

© О.Н. Сумливая, Н.Н. Воробьева, Ю.В. Каракулова

ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия
им. ак. Е.А. Вагнера Минздравсоцразвития России

г. Пермь, Россия

ОЦЕНКА ИНФОРМАТИВНОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕЙРОНСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЕНОЛАЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ЛИКВОРЕ У БОЛЬНЫХ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

Аннотация. В работе проведена оценка информативности изменений уровня нейронспецифической енолазы (НСЕ) в сыворотке крови и ликворе пациентов с разными клиническими формами клещевого энцефалита (КЭ). Обследовано 36 больных в остром периоде заболевания. Величину НСЕ определяли твердофазным методом иммуноферментного анализа. Установлена зависимость изменения ее концентрации от тяжести воспалительного процесса в центральной нервной системе. Результаты проведенных исследований показали, что определение уровня НСЕ в сыворотке крови и ликворе следует включать в план обследования больных в остром периоде КЭ с целью раннего прогнозирования тяжелых очаговых форм инфекции.

Ключевые слова: клещевой энцефалит, нейронспецифическая енолаза, сыворотка крови, ликвор.

© O. Sumlivaya, N. Vorob'eva, Yu. Karakulova

Perm State Medical Academy named after ac. E.A. Wagner

Perm, Russia

EVALUATION OF NEURONSPECIFIC ENOLASE DETECTION INFORMATIVENESS IN THE SERUM AND CEREBROSPINAL FLUID OF PATIENTS WITH TICK-BORNE ENCEPHALITIS IN THE ACUTE PERIOD

Abstract. The evaluation of neuronspecific enolase (NSE) level changes informativeness in serum and cerebrospinal fluid of patients with different forms of tick-borne encephalitis (TBE) was carried out in the research. 36 patients were examined in the acute period of the disease. NSE quantity was determined by solid-phase ELISA method. The dependence of its concentration variation on the severity of inflammation process in the central nervous system was determined. The results of the research showed that the determination of NSE level in serum and cerebrospinal fluid should be included in the patient's survey plan in the acute period of TBE for early prediction of severe focal forms of infection.

Key words: tick-borne encephalitis, neuronspecific enolase, serum, cerebrospinal fluid.

Введение. Высокий уровень заболеваемости клещевым энцефалитом (КЭ) в России обуславливает медико-социальную значимость этой инфекции [2, 6, 7]. За последние 10 лет в Уральском регионе показатели заболеваемости КЭ в 8-15 раз превышали общероссийские [2].

Патогенетические механизмы поражения центральной нервной системы (ЦНС) при КЭ, в основе которых лежит нарушение целостности гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), обусловлены как особенностями возбудителя, так и ответными патофизиологическими реакциями организма [1, 8, 9]. Новые представления о механизмах биологической регуляции при нейроинфекциях, современные знания о морфофункциональном строении ГЭБ и мозге, как органе иммунитета, дали дополнительный стимул для изучения иммунопатогенеза КЭ [8, 9, 10].

Известно, что проявления заболевания в первые дни не определяют клинической формы и степени тяжести поражения ЦНС при КЭ [7]. Оценка неврологического статуса носит субъективный характер. Исследование состава ликвора стандартными методами (цитоз, общий белок) позволяет диагностировать нейроинфекционный процесс, однако не выявляет связи между увеличением этих показателей и степенью развития воспалительного процесса в ЦНС. В связи с этим для улучшения диагностики и результатов лечения необходима своевременная и объективная оценка тяжести воспаления оболочек и ткани мозга [1].

Рядом авторов установлено, что при появлении первых клинических симптомов заболевания развивается генерализованная аутоиммунизация к структурным компонентам нервной ткани [9, 10]. При повреждении нейронов имеет место выход энзимов и их изоферментов из клеток мозга во внеклеточную среду, позволяющий выявить уровень их активности, которая определяет глубину и интенсивность структурно-функциональных нарушений биомембран в ЦНС [4, 5, 10].

