

БЕЛОК S100B КАК БИОЛОГИЧЕСКИЙ МАРКЕР ПОВРЕЖДЕНИЯ НЕРВНОЙ ТКАНИ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Вавилова В. А., Фаустова Н. М., Пелешок А. А., Крышень К. Л.,
Макарова М. Н., Макаров В. Г.

Акционерное общество «Научно-производственное объединение
“Дом Фармации”», г. п. Кузьмоловский, Ленинградская область,
Россия

Контактная информация:

Вавилова Валерия Александровна,
АО «НПО «Дом Фармации»,
Заводская ул., д. 3, корп. 245,
г. п. Кузьмоловский, Ленинградская
область, Россия, 188663.
E-mail: vavilova.va@doclinika.ru

Статья поступила в редакцию 09.04.2024
и принята к печати 31.07.2024.

Резюме

Актуальность. Для доклинических исследований лекарственных средств актуальной задачей является выбор специфических биохимических маркеров, отражающих повреждения центральной нервной системы в токсикологических и фармакологических экспериментах. Одним из таких маркеров может являться белок S100b, уровень которого позволит оценивать повреждение центральной нервной системы различного генеза. **Цель.** Целью исследования являлась оценка изменения уровня белка S100b в крови крыс и мышей, в гомогенатах головного мозга мышей при повреждениях тканей мозга различного генеза. **Материалы и методы.** Исследование проводилось на самцах аутбредных крыс и мышей. Суммарно было использовано 62 животных: 47 крыс и 15 мышей. Для определения концентрации белка S100b методом иммуноферментного анализа использовали наборы Lifespan Biosciences (США): Rat S100b/S100 beta Elisa kit (Sandwich Elisa) — для крыс и Mouse S100b/S100 beta Elisa kit (Sandwich Elisa) — для мышей. Статистический анализ выполняли с помощью лицензированного программного обеспечения GraphPad Prism 9. **Результаты.** Изменения концентрации белка S100b изучали на моделях алкогольной нейропатии, билатеральной и фокальной церебральной ишемии, черепно-мозговой травмы. Формирование всех патологий приводило к повышению концентрации белка S100b как в плазме крови, так и в тканях головного мозга (при черепно-мозговой травме). Для алкогольной нейропатии, фокальной церебральной ишемии и черепно-мозговой травмы изменения уровня этого маркера достигали статистической значимости. **Заключение.** Повышение концентрации S100b является признаком повреждения нейронов в результате воздействия ишемических, травматических и токсических факторов, а также при гипогликемических состояниях. Таким образом, белок S100b может применяться в доклинических исследованиях в качестве маркера повреждения головного мозга, реагирующего на повреждения различного генеза в исследованиях фармакодинамики и фармакологической безопасности лекарственных препаратов.

Ключевые слова: алкогольная нейропатия, билатеральная ишемия, крысы, мыши, черепно-мозговая травма, S100b.

Для цитирования: Вавилова В.А., Фаустова Н.М., Пелешок А.А. и др. Белок S100b как биологический маркер повреждения нервной ткани у лабораторных животных в доклинических исследованиях. Трансляционная медицина. 2024; 11(4): 342-350. DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-4-342-350. EDN: GQPGRI

S100B PROTEIN AS A BIOLOGICAL MARKER OF NERVE TISSUE DAMAGE IN LABORATORY ANIMALS IN PRECLINICAL STUDIES

Valeriya A. Vavilova, Natalia M. Faustova, Andrei A. Peleshok, Kirill L. Kryshen', Marina N. Makarova, Valery G. Makarov

Research and manufacturing company "Home of Pharmacy", Kuzmolovsky settlement, Leningrad Region, Russia

Corresponding author:

Valeria A. Vavilova, Research and manufacturing company "Home of Pharmacy", Zavodskaya str., 3, building 245, Kuzmolovsky settlement, Leningrad region, Russia, 188663. E-mail: vavilova.va@doclinika.ru

Received 09 April 2024; accepted 31 July 2024.

