

УДК 616.8-002.6:612.015.348

АНАЛІЗ РІВНІВ АУТОАНТИТІЛ ДО НЕЙРОСПЕЦИФІЧНИХ АНТИГЕНІВ У ХВОРИХ ІЗ ПРИХОВАНИМИ ФОРМАМИ НЕЙРОСИФІЛІСУ

Е.Л.Баркалова

Донецький національний медичний університет ім. М.Горького

Ключові слова: аутоантитіла, нейроспецифічні антигени, прихований нейросифіліс.

Актуальність теми. У теперішній час дослідники вказують на патоморфоз сифілітичної інфекції з підвищенням частоти ураження нервової системи [7]. Тканина мозку є імунологічно привілейованою. Первинна думка про те, що антигени (АГ) таких тканин не покидають своїх місць і недоступні для розпізнавання Т-клітинами, не підтвердилася. АГ тканин покидають їх, але не так, як з інших місць. По-перше, вони минають класичний лімфатичний дренаж, по-друге, бар'єри також мають свої особливості, які полягають у тому, що їх клітини продукують імуносупресорні цитокіни, або експресують Fas-ліганди, котрі вбивають лімфоцити, що наблизилися. До АГ з привілейованих місць (у тому числі, до тканини мозку) не встановлюється імунологічна толерантність ані за механізмом делеції клона, ані за механізмом анергії лімфоцитів. У зв'язку з цим, оцінювати порушення проникності гематоенцефалічного бар'єру ГЕБ, на думку [2, 8, 13, 14], можна за рівнем і мірою сенсibiliзованих до мозкових АГ (білка S-100, мембранного АГ) лімфоцитів. У сучасній літературі зросла кількість публікацій, присвячених вивченню ролі нейроспецифічних АГ при різних психічних і неврологічних захворюваннях [1, 6, 10, 17].

До нейроспецифічних білків (НСБ) відноситься специфічний білок нервової тканини (астроцитарної глії), що названий білком Мура, або білком S 100, який уперше був ідентифікований у 1965 р.

V.W.Moore і дістав свою другу назву завдяки розчинності в 100% сульфаті амонію. Астрогліальні клітини – це найбільш численні клітини мозкової тканини, що утворюють тривимірну мережу, яка є опорним каркасом для нейронів. Останніми роками визначення цього білка усе більш активно використовується як маркер ушкодження тканини мозку [14, 16, 20]. Нині склалася думка про те, що визначення білка S 100 в лікворі має очевидну діагностичну цінність при аналізі багатьох неврологічних і психічних захворювань, особливо в комплексі з іншими НСБ [17, 19]. Наступним НСБ, що характеризує поразку нервових клітин є нейроспецифічна енолаза (НСЕ), яка є внутрішньоклітинним ферментом ЦНС, що присутній в клітинах нейроектодермального походження (нейронах головного мозку і периферичної нервової тканини), і є єдиним відомим нині загальним маркером усіх диференційованих нейронів. При захворюваннях, пов'язаних з безпосереднім залученням нервової тканини до патологічного процесу, якісне і кількісне визначення цього білка у СМР або сироватці крові дає цінну інформацію про міру ушкодження нейронів і порушення загальної цілісності ГЕБ. У сучасній літературі показана можливість використання НСЕ як клініко-діагностичного критерію для оцінки ступеня ураження нейронів головного мозку при ішемічних і геморагічних інсультах [11, 18]. Про наявність у нервовій тканині аутоімунного процесу можна судити за рівнем АТ до основного білка мієліна (ОБМ). Відомо, що демієлінізація – це універсальна реакція нервової системи на різ-