В настоящее время одним из наиболее специфичных маркеров повреждения нейронов и, опосредованно, индикатором проницаемости ГЭБ, признана нейронспецифическая енолаза (НСЕ) [1, 4, 5]. НСЕ или 2-фосфо-D-глицерат-гидролиаза — внутриклеточный гликолитический фермент ЦНС, который присутствует в нейронах головного мозга и периферической

нервной ткани, имеет молекулярную массу 78 кДа и существует в виде нескольких димерных изоферментов ($\alpha\alpha$, $\alpha\beta$, $\beta\beta$, $\alpha\gamma$, $\gamma\gamma$). Диагностически значимыми являются ее гомологичные $\gamma\gamma$ или гетерологичные $\alpha\gamma$ – изоферменты. С помощью применения моноклональных антител к γ -мономеру этот антиген выявлен только в дифференцированных нейронах, что позволяет рассматривать НСЕ в качестве высокоспецифического маркера [4, 5, 9, 10]. Вследствие этого, определение НСЕ в сыворотке крови при заболеваниях, связанных с вовлечением в патологический процесс нервной ткани, характеризует степень выраженности повреждений нейронов и нарушений целостности ГЭБ [1, 4, 5]. На сегодняшний день представленные в литературе данные по изучению роли НСЕ в патогенезе КЭ малочисленны и неоднозначны [1, 3].

Цель исследования – оценить информативность изменений НСЕ в сыворотке крови и ликворе больных в остром периоде КЭ для определения тяжести его течения.

Материалы и методы. На базе краевой клинической инфекционной больницы г. Перми в эпидемический сезон 2011 г. обследовано 36 пациентов с КЭ. Их них 17 мужчин и 19 женщин в возрасте от 18 до 71 года ($44,7 \pm 14,5$ лет). Больные были разделены на две группы в зависимости от клинической формы: первая группа – 27 больных с непаралитическими формами (из них 12 человек с лихорадочной формой и 15 с менингеальной); вторая – 9 больных с паралитической (очаговой) формой КЭ. Формирование групп больных проводилось методом случайной выборки по мере поступления их в стационар. Контрольную группу составили 10 здоровых лиц.

Диагноз устанавливался на основании эпидемиологических (присасывание клеща или посещение леса в сроки, соответствующие инкубационному периоду заболевания), клинических (наличие общеинфекционного, менингеального, очагового синдромов) и

серологических данных (обнаружение в сыворотке крови специфических IgM к антигену вируса клещевого энцефалита).

Концентрацию НСЕ в сыворотке крови и ликворе определяли твердофазным методом иммуноферментного анализа, основанным на принципе «сэндвича», с использованием набора реагентов «НСЕ-ИФА-Бест». Исследование проводилось в строгом соответствии с инструкцией.

Для оценки степени нейронального повреждения ЦНС и состояния гематоэнцефалического барьера изучали содержание НСЕ в сыворотке крови больных в динамике заболевания: в период разгара (на 2-4-й день от начала болезни) и в раннюю реконвалесценцию. Уровень енолазы в ликворе определялся однократно – в разгар инфекционного процесса.

Статистический анализ проводили с использованием программы STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc, USA) и применением способов непараметрической статистики. Результаты исследования, обработанные методами вариационной статистики, выражали в виде среднего значения и его стандартного отклонения ($M+\sigma$). Статистически значимые различия выборок по количественным показателям в независимых группах определяли с помощью U-критерия Манна-Уитни, в зависимых – по критерию Вилкоксона, различия считали значимыми при $p<0,05$. Для исследования взаимосвязи признаков использовали корреляционный анализ Спирмена.

Результаты. Длительность инкубационного периода у пациентов с КЭ составила $11,1+7,2$ дня. Заболевание начиналось остро с развития общеинфекционного синдрома.

В первые дни болезни концентрация НСЕ в сыворотке крови у больных с очаговой формой КЭ составила $6,9+2,04$ нг/мл, при лихорадочной – $5,39+1,52$ нг/мл и менингеальной формах – $5,68+1,74$ нг/мл. Полученные данные не отличалась от количества енолазы в контрольной группе – $6,23+0,85$ нг/мл ($p>0,05$).