Abstract

Background. For preclinical studies of drugs a relevant task is the selection of specific biochemical markers reflecting damage to the central nervous system, both in toxicological and pharmacological experiments. One of such markers may be protein S100b, the level of which will make it possible to assess the damage of the central nervous system of various genesis. **Objective.** The aim of the study was to assess changes in the level of S100b protein in the blood and in brain homogenates in brain tissue injuries of various genesis. **Design and methods.** The study was conducted on males of outbred rats and mice. A total of 62 animals were used: 47 rats and 15 mice. To determine the concentration of S100b protein, ELISA kits Rat S100b/S100 beta Elisa kit (Sandwich Elisa) were used) for rats and Mouse S100b/S100 beta Elisa kit (Sandwich Elisa) for mice. Statistical analysis was performed using licensed GraphPad Prism 9 software. **Results:** Changes of protein S100B was explored on models of alcohol neuropathy, bilateral and focal cerebral ischemia, traumatic brain injury. Forming of all pathologies led to increasing of protein S100B both in blood plasma and in brain tissues in case of traumatic brain injury. For alcohol neuropathy, focal and cerebral ischemia and traumatic brain injury changings of this marker level reached statistic meaning. **Conclusion.** Increased concentration of S100b is a sign of neuronal damage as a result of ischemic, traumatic and toxic factors, as well as in hypoglycemic conditions. Thus, protein S100b can be used in preclinical studies as a marker of brain damage, responding to damage of various genesis in studies of pharmacodynamics and pharmacological safety of drugs.

Key words: alcoholic neuropathy, bilateral ischemia, cranio-cerebral trauma, mice, protein S100b, rats.

For citation: Vavilova VA, Faustova NM, Peleshok AA, et al. S100b protein as a biological marker of nerve tissue damage in laboratory animals in preclinical studies. Translational Medicine. 2024; 11(4): 342-350. (In Rus.) DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-4-342-350. EDN: GQPGRI

Список сокращений: ДКИ — доклинические исследования, ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения, ЦНС — центральная нервная система, ЧМТ — черепно-мозговая травма.

Введение

Белки семейства S100 — это группа интрацеллюлярных кальций-связывающих белков, которые представляют собой гомодимеры массой

10–12 кДа. Белки этой группы обладают высокой тканеспецифичностью: их уровень значительно колеблется в различных отделах головного мозга, однако содержание в отдельно взятых структурах обычно постоянно. Например, наиболее высокая концентрация S100 в норме определяется в мозжечке. Фракции S100 обладают способностью связывать ионы кальция, однако имеют различия в числе кальций-связывающих центров (их ко-

личество варьирует от 2 до 8). S100 экспрессируются преимущественно астроцитами, олигодендроцитами и шванновскими клетками. Точный механизм секреции изучен недостаточно, однако, по экспериментальным данным, в культивированных астроцитах крыс высвобождение S100 может быть связано с изменением внутриклеточной концентрации кальция [1–4].

В литературе описаны различные функции белка S100b: 1) передача сигналов, контролирующая активность ферментов, регуляцию клеточного цикла; 2) поддержание кальциевого гомеостаза; 3) транскрипция, пролиферация, дифференцировка клеток (участие в росте нейритов, ингибирование сборки микротрубочек) и др. [4–7].

Одной из особенностей белка S100b является то, что его функциональное значение зависит от его концентрации во внеклеточном матриксе: в наномолярных концентрациях, считающихся физиологическими; он выполняет адаптационно-трофическую функцию, стимулирует пролиферацию астроцитов, подавляет реакцию астроцитов и микроглии на нейротоксические воздействия [8], в микромолярных концентрациях — стимулирует апоптоз клеток, синтез провоспалительных цитокинов, взаимодействуя с RAGE-рецепторами нейронов, микроглии, астроцитов и клеток сосудистой стенки [9].

В клинической практике белок S100b является одним из специфичных маркеров нарушения мозгового кровообращения, в том числе деструктивно-воспалительных процессов, перинатальной

патологии центральной нервной системы [10–13]. У человека концентрация белка S100b в крови повышается в процессе развития геморрагического или ишемического инсульта в прямой зависимости от величины очага поражения головного мозга. Нарастание уровня белка S100b имеет корреляцию с тяжестью клинической картины при острых и хронических нарушениях мозгового кровообращения, в том числе травматического происхождения. Таким образом, измерение белка S100b у больных с инсультом (ОНМК) позволяет давать оценку тяжести, а также спрогнозировать дальнейшее течение, исход заболевания [4, 10–13]. Авторы работы [12] отмечают, что определение концентрации S100b в крови имеет ограниченную прогностическую ценность при нейротравме, при этом концентрация этого белка в спинномозговой жидкости очень чувствительна к малейшим воздействиям, а высокие уровни в плазме крови белка S100b, свыше 0,7 нг/мл, коррелируют со 100 % летальностью у пациентов.

