные нами данные о количественных и хронометрических изменениях содержания нейроспецифических белков в сыворотке крови могут быть использованы для характеристики динамики нейрогенеза в поврежденном веществе спинного мозга в посттравматическом периоде [1, 2, 6].

По нашему мнению, двухфазное увеличение концентрации CNTF в сыворотке крови больных с повреждениями спинного мозга обусловлено различной потребностью нейронов в нейротрофической поддержке в процессе нейрогенеза. Так, по нашему мнению, увеличение уровня CNTF на 1–4-е сутки после травмы сопряжено с формированием первичного травматического очага в результате прямого механического воздействия на вещество спинного мозга, приводящего к значительным некротическим изменениям нервной ткани. Распространенный некроз нейронов в очаге повреждения спинного мозга

инициирует усиленный синтез сохранившимися нейронами и астроцитами CNTF, который на этом этапе посттравматического периода оказывает исключительно трофное воздействие, способствуя выживанию нейронов в окружающей травматический очаг зоне. Вторая фаза повышения содержания CNTF в сыворотке крови, вероятно, является ответом на активацию проапоптотических и аутоиммунных механизмов, наиболее выраженных в зоне «пенумбры» к 14-м суткам посттравматического периода. Полученные данные о динамике содержания CNTF в сыворотке крови соответствуют литературным [5, 7] о роли исследуемого показателя в реализации механизмов пато- и саногенеза травматической болезни спинного мозга.

Пиковое увеличение концентрации NT-3 в сыворотке крови пострадавших начиная уже с 1–4-х суток с момента травмы с последующим напряженным поддержанием высоких его концентраций во все сроки наблюдения, на наш взгляд, связано с диффузным распределением данного ростового фактора в сохранившихся нейронах и значительной его секрецией ими, что позволяет обеспечивать противовоспалительный эффект в зоне повреждения за счет подавления продукции оксида азота, угнетения активности синтетазы оксида азота и фактора некроза опухоли в клетках микроглии. Полученные сведения об изменениях концентраций NT-3 соответствуют результатам, полученным в отдельных работах [6, 8], посвященных изучению факторов роста нервной ткани при травме спинного мозга.

Последовательное увеличение содержания NT-4 в сыворотке крови больных представляется нам пропорциональным тяжести травматической болезни спинного мозга. Двухфазное увеличение на 1–4-е и 14-е сутки, вероятно, определяется усиленной дифференцировкой клеток-предшественников в нейроны в периоды максимальной потери функционального клеточного пула вследствие первичного и вторичного повреждения вещества спинного мозга. Полученные результаты соответствуют литературным сведениям [9, 10] о тропных влияниях NT-4 на нейроны.

Выводы:

1. Главным клеточным эффектом регенерации, развивающимся под влиянием секретируемых факторов роста нервной ткани, является нейропротек-

ция, направленная на повышение выживаемости нейронов, направление роста их аксонов и восстановление клеточной популяции глии.

2. Комплексное исследование уровня содержания нейроспецифических белков в сыворотке крови позволяет селективно оценивать отдельные компоненты процесса регенерации нервной ткани в остром и раннем периодах травматической болезни спинного мозга.

Конфликт интересов. Работа выполнена в рамках НИР ФГБУ «СарНИИТО» Минздрава России «Вертебрология. Разработка методов профилактики, диагностики, лечения травм и заболеваний позвоночника, спинного мозга, периферической нервной системы». Номер государственной регистрации 01201168616.

References (Литература)

1. Balaban PM, Gulyaeva NV. Alliance of neuroplastic and neuropathological molecular machinery: an integrated approach. *Rossiyskiy fiziologicheskiy jurnal im. I.M. Sechenova* 2006; 2: 145–152. Russian (Балабан П.М., Гуляева Н.В. Общность молекулярных механизмов нейропластичности и нейропатологии: интегративный подход. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2006; 2: 145–152.)
2. Grandi D, Suejin E. Spinal cord injury. M.: BINOM, 2008; 124 p. Russian (Гранди Д., Суэйн Э. Травма спинного мозга // пер. с англ. П.В. Дорошенко, Б.Л. Лихтермана, А.В. Рылова под ред. И.Н. Шевелева. М.: БИНОМ, 2008; 124 с.)
3. Georgieva SA, Babichenko NE, Puchinian DM. Homeostasis, traumatic disease of cerebrum and spinal cord. Saratov: Saratov University Publishing House, 1993; 224 p. Russian (Георгиева С.А., Бабиченко Н.Е., Пучиньян Д.М. Гомеостаз, травматическая болезнь головного и спинного мозга. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 1993; 224 с.)
4. Kryzhanovsky GN. Principles of general pathophysiology. M.: MIA, 2011; 256 p. Russian (Крыжановский Г.Н. Основы общей патофизиологии. М.: МИА, 2011; 256 с.)
5. Bähr M. Neuroprotection: model, mechanisms and therapies. M.: BINOM. Laboratoriya znaniy, 2011; 429 p. Russian (Бэр М. Нейропротекция: модели, механизмы, терапия / под ред. М. Бэра; пер. с англ. под ред. В.П. Зыкова, П.Р. Камчатного. М.: БИНОМ; Лаборатория знаний, 2011; 429 с.)
6. Borshchenko IA. Potentials and realia of spinal cord functional recovery: fundamental studies achievements. In: First founders' research and practice conference of transregional community-based medical organization "Spinnoy mozg": sourcebook. M., 2002; p. 11–13. Russian (Борщенко И.А. Возможности и реалии восстановления функции спинного мозга. достижения фундаментальных исследований. В сб.: Первая учредит. науч.-практ. конф. межрегион. обществ. мед. организации «Спинной мозг»: сб. материалов. М., 2002; с. 11–13.)
7. Odinak MM, Tsygan NV. Growth factors of neural tissue in central nervous system. St. Petersburg: Nauka, 2005; 157 p. Russian (Одинак М.М., Цыган Н.В. Факторы роста нервной ткани в центральной нервной системе. СПб.: Наука, 2005; 157 с.)
8. Lu P, Jones LL, Snyder EY. Neural stem cells constitutively secrete neurotrophic factors and promote extensive host axonal growth after spinal cord injury. *Exper Neurol* 2003; 2: 115–129.
9. Gomazkov OA. Neurotrophines: therapeutic potential and "minipeptide" conception. *Neurokhimiya* 2012; 3: 189. Russian (Гомазков О.А. Нейротрофины: терапевтический потенциал и концепция «минипептидов». *Нейрохимия* 2012; 3: 189.)
10. McDonald JW, Stefovskaya VG, Liu XZ. Neurotrophin potentiation of iron-induced spinal cord injury. *Neuroscience* 2002; 3: 931–939.