В динамике патологического процесса у пациентов с непаралитическими формами достоверных изменений не установлено: в период ранней реконвалесценции при лихорадочной форме уровень НСЕ составил $7,2 \pm 1,75$ нг/мл, при менингеальной – $6,29 \pm 2,55$ нг/мл ($p > 0,05$). Напротив, при очаговой форме выявлено достоверное ($p < 0,05$) увеличение концентрации НСЕ – $10,79 \pm 1,93$ нг/мл, свидетельствующее о развитии более выраженного патологического процесса в ЦНС и о нарушении проницаемости ГЭБ. Данные изменения сохраняются и в период регресса клинических проявлений при паралитической форме инфекции, что требует дальнейших исследований для уточнения возможных последствий КЭ.

Значения НСЕ при непаралитических – лихорадочной и менингеальной формах КЭ, не превысившие нормативных показателей, по-видимому, можно объяснить относительной доброкачественностью течения заболевания у обследуемых пациентов.

У 20 больных (12 человек с непаралитической – менингеальной и 8 человек с паралитической – очаговой формами) в первые четыре дня от начала инфекции была исследована концентрация НСЕ в ликворе.

Уровень енолазы при менингеальной форме составил $0,27 \pm 0,16$ нг/мл (рис. 1), а при очаговой был статистически достоверно выше – $3,93 \pm 4,52$ нг/мл ($p < 0,05$).

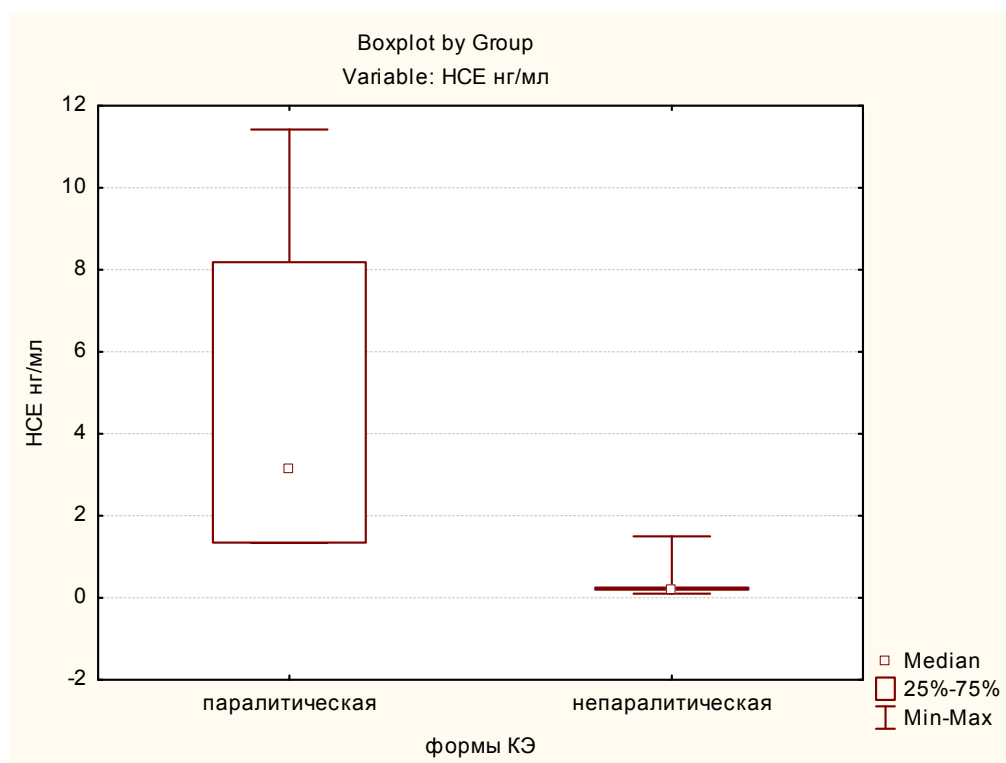


Рис. 1. Концентрация НСЕ в ликворе у больных с паралитической и непаралитической (менингеальной) формами КЭ в разгар заболевания

Также высокие показатели концентрации НСЕ в ликворе у больных с очаговой формой указывают на более значительную степень повреждения нейронов головного мозга, чем при менингеальной форме с поражением лишь единичных клеток нейроэктодермы.