В ряде статей отмечается, что повышение уровня S100b не всегда коррелирует с тяжестью повреждения головного мозга, например, не было выявлено взаимосвязи между уровнем S100b в сыворотке крови добровольцев и наличием диабетической периферической нейропатии [14].

Следует отметить, что при изучении токсичности лекарственных средств необходимо оценить не только существенные, необратимые нарушения в организме животных, но и функциональные нарушения, приводящие к отдаленным последствиям.

Таблица 1. Количество животных по группам

Table 1. Number of animals by groups

Вид патологии	Вид животных	Количество животных, n	
		Интактные животные	Животные с патологией*
Алкогольная нейропатия	Крысы	8	7
Билатеральная, перманентная, церебральная ишемия		8	7
Фокальная церебральная ишемия		8	9**
Черепно-мозговая травма	Мыши	8	7

Примечания: * — количество животных со сформировавшейся патологией на 2-й день эксперимента; ** — число животных было увеличено в связи с вероятной гибелью на этапе индукции патологии.

Note: * — number of animals with developed pathology on the second day of the experiment; ** — number of animals was increased due to the probable death at the stage of pathology induction.

Целью исследования являлась оценка изменения уровня белка S100b в крови и в гомогенатах головного мозга при повреждениях тканей мозга различного генеза: экспериментальном модели-

ровании ишемии головного мозга (билатеральная и фокальная церебральная ишемия), алкогольной нейропатии у крыс, а также черепно-мозговой травме у мышей.

Таблица 2. Условия моделирования патологий

Table 2. Conditions for the simulation of pathologies

Вид патологии	Условия моделирования патологии
1. Алкогольная нейропатия	Форсированное потребление раствора этанола в нарастающих концентрациях в течение 56 дней [15]. Последовательно повышали концентрацию этанола каждую неделю: 9 % (v/v), 15 % (v/v), 20 % (v/v), 25 % (v/v), 30 % (v/v). Затем животные получали этанол в концентрации 30 % (v/v) в течение 56 дней, при этом доступ к воде был ограничен. Доступ к корму не ограничивали. Доступ к питьевой воде предоставляли животным ежедневно на 2 часа. Интактные животные получали только питьевую воду, без ограничений. Для оценки количества потребленного алкоголя еженедельно взвешивали животных и поилки.
2. Черепно-мозговая травма (ЧМТ)	Метод свободного падения груза на лобно-теменную часть головы мышей [16]. Воздействие осуществлялось с помощью груза массой 305 г, с диаметром конечной точки 3 мм, высота падения — 2,1 см. (Анестезия — ингаляционный наркоз препаратом Фторотан (МНН: галотан), «Пирамал Энтерпрайзис Лимитед», Индия). Сформировано травматическое повреждение средней степени выраженности без летального исхода [17, 18]. Через 1 час после формирования патологии оценивали у мышей неврологический статус.
Билатеральная перманентная церебральная ишемия*	Окклюзия общих сонных артерий с обеих сторон [19, 20]. Схема операции: Срединный разрез кожи по линии проекции трахеи → → разобщение мышц, выделение общих сонных артерий (СА) → наложение лигатуры → прекращение кровоснабжения головного мозга через СА
3. Фокальная церебральная ишемия*	Окклюзия средней мозговой артерии [21, 22]. Схема операции: Срединный разрез кожи по линии проекции трахеи → → разобщение мышц, выделение левой общей СА и ее ветвей — наружную и внутреннюю сонные артерии → наложение временной лигатуры на общую СА → наложение двух лигатур дистальнее от бифуркации на наружную сонную артерию, между которыми производится разрез → введение филамента (нейлоновая нить размером 4–0) во внутреннюю СА на расстояние около 24 мм от бифуркации общей сонной артерии и до начала ответвления средней мозговой артерии → блокирование основания средней мозговой артерии → фиксация филамента к наружной СА, лигирование участка наружной СА → восстановление кровоснабжения в общей СА

Примечание: * — при формировании патологий № 3 и № 4 для общей анестезии животным внутримышечно вводили смесь препаратов Zoletil 100 (Virbac Sante Animale, Франция) и Xila (Interchemie werken «De Adelaar» B.V, Нидерланды) в дозе 2,6 мг/кг.

Note: * — during the formation of pathologies No 3 and No 4 for general anesthesia, animals were intramuscularly injected with a mixture of Zoletil 100 (Virbac Sante Animale, France) and Xila (Interchemie werken “De Adelaar” B.V, Netherlands) in dose of 2,6 mg/kg.