ні патологічні впливи. В основі цього процесу лежить руйнування мієліну. Мієлін – це білково-ліпідна мембрана олігодендроцитів, яка вміщує 23% белка, близько 1/3 якого складає основний білок, що підтримує стабільність мієліну. Основний білок є катіонним білком, у ньому вміщується багато аргініну, лізину і гістидину і відсутня сульфгідрильна група. З причини того, що основний білок чутливий до дії протеїнази, він першим видаляється з мієліну, порушуючи його структуру і починаючи цим процес демієлінізації [14, 19]. ОБМ є найбільш імуногенним, і на нього спрямовано багато аутоімунних реакцій [4]. У хворих з патологією ЦНС при нейросифілісі також відзначалося збільшення вмісту АТ до ОБМ у лікворі [5]. Застосування ОБМ в якості маркера деструкції мієліну відкрило новий напрям у нейробіології, присвячений дослідженню значущості цього АГ в діагностиці демієлінізуючих захворювань. Основна частина цих робіт присвячена аналізу ОБМ у СМР хворих на розсіяний склероз [13]. Окрім діагностики розсіяного склерозу, ряд робіт присвячений порівняльному дослідженню ОБМ при цілому ряді інших захворювань, що супроводжуються процесом демієлінізації.

У сучасній літературі відсутні дані про комплексні дослідження нейроспецифічних АГ у хворих на НС, а саме у хворих на прихований НС що і обґрунтувало доцільність нашого дослідження, **ціллю** якого є – визначення рівнів аутоантитіл (ААТ) до НСБ у хворих на прихований НС.

Матеріал та методи дослідження.

Матеріалом дослідження з'явилися власні спостереження за 32 хворими на прихований (асимптомний) НС (ПНС), які склали основну дослідну групу і 30 хворими на сифіліс без супутніх неврологічних захворювань (СБСНЗ), які увійшли в контрольну групу. З цих груп виключали пацієнтів із позитивними реакціями на ВІЛ. Рівень ААТ до білка S 100, НСЕ, ОБМ, загального мозкового АГ (ЗМАГ) в сироватці крові визначали методом ІФА в лабораторії нейроімунології Інституту нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова НАМН України, м.

Київ за методикою Т.М.Черенько [12]. Принцип методу полягає в тому, що АТ зразка, що тестують, взаємодіють з імібілізованим на твердій фазі АГ, потім фіксують на собі антивидові АТ (вторинні), кон'юговані з ферментом пероксидазою хрому. Кількість пов'язаного кон'югата визначається за допомогою хромогенного субстрату, причому інтенсивність забарвлення, що розвивається, пропорційна кількості АТ у зразках. Аналіз результатів дослідження проводився з використанням методів статистичного аналізу [3].

Результати та їх обговорення. Середній рівень ААТ до мозкових АГ у сироватці крові хворих на ПНС представлено у табл. 1. Рівень ААТ до НСЕ у другій основній групі склав $28,75 \pm 0,33$ ум.од., що вірогідно ($p < 0,05$) відрізнялося і від групи хворих на СБСНЗ ($22,18 \pm 0,74$ ум.од.), і від нормального значення ($23,10 \pm 0,35$ ум.од.). Середній рівень ААТ до білка S 100 в групі хворих на ПНС склав $16,13 \pm 0,47$ ум.од. з вірогідною ($p < 0,05$) відмінністю від групи хворих на СБСНЗ ($13,16 \pm 0,21$ ум.од.) і від нормальних показників ($12,60 \pm 0,11$ ум.од.). Вміст ААТ до ОБМ у основній і контрольній групах був, відповідно, $31,42 \pm 2,01$ і $28,17 \pm 1,12$ ум.од. при вірогідній ($p < 0,05$) відмінності як між ними, так і від норми ($26,05 \pm 1,50$ ум.од.). Рівень ААТ до ЗМАГ у хворих на ПНС і СБСНЗ склав, відповідно, $25,57 \pm 0,81$ і $26,64 \pm 0,85$ ум.од. і був, за відсутності вірогідної різниці між ними, вірогідно ($p < 0,05$) зниженим порівняно з нормою ($29,00 \pm 1,50$ ум.од.).