При помощи коэффициента Спирмана выявлены положительные корреляционные связи между уровнем НСЕ в ликворе и тяжестью течения инфекции: чем тяжелее форма, тем выше значение НСЕ ($R=0,617799$, $p=0,006$).

Анализ величины НСЕ в ликворе пациентов с различными формами КЭ показал, что ее концентрация достоверно выше при заболеваниях, закончившихся летальными исходами (рис. 2), чем при благоприятном течении инфекции ($p=0,013$).

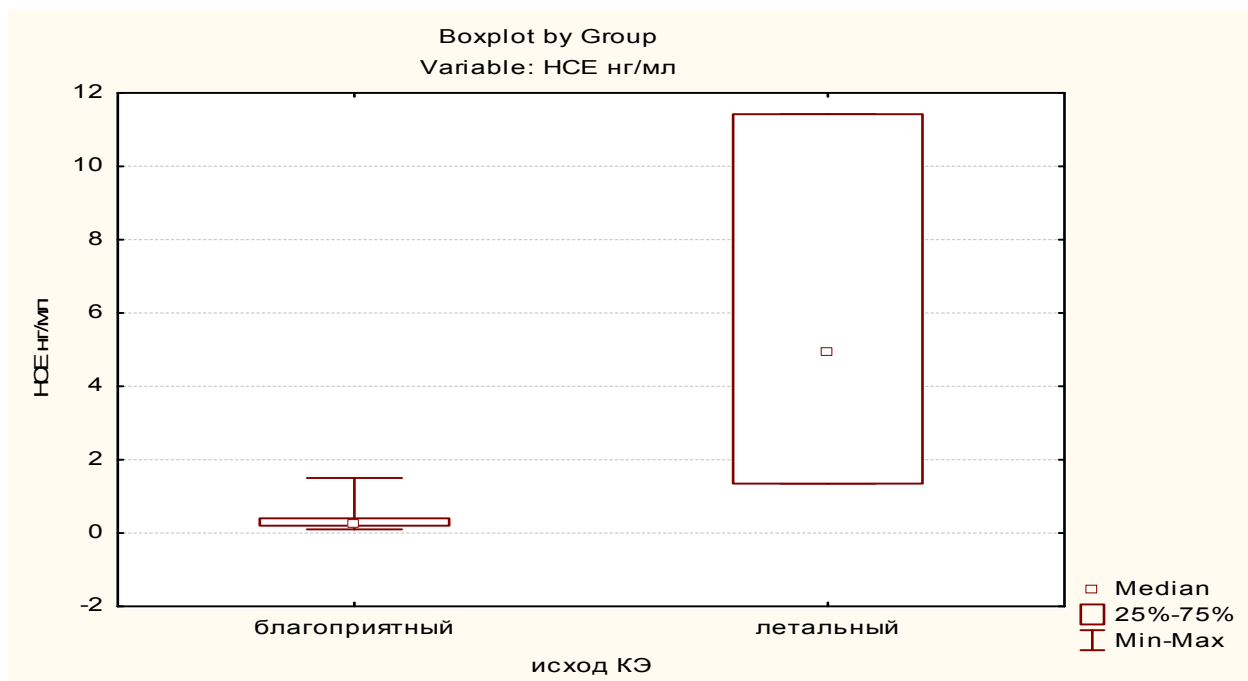


Рис. 2. Концентрация НСЕ в ликворе в разгар заболевания у пациентов КЭ с различными исходами

Таким образом, на основании полученных данных установлено, что определение концентрации НСЕ в ликворе возможно использовать в качестве маркера раннего распознавания поражения ЦНС при КЭ и прогнозирования развития тяжелых паралитических форм. Выбор данного показателя обусловлен его известной ролью в патогенезе поражения ЦНС, а также стандартизованностью методики выполнения с помощью иммуноферментного анализа.