В статье обобщен собственный опыт использования белка S100b как дополнительного маркера повреждения центральной нервной системы (ЦНС) при моделировании патологий ЦНС для изучения фармакологического действия кандидатов в лекарственные средства.

Материалы и методы

Исследования были проведены на самцах аутбредных крыс и мышей (питомник НПО «Дом Фармации», Россия) в период с сентября 2018 года по декабрь 2020 года. В исследовательских работах было использовано суммарно 62 животных: 47 крыс и 15 мышей.

Все проведенные научно-исследовательские работы были рассмотрены и одобрены для проведения биоэтической комиссией НПО «Дом Фармации». Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях и в соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами СП 2.2.1.3218-14.

В таблице 2 представлено описание условий формирования патологии на грызунах.

Определение белка S100b в биоматериале животных

Для определения концентрации белка S100b использовали наборы производителя LifeSpan BioSciences (США) в биоматериале крыс использовали ИФА-наборы Rat S100b/S100 beta Elisa kit (Sandwich Elisa) № LS-F5980 (аналитический диапазон методики — 3,125–200 пг/мл) и № LS-F23898 (15,53–1000 пг/мл), в биоматериале мышей — Mouse S100b/S100 beta Elisa kit (Sandwich Elisa), № LS-F5980 (31,25–2000 пг/мл).

Во всех экспериментах на второй день после формирования патологии у крыс было отобрано 0,7 мл крови из хвостовой вены в пробирку с 7 мкл раствора гепарина натрия (5000 МЕ/мл). У мышей кровь была забрана посмертно из полостей сердца в объеме 0,5 мл в пробирку с 5 мкл раствора гепарина натрия (5000 МЕ/мл).

Для получения плазмы пробирку с кровью центрифугировали при 1000g в течение 15 минут при температуре +2–+8 °C.

Для получения гомогенатов мозга использовали лизирующий буферный раствор Ripa Buffer (10X) (Cell Signaling Technology, США), № 9806S.

Головной мозг мышей гомогенизировали в лизирующем буферном растворе (1X) в соотношении 1:4. Ткани мозга гомогенизировали с помощью измельчителя тканей Polytron PT 1600E System

(Kinematica, Швейцария) при охлаждении, помещая пробирку в емкость со льдом, затем гомогенаты обрабатывали в течение 15 минут в ультразвуковой ванне. Гомогенаты центрифугировали при 10000g в течение 10 минут. Супернатанты перед анализом мозга разбавляли в 100000 раз в 0,01M фосфатно-солевом буферном растворе.

Оптическую плотность растворов измеряли на многофункциональном микропланшетном анализаторе CLARIOstar (BMG Labtech, Германия) в двухволновом режиме при 450 нм (основная длина волны) и 650 нм (референсная длина волны). Расчет концентрации белка S100b выполняли с помощью линейной модели обработки данных.

Статистический анализ выполняли с помощью лицензированного программного обеспечения GraphPad Prism версии 9 (GraphPad, США). Данные представлены как $M \pm SEM$, где M — среднее арифметическое, SEM — стандартная ошибка среднего. Для сравнительной оценки уровня белка S100b в норме и при патологии использовали t -критерий Стьюдента для независимых переменных. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

В таблице 3 приведены результаты определения уровня белка S100b в плазме крови крыс и мышей и гомогенатах головного мозга мышей при различных патологиях.

В ходе исследований были получены сопоставимые уровни белка S100b в плазме крови для интактных мышей и крыс. Для концентраций исследуемого белка в плазме крови интактных крыс, полученных в ходе экспериментов, характерна значительная вариабельность данных от 29 до 78 пг/мл. Высокая межиндивидуальная вариабельность данных может быть обусловлена сезонными изменениями концентрации S100b в плазме крови, а также отличиями фоновой экспрессии белка S100b не только в центральной нервной системе, но и в других органах и тканях (коже, жировой ткани, почках и др.) [6].

При моделировании алкогольной нейропатии и фокальной церебральной ишемии у крыс наблюдалось статистически значимое повышение, более чем в 2 раза, уровня белка S100b.

Для группы крыс с индуцированной билатеральной перманентной церебральной ишемией увеличение концентрации S100b в плазме крови на 2-й день формирования патологии в среднем в 1,7 раза было наименее выраженным и не имело статистической значимости. При изучении данного вида патологии у крыс была также забрана

кровь на 22-й день после ее формирования (рис. 3). Необходимо отметить, что в течение 20 дней изучаемый показатель для обеих групп животных оставался стабильным: концентрация S100b в интактной группе составила в среднем 65–79 пг/мл, в группе животных с патологией — 102–158 пг/мл.