Детальніший розподіл рівнів ААТ у сироватці крові хворих на ПНС представлений у табл. 2. Вищий за норму рівень ААТ до НСЕ був виявлений у сімнадцяти ($56,7 \pm 9,0\%$) пацієнтів. У чотирьох з них значення ААТ досягали 30 ум.од. і вище. Ці хворі мали великий термін захворювання – понад 5 років, вони вже отримували курс протисифілітичного лікування пролонгованими препаратами пеніциліну, а ПНС у них розвився на тлі серорезистентності. У шістьох ($20 \pm 7,3\%$) хворих рівень ААТ до НСЕ був трохи понижений (до 18,4 ум.од) і у сімох ($23,3 \pm 7,7\%$) – відповідав нормальному значенню. У 21

(70±8,4%) хворого групи порівняння АТ до НСЕ не відрізнялися від норми або були трохи понижені (до 19,4 ум.од). Особливо варто відмітити, що у дев'яти (30±8,4%) хворих на СБСНЗ рівень АТ до НСЕ був вищим за нормальне значення, а у загальному аналізі ліквору відмічено підвищення клітинного складу, тож не можна виключити у цих пацієнтів ураження нервової системи, що розпочинається, коли кількість трепонем у нервовій системі ще недостатня для позитивації тестів. Рівень ААТ до білка S 100 був вищий за норму у

дев'ятнадцяти (63,3±8,8%) пацієнтів другої основної групи. При цьому у восьми з них значення АТ досягали 25 ум.од. і вище. Слід сказати, що ці хворі мали скарги, що відповідають астеноневротичному і вегетативному синдромам: підвищена стомлюваність, зниження пам'яті, підвищена пітливість тощо. У шістьох (20±7,3%) пацієнтів рівень ААТ до S100 був трохи понижений (до 9,8 ум.од.), у п'яťох (16,7±6,8%) – знаходився в межах норми.

Таблиця 1

Середні значення рівнів ААТ в сироватці крові хворих на ПНС

Тип мозкових антигенів	Групи		Норма
	основна, n=32	контрольна, n=30	
НСЕ, ум.од	28,75±1,02●◆	22,18±0,74	23,10±0,35
S 100, ум.од	16,13±0,47●◆	13,16±0,33	12,60±0,25
ОБМ, ум.од	31,42±2,01●◆	28,17±1,12◆	26,05±1,50
ЗМАГ, ум.од	25,57±0,81◆	26,64±0,85◆	29,00±1,50

Примітка: наведені середні значення та стандартна помилка (M±m);

● – вірогідна відмінність по відношенню до другої контрольної групи, p<0,05;

◆ – вірогідна відмінність по відношенню до норми, p<0,05.

Таблиця 2

Розподіл рівнів ААТ до НСБ у сироватці крові хворих на ПНС

Рівень ААТ до НСБ (ум.од.):	Групи			
	основна, n=32		контрольна n=30	
	абс.	%±m%	абс.	%±m%
НСЕ				
- до 23,10±0,35	6	20±7,3	7	23,3±7,7
- в межах 23,10±1,0	7	23,3±7,7	14	46,7±9,1
- вище за 23,10±0,35	17	56,7±9,0	9	30±8,4
S 100				
- до 12,60±0,25	6	20±7,3	11	36,7±8,8
- в межах 12,60±0,25	5	16,7±6,8	7	23,3±7,7
- вище за 12,60±0,25	19	63,3±8,8	12	40±8,9
ОБМ				
- до 26,05±1,50	9	30±8,4	10	33,3±8,6
- в межах 26,05±1,50	5	16,7±6,8	12	40±8,9
- вище за 26,05±1,50	16	53,3±9,1	8	26,7±8,1
ЗМАГ				
- до 29,00±1,50	14	46,7±9,1	12	40±8,9
- в межах 29,00±1,50	7	23,3±7,7	11	36,7±8,8
- вище за 29,00±1,50	9	30±8,4	7	23,3±7,7