Исследование сыворотки крови и ликвора при КЭ с включением НСЕ повышает точность и объективность диагностики, что способствует назначению своевременного адекватного лечения.

Выводы

1. Определение уровня НСЕ в сыворотке крови и ликворе при КЭ является дополнительным критерием степени повреждения нейронов и нарушения проницаемости ГЭБ.

2. Исследование концентрации НСЕ в ликворе в остром периоде КЭ может служить ранним прогностическим маркером формирования паралитической (очаговой) формы.

3. Применение методики определения величины НСЕ с помощью ИФА при КЭ повышает возможности интерпретации данного показателя и позволяет рекомендовать его для включения в план обследования больных в остром периоде заболевания с целью ранней диагностики тяжести течения.

Список литературы:

1. *Беляева И.А.* Нейроспецифические белки в крови и ликворе при клещевой нейроинфекции (клинико-диагностические аспекты): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 1995. – 28 с.
2. *Волкова Л.И.* Клещевой энцефалит на Среднем Урале // Нейроиммунология. – 2005. – №2. – С. 7.
3. *Галиева Г.Ю., Попонникова Т.В., Бедарева Т.Ю.* Изменения нейронспецифической енолазы и белка S100 в крови и ликворе в остром периоде клещевых нейроинфекций у детей // Бюллетень сибирской медицины. – 2010. – №4. – С. 38–44.
4. *Гашилова Ф.Ф., Жукова Н.Г.* Нейрон-специфическая енолаза в сыворотке крови как диагностический маркер паркинсонизма // Бюллетень сибирской медицины. – 2005. – №3. – С. 28–34.
5. *Жукова И.А., Алифиров В.М., Жукова Н.Г.* Нейронспецифическая енолаза как неспецифический маркер нейродегенеративного процесса // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – № 2. – С. 15–21
6. *Злобин В.И.* Эпидемиологическая обстановка и проблемы борьбы с клещевым энцефалитом в Российской Федерации // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – Прил. 1. – Т. 5. – С. 16–24.
7. *Иерусалимский А.П.* Клещевой энцефалит: руководство для врачей. – Новосибирск, Государственная медицинская академия МЗ РФ, 2001. – 360 с.
8. *Скворцова В.И., Шерстнев В.В., Константинова Н.А. и др.* Участие аутоиммунных механизмов в развитии ишемического повреждения головного мозга // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2005. – № 8. – С. 36–40.
9. *Georgiadis D., Berger A., Kowatchev E. et al.* Predictive value of S-100 and neuron specific enolase serum levels for adverse neurologic outcome after cardiac surgery//J. Thorac. Cardiovasc. Surg. - 2000. – V. 119. – P. 138-147.

10. *Lamers K.J.B., van Engelen B.G.M., Gabreels F.J.M. et al. Cerebrospinal neuron-specific enolase, S-100 and myelin basic protein in neurological disorders // Acta Neurol. Scand. – 1995. – Vol. 92. – P. 247–251.*

Сумливая Ольга Николаевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е.А.Вагнера Минздравсоцразвития России, 614990, г. Пермь, ул. Пушкина, 96
e-mail: infect-perm@mail.ru

Воробьёва Наталья Николаевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е.А.Вагнера» Минздравсоцразвития России. 614990, г. Пермь, ул. Пушкина, 96, e-mail: infect-perm@mail.ru

Каракулова Юлия Владимировна – доктор медицинских наук, профессор кафедры неврологии лечебного факультета имени профессора В.П.Первушина ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е.А.Вагнера Минздравсоцразвития России, тел. раб. (342)239-31-92, e-mail: julia.karakulova@mail.ru.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пермская государственная медицинская академия имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, 614990, Пермь, ул. Петropавловская, д. 26.