В исследовании [23] выявлено статистически значимое увеличение уровня белка S100b при ишемически-реперфузионном повреждении головного мозга крыс, уровень S100b в сыворотке крови коррелирует с тяжестью церебральной ишемии с реперфузией.

Для моделирования повреждений ЦНС травматического характера использовали другой вид лабораторных животных — мышей. При моделировании черепно-мозговой травмы (ЧМТ) у мышей динамика содержания S100b в плазме крови и гомогенатах головного мозга была одинаковой и ожидаемо более выраженной по сравнению с другими видами патологий. Так, количество белка S100b при ЧМТ увеличилось в плазме крови в 4,3 раза, в гомогенатах мозга — в 3,6 раза. Аналогичные результаты при использовании мышей были получены в работе [11].

По данным ранее проведенного исследования [24], при развитии гипогликемии у крыс концентрация белка S100b также увеличивается не только

в крови (в среднем в 3 раза), но и в головном мозге в зоне CA1 гиппокампа, что указывает, по мнению авторов [24], «на развитие индуцированных гипогликемическим состоянием нейротоксических процессов в данной структуре».

Изучаемый белок S100b в физиологических (нанолярных) концентрациях S100b выполняет защитную функцию в нейронах [7]. Значительное повышение его уровня рассматривается как признак поражения нейрональных структур.

Необходимо отметить, что белки S100b, кроме вышеперечисленных функций, регулируют клеточный цикл и апоптоз [7] и могут участвовать в процессе онкогенеза. В клинической практике белок S100b как наиболее изученный биомаркер меланомы применяют для оценки развития патологии и эффективности терапии. Концентрация этого белка находится в пределах нормы у здоровых лиц и людей с доброкачественными новообразованиями кожи, но повышается на II стадии развития заболевания и выше (III, IV). Данный факт не противоречит идее использовать S100b как маркер нарушений функционального состояния головного мозга в ходе доклинических исследований (ДКИ), поскольку для такого рода исследований в экспе-

Таблица 3. Концентрация белка S100b в плазме крови и гомогенатах головного мозга у крыс и мышей, M±SEM

Table 3. The concentration of S100b protein in blood plasma and brain homogenates in rats and mice, M±SEM

Вид патологии	Вид животных	Концентрация белка S100b	Интактные животные
		Вид биоматериала, единицы измерения	
Алкогольная нейропатия	Крысы	Плазма крови, пг/мл	29 ± 5 n = 8
Билатеральная, перманентная, церебральная ишемия			78 ± 14 n = 8
Фокальная церебральная ишемия			49 ± 9 n = 8
Черепно-мозговая травма	Мыши	Плазма крови, пг/мл	94 ± 9 n = 8
		Мозг, мкг/г	112 ± 6 n = 8

Примечание: * — отличия статистически значимы в сравнении с интактными животными, t-тест Стьюдента при $p < 0,05$.

Note: * — The differences are statistically significant in comparison with intact animals, Student's t-test at $p < 0.05$.

римент отбирают клинически здоровых животных и повышение уровня этого белка в крови можно ожидать в первую очередь при нарушениях со стороны ЦНС. Статистически значимое повышение концентрации этого белка, не менее чем в 1,5 раза, можно рассматривать как причину дополнительного изучения влияния лекарственных средств на головной мозг не только в ходе ДКИ, но и затем в клинических исследованиях.

В обзорах [25, 26] отмечается, что уровни изучаемого белка в биологических жидкостях являются биомаркером активного нервного дистресса. Несмотря на то, что широкий спектр заболеваний, в которых участвует белок, снижает его специфичность, его уровни остаются важным показателем в отслеживании тенденции заболеваний, связанных с поражением ЦНС.

Таким образом, белок S100b можно рассматривать как неспецифический маркер повреждения головного мозга, реагирующий на механические, гипоксические, ишемические, биохимические и другие нейротоксические факторы, и рекомендовать его применение на различных этапах доклинических исследований лекарственных препаратов.

Необходимо отметить, что для белка S100b в настоящее время не установлены общепринятые референтные значения, как для человека, так и лабораторных животных. Например, в работе Pham и соавторов (2010) [27], уровень белка S100b составил 0,08 нг/мл, тогда как в работе Morera-Fumero и коллег (2013) [28] концентрация аналита состав-

ляла в среднем 35 нг/мл, а также была продемонстрирована зависимость уровня белка от времени года (зима/лето). Высокая вариабельность данных характерна и для животных [29, 30].