У хворих групи порівняння показники вірогідно не відрізнялися від нормальних значень. Проте, у дванадцяти хворих, що складало $40 \pm 8,9\%$, вони перевищували їх з максимальним значенням – 17,4 ум.од. Рівень ААТ до ОБМ виявився високим у 16 ($53,3 \pm 9,1\%$) хворих другої основної і у 8 ($26,7 \pm 8,1\%$) пацієнтів другої контрольної груп, причому виявлені величини значно перевищували норму: з максимальною величиною 47,2 ум.од. – у хворих на ПНС і 33,3 ум.од. – у хворих на необтяжений сифіліс. Ймовірно, рівень ААТ до ОБМ є одним з критеріїв ураження нервової системи без клінічних проявів. Ці хворі раніше отримували лікування, як правило, пролонгованими препара-

тами пеніциліну. Процес демієлінізації пов'язаний із впливом блідої трепонеми як на ЦНС, так і на периферичну іннервацію, і, як наслідок, виникає підвищення рівня ААТ до ОБМ, що вивільняється. Рівень ААТ до ЗМАГ у більшості хворих основної групи складав 14 ($46,7 \pm 9,1\%$), у групі порівняння він був 12 ($40 \pm 8,9\%$), тобто нижче нормального значення, що і знайшло своє відображення на середньому рівні ААТ.

Висновки. Таким чином, у хворих на ПНС виявлено вірогідне підвищення рівнів ААТ до НСЕ, білка S 100, ОБМ і зниження – до ЗМАГ, що відображає рівень і ступінь поразки нервової системи.

Список літератури

1. Аутоантитела к глиальному фибриллярному кислому белку у больных с различными формами цереброваскулярной патологии / П.Р.Камчатнов, А.В.Чугунов, Н.Ю.Рулев и др. // Журнал неврологии и психиатрии. – 2008. – № 11 – С. 58-61.
2. Белок S100 В и аутоантитела к нему в диагностике поврежденный мозга при черепно-мозговых травмах у детей / Е.Г.Сорокина, Ж.Б.Семенова, О.К.Гранстрем и др. // Журнал неврологии и психиатрии. – 2010. – № 8. – С. 30-35.
3. Боровиков В.П. STATISTICA - Статистический анализ и обработка данных в среде Windows / В.П.Боровиков, И.П.Боровиков. – М.: Информационно-издательский дом "Филин", 1997. – 608 с.
4. Иммуноферментный анализ нейроспецифических белков в диагностике нервно-психических заболеваний / В.П.Чехонин, И.А.Гурина, И.А.Рябухин // Российский психиатрический журнал. – 2000. – № 4. – С. 15-19.
5. Казиев А.Х. Комплексная диагностика и терапия нейросифилиса (нейрофизиологические и иммунологические аспекты): автореф. дис. на соискание наук. степени докт. мед. наук : спец. 14.01.11 «Нервные болезни», 14.03.09 «Клиническая иммунология» / А.Х.Казиев. – М., 2010. – 32 с.
6. Карякина Г.М. Нейронспецифическая енолаза как индикатор поражения мозговой ткани при ишемических инсультах / Г.М. Карякина, М.В. Надеждина, М.А. Хинко // Неврологический вестник. – 2007. – Т. XXXIX, Вып. 1. – С. 41-44.
7. Красносельских Т.В. Нейросифилис // Суставной синдром в практике врача дерматовенеролога. Нейросифилис / Под ред. Е.В.Соколовского. – СПб.: Сотис, 2001. – С. 72-269.
8. Лісяний М.І. Механізми імунонейропатологічних процесів при дії радіаційного опромінення / М.І.Лісяний, Л.Д.Любич. – К., 2001. – 198 с.
9. Полетаев А.Б. Изучение эндогенных белковых лигандов мозгоспецифических белков группы S 100 / А.Б.Полетаев, М.А.Грудень // Биохимия. – 1982. – Т. 47, № 8. – С. 1349-1353.
10. Скрининг содержания нейроспецифической енолазы в сыворотке крови у пациентов с хроническими неврологическими заболеваниями / О.В.Гребенюк, В.М.Алиферова, Н.Г.Жукова // Бюллетень сибирской медицины. – 2008. – Приложение 1. – С. 208-211.
11. Уровень нейроспецифической енолазы и аутоантител к ней в сыворотке крови при аутоиммунных тиреопатиях / Н.Н.Цыбиков, А.А.Зуев, Е.Б.Жигжитов и др. // Медицинская иммунология. – 2010. – Т. 12, № 1-2. – С. 147-150.

12. Черенько Т.М. Сенсibiliзация к нейроспецифическим белкам у больных с закрытой черепно-мозговой травмой: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.01.05 «Нейрохірургія» / Т.М.Черенько. – К., 1989. – 26 с.
13. Чехонин В.П. Иммунохимический анализ нейроспецифических антигенов / Чехонин В.П., Дмитриева Т.Б., Жирков Ю.А. – М.: Медицина, 2000. – 414 с.
14. Элиминация нейроспецифических белков из ЦНС (Патогенетические и методические аспекты) / В.П.Чехонин, С.В.Лебедев, О.И.Гурина и др. // Вестник Российской АМН. – 2006. – № 6. – С. 3-12.
15. Astroglial protein S-100 is an early and sensitive marker of hypoxic brain damage and outcome after cardiac arrest in humans / B. W. Böttiger, S. Möbes, R. Glätzer et al. // Circulation. – 2001. – Vol. 103. – P. 2694.
16. Can serum protein S100beta predict neurological deterioration after moderate or minor traumatic brain injury? / P. Bouzat, G. Francony, P. Declety et al. // Ann. Fr. Anesth. Reanim. – 2009. – Vol. 28, № 2. – P. 135-139.
17. Electroconvulsive therapy and biomarkers of neuronal injury and plasticity: Serum levels of neuron-specific enolase and S-100b protein. / J.Palmio, M.Huuhka, S.Laine // Psychiatry Res. – 2010. – Vol. 177, № 1-2. – P. 97-100.
18. Gitlits V.M. Disease association, origin, and clinical relevance of autoantibodies to the glycolytic enzyme enolase / V.M.Gitlits, B.H.Toh, J.W.Sentry // J. Investig. Med. – 2001. – Т.49, № 2. – С. 138-145.
19. Jankovic B.D., Djordjijevic D. Differential appearance of autoantibodies to human brain S100 protein, neuron specific enolase and myelin basic protein in psychiatric patients // Int. J. Neurosci. – 1991. – Vol. 60. – P. 119-127.
20. Michetti F. The S100 antigen in cerebrospinal fluid as a possible index of cell injury in the nervous system / F.Michetti, A.Massarò, G.Russo // J. Neurol. Sci. - 1980. - Vol. 44, - P. 259-263.

АНАЛИЗ УРОВНЕЙ АНТИТЕЛ К НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКИМ АНТИГЕНАМ У БОЛЬНЫХ СКРЫТЫМИ ФОРМАМИ НЕЙРОСИФИЛИСА

Э.Л.Баркалова

У 32 больных скрытыми формами нейросифилиса изучены уровни антител к нейроспецифическим антигенам в сыворотке крови и установлено достоверное повышение их к нейроспецифической енолазе, белку S100 и основному белку миелина. Это позволяет оценивать степень поражения нервной системы, прогнозировать течение заболевания и оптимизировать лечебную тактику.

ANALYZE OF THE ANTIBODIES TO NEUROSPECIFIC PROTEINS AT THE PATIENTS WITH LATENT FORM OF NEUROSYPHILIS

E.L.Barkalova

In 32 patients with latent form of neurosyphilis studied the content of antibodies to neurospecific proteins in blood serum and found a significant rise to neurospecific enolase, protein S100 and myelin basic protein. This allows us to assess the degree of damage to the nervous system, to predict the course of the disease, develop and optimize treatment.