Учитывая вышесказанное, определение концентрации S100b в сыворотке крови можно использовать для оценки патологических процессов в ЦНС как на этапе доклинических исследований у животных, так и у человека в клинической практике.

В связи с вышеизложенным, в отсутствие общепринятых референтных значений в экспериментальной работе, необходимо ориентироваться в первую очередь на относительную разницу в концентрациях «до патологии» и «после», а также рекомендовать формирование собственных внутрилабораторных норм.

Заключение

Концентрация белка S100b увеличивалась при формировании всех рассматриваемых видов патологий, что может быть диагностическим признаком повреждения нейронов, сопровождающегося нарушением проницаемости гематоэнцефалического барьера при ишемических, травматических повреждениях, а также при гипогликемических состояниях и токсических повреждениях.

Таким образом, белок S100b может быть использован в доклинических исследованиях как маркер патологии центральной нервной системы, реагирующий на повреждения тканей головного мозга различного генеза в исследованиях фармако-

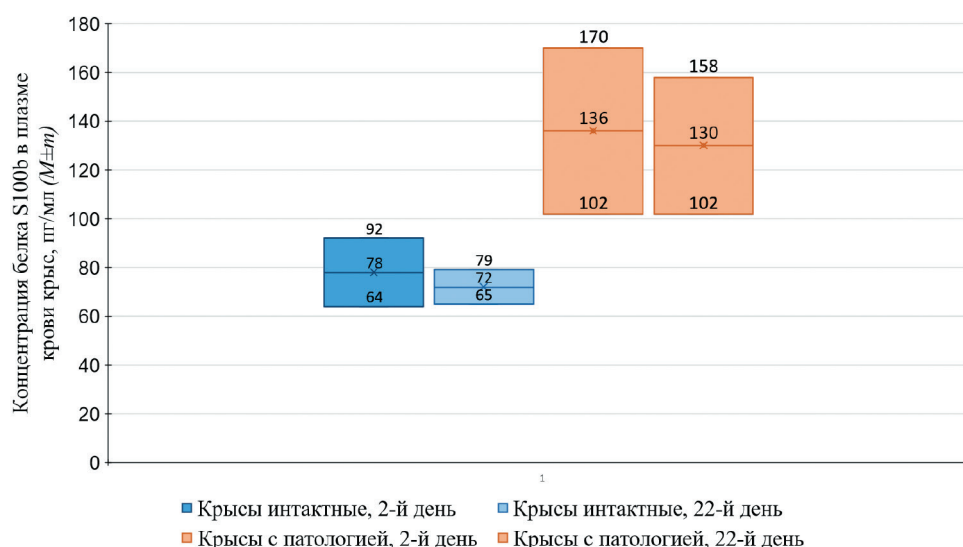


Рис. 1. Изменение концентрации белка S100b в плазме крови (пг/мл) при формировании билатеральной перманентной церебральной ишемии на 2-й и 22-й дни формирования патологии

Figure 1. Changes in the concentration of S100b protein in blood plasma (pg/ml) during the formation of bilateral permanent cerebral ischemia on the 2nd and 22nd days of pathology formation

динамики и фармакологической безопасности лекарственных препаратов в отношении центральной нервной системы.

При оценке результатов исследований рекомендуется, в отсутствие собственных внутрилабораторных норм, ориентироваться в первую очередь на относительную разницу в концентрациях «до патологии» и «после».

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциально-го конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Arrais AC, et al. S100B protein: general characteristics and pathophysiological implications in the Central Nervous System //International Journal of Neuroscience. 2022;132:313–321. DOI: 10.1080/00207454.2020.1807979
2. Gonzalez LL, Garrie K, Turner MD. Role of S100 proteins in health and disease //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research. 2020; 1867(6):118677. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2020.118677
3. Marenholz I, Heizmann CW, Fritz G. S100 proteins in mouse and man: from evolution to function and pathology (including an update of the nomenclature) //Biochemical and biophysical research communications. 2004; 322(4):1111–1122. DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.07.096
4. Shaitanova TYu, Siskin VA, Nedashkovsky EV. Practical application of S-100b protein in acute cerebrovascular disease. Messenger of anesthesiology and resuscitation. 2014;2:63–71. In Russian [Шайтанова Т.Ю., Саскин В.А., Недашковский Э.В. Практическое применение белка S-100B при острой цереброваскулярной патологии. Вестник анестезиологии и реаниматологии. 2014; 2:63–71].
5. Lue LF, Yan SD, Stern DM, et al. Preventing activation of receptor for advanced glycation endproducts in Alzheimer's disease. Curr Drug Targets CNS Neurol Disord. 2005;4(3):249–266. DOI: 10.2174/1568007054038210.
6. Beloborodova NV, Dmitriyeva IB, Chernevskaya EA. Diagnostic Value of S100B Protein in Critical Conditions. General Reanimatology. 2011;7(6):72–76. In Russian [Белобородова Н.В., Дмитриева И.Б., Черневская Е.А. Диагностическая значимость белка s100b при критических состояниях. Общая реаниматология. 2011;7(6):72–76]. DOI: 10.15360/1813-9779-2011-6-72.
7. Donato R, Sorci G, Riuzzi F, et al. S100B's double life: intracellular regulator and extracellular signal. Biochim Biophys Acta. 2009;1793(6):1008–1022. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2008.11.009.
8. Heizmann CW. The multifunctional S100 protein family. Methods Mol Biol. 2002;172:69–80. DOI: 10.1385/1-59259-183-3:069.
9. Trailin AV, Levada OA. S100B-protein: Neurobiology, significance in neurological and psychiatric pathology. International Journal of Neurology. 2009; 1:166–175. In Russian [Траилин А.В., Левада О.А. Белок S100B: нейробиология, значение при неврологической и психиатрической патологии. Международный неврологический журнал. 2009; (1):166–175].
10. Wang KK, Yang Z, Zhu T, et al. An update on diagnostic and prognostic biomarkers for traumatic brain injury. Expert Rev Mol Diagn. 2018; 18(2):165–180. DOI: 10.1080/14737159.2018.1428089.
11. Sandhir R, Onyszchuk G, Berman NE. Exacerbated glial response in the aged mouse hippocampus following controlled cortical impact injury. Exp Neurol. 2008; 213(2):372–380. DOI: 10.1016/j.expneurol.2008.06.013.
12. Kellermann I, Kleindienst A, Hore N, et al. Early CSF and Serum S100B Concentrations for Outcome Prediction in Traumatic Brain Injury and Subarachnoid Hemorrhage. Clin Neurol Neurosurg. 2016;145:79–83. DOI: 10.1016/j.clineuro.2016.04.005.
13. Di Battista AP, Buonora JE, Rhind SG, et al. Blood Biomarkers in Moderate-To-Severe Traumatic Brain Injury: Potential Utility of a Multi-Marker Approach in Characterizing Outcome. Front Neurol. 2015;6:110. DOI:10.3389/fneur.2015.00110.
14. Celikbilek A, Akyol L, Sabah S, et al. S100B as a glial cell marker in diabetic peripheral neuropathy. Neuroscience letters. 2014;558:53–57. DOI: 10.1016/j.neulet.2013.10.067.
15. Kashkin VA. Analgesic effect of cardiotonic steroids against the background of alcoholic neuropathy in the rat. Integrative Physiology. 2020; 1(2):133–139. In Russian [Кашкин В.А. Анальгетический эффект кардиотонических стероидов на фоне алкогольной нейропатии у крыс. Интегративная физиология. 2020;1(2):133–139]. DOI: 10.33910/2687-1270-2020-1-2-133-139.
16. Chen Y, Constantini S, Trembovler V, et al. An experimental model of closed head injury in mice: pathophysiology, histopathology, and cognitive deficits. J Neurotrauma. 1996; 13(10):557–568. DOI: 10.1089/neu.1996.13.557.
17. Flierl MA, Stahel PF, Beauchamp KM, et al. Mouse closed head injury model induced by a weight-drop device. Nat Protoc. 2009;4(9):1328–1337. DOI:10.1038/nprot.2009.148.
18. Tsenter J, Beni-Adani L, Assaf Y, et al. Dynamic changes in the recovery after traumatic brain injury in mice: effect of injury severity on T2-weighted MRI abnormalities, and motor and cognitive functions. J Neurotrauma. 2008;25(4):324–333. DOI:10.1089/neu.2007.0452.
19. Aski ML, Rezvani ME, Khaksari M, et al. Neuroprotective effect of berberine chloride on cognitive impairment and hippocampal damage in experimental model of vascular dementia. Iran J Basic Med Sci. 2018; 21(1):53–58. DOI: 10.22038/IJBMS.2017.23195.5865.

20. Cechetti F, Worm PV, Pereira LO, et al. The modified 2VO ischemia protocol causes cognitive impairment similar to that induced by the standard method, but with a better survival rate. *Braz J Med Biol Res.* 2010;43(12):1178–1183. DOI: 10.1590/s0100-879x2010007500124.

21. Koizumi J, Yoshida Y, Nakazawa T, et al. Experimental studies of ischemic brain edema. 1. A new experimental model of cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area. *Jpn J Stroke.* 1986; 85:1–8. DOI: 10.3995/jstroke.8.1.

22. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke.* 1989;20(1):84–91. DOI: 10.1161/01.str.20.1.84.

23. Dimopoulos C, Damaskos C, Papadakis M, et al. Expression of S100B protein in ischemia/reperfusion-induced brain injury after cyclosporine therapy: a biochemical serum marker with prognostic value? *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research.* 2019;(25): 1637. DOI: 10.12659/MSM.912810.

24. Mazukina EV, Shekunova EV, Kashkin VA, et al. Recurrent hypoglycemia affects S100b plasma concentration and S100b hippocampal expression in rats. *Laboratory animals for science.* 2019;(1):95–107. In Russian [Мазукина Е.В., Шекунова Е.В., Кашкин В.А. и др. Влияние умеренной гипогликемии на уровень белка S100b в крови и гиппокампе крыс. Лабораторные животные для научных исследований. 2019;(1):95–107]. DOI: 10.29296/2618723X-2019-01-07.

25. Michetti F, D'Ambrosi N, Toesca A, et al. The S100B story: from biomarker to active factor in neural injury. *J Neurochem.* 2019;148(2):168–187. DOI: 10.1111/jnc.14574.

26. Michetti F, Clementi ME, Di Liddo R, et al. The S100B Protein: A Multifaceted Pathogenic Factor More Than a Biomarker. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(11):9605. DOI: 10.3390/ijms24119605.

27. Pham N, Fazio V, Cucullo L, et al. Extracranial sources of S100B do not affect serum levels [published correction appears in *PLoS One.* 2010;5(10). DOI: 10.1371/annotation/bdcb41f2-a320-4401-a6ab-86e71738597e]. *PLoS One.* 2010;5(9):e12691. DOI: 10.1371/journal.pone.0012691

28. Morera-Fumero AL, Abreu-Gonzalez P, Henry-Benitez M, et al. Summer/winter changes in serum S100B protein concentration as a source of research variance. *J Psychiatr Res.* 2013;47(6):791–795. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2013.03.001.

29. Kural A, Tekin Neijmann S, Toker A, et al. Evaluation of rat major cellular prion protein for early diagnosis in experimental rat brain trauma model. *Turkish Journal of Trauma and Emergency Surgery.* 2020;26(1):1–8. DOI: 10.5505/tjtes.2018.46923.

30. Netto CB, Conte S, Leite MC, et al. Serum S100B protein is increased in fasting rats. *Arch Med Res.* 2006;37(5):683–686. DOI: 10.1016/j.arcmed.2005.11.005.

Информация об авторах:

Вавилова Валерия Александровна, руководитель группы токсикологии, отдел специфической токсикологии и микробиологии, АО «НПО «Дом Фармации»;

Фаустова Наталья Михайловна, к.х.н., руководитель лаборатории иммуноферментного анализа, АО «НПО «Дом Фармации»;

Пелешок Андрей Андреевич, стажер-исследователь, отдел молекулярной фармакологии, АО «НПО «Дом Фармации»;

Крышень Кирилл Леонидович, к.б.н., руководитель отдела специфической токсикологии и микробиологии, АО «НПО «Дом Фармации»;

Макарова Марина Николаевна, д.м.н., директор АО «НПО «Дом Фармации»;

Макаров Валерий Геннадьевич, д.м.н., научный руководитель АО «НПО «Дом Фармации».

Authors information:

Valeriya A. Vavilova, Head of the Toxicology Group, Department of Specific Toxicology and Microbiology, RMC “Home of Pharmacy”;

Natalia M. Faustova, PhD, Head of the Laboratory of enzyme Immunoassay, RMC “Home of Pharmacy”;

Andrei A. Peleshok, research intern, Department of Molecular Pharmacology, RMC “Home of Pharmacy”;

Kirill L. Kryshen', PhD, Head of the Department of Specific Toxicology and Microbiology, RMC “Home of Pharmacy”;

Marina N. Makarova, MD, Director of RMC “Home of Pharmacy”;

Valery G. Makarov, MD, Scientific director of RMC “Home of Pharmacy”.