

11. Sanders T., Berry S., Miller G.J. Influence of triacylglycerol structure on the postprandial response of factor VII to stearic acid-rich fats. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003; 77(4): 777—82.
12. Titov V.N., Lisitsyn D.M. *Fatty Acid. Physical Chemistry, Biology and Medicine [Zhirmye kisloty. Fizicheskaya khimiya, biologiya i meditsina]*. Moscow—Tver': OOO «Izdatel'stvo «Triada»; 2006. (in Russian)
13. Anand S.S., Hawkes C., de Souza R.J., Mente A., Dehghan M., Nugent R. et al. Food consumption and its impact on cardiovascular disease: importance of solutions focused on the globalized food system: a report from the workshop convened by the world heart federation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2015; 66(14): 1590—614.
14. Nielsen S., Karpe F. Determinants of VLDL-triglycerides production. *Curr. Opin. Lipidol.* 2012; 23(4): 321—6.
15. Wildgruber M., Swirski F.K., Zernecke A. Molecular imaging of inflammation in atherosclerosis. *Theranostics.* 2013; 3(11): 865—84.
16. Gentek R., Molawi K., Sieweke M.H. Tissue macrophage identity and self-renewal. *Immunol. Rev.* 2014; 262(1): 56—73.
17. Riccioni G., Sblendorio V. Atherosclerosis: from biology to pharmacological treatment. *J. Geriatr. Cardiol.* 2012; 9(3): 305—17.
18. Goode G.K., Garcia S., Heagerty A.M. Dietary supplementation with marine fish oil improves in vitro small artery endothelial function in hypercholesterolemic patients: a double-blind placebo-controlled study. *Circulation.* 1997; 96(9): 2802—7.
19. Libby P., Bornfeldt K.E., Tall A.R. Atherosclerosis: successes, surprises, and future challenges. *Circ. Res.* 2016; 118(4): 531—4.
20. Shaikh S.R., Kinnun J.J., Leng X., Williams J.A., Wassall S.R. How polyunsaturated fatty acids modify molecular organization in membranes: insight from NMR studies of model systems. *Biochim. Biophys. Acta.* 2015; 1848(1 Pt. B): 211—9.
21. Qi K., Seo T., Jiang Z., Carpentier Y.A., Deckelbaum R.J. Triglycerides in fish oil affect the blood clearance of lipid emulsions containing long- and medium-chain triglycerides in mice. *J. Nutr.* 2006; 136(11): 2766—72.
22. Abramov V.V., Ershov O.V., Filatenkov E.V. Patterns of migration and recirculation of immunocompetent cells: fundamental and applied aspects. *Uspekhi sovremennoy biologii.* 2007; 127(3): 257—66. (in Russian)
23. Dushkin M.I. Macrophage/foam cells as an attribute of inflammation: mechanisms of formation and functional role. *Biokhimiya.* 2012; 77(4): 419—32. (in Russian)
24. Zenkov N.K., Chechushkov A.V., Kozhin P.M., Kolpakova T.A., Men'shchikova E.B. Macrophage and mycobacterium: war without beginning or end. *Uspekhi sovremennoy biologii.* 2015; 135(6): 554—74. (in Russian)
25. Shapiro M.D., Fazio S. From lipids to inflammation: new approaches to reducing atherosclerotic risk. *Circ. Res.* 2016; 118(4): 732—49.
26. Tabas I., Bornfeldt K.E. Macrophage phenotype and function in different stages of atherosclerosis. *Circ. Res.* 2016; 118(4): 653—67.
27. Nordestgaard B.G. Triglyceride-rich lipoproteins and atherosclerotic cardiovascular disease: new insights from epidemiology, genetics, and biology. *Circ. Res.* 2016; 118(4): 547—63.
28. Nguyen-Lefebvre A.T., Horuzsko A. Kupffer cell metabolism and function. *J. Enzymol. Metab.* 2015; 1(1): 101—15.
29. Knolle P.A., Wöhlleber D. Immunological functions of liver sinusoidal endothelial cells. *Cell. Mol. Immunol.* 2016; 13(3): 347—53.
30. Sorci-Thomas M.G., Thomas M.J. Microdomains, inflammation, and atherosclerosis. *Circ. Res.* 2016; 118(4): 679—91.
31. Maeda S., Nakanishi S., Yoneda M., Awaya T., Yamane K., Hirano T. et al. Associations between small dense LDL, HDL subfractions (HDL2, HDL3) and risk of atherosclerosis in Japanese-Americans. *J. Atheroscler. Thromb.* 2012; 19(5): 444—52.
32. Bie J., Zhao B., Marqueen K.E., Wang J., Szomju B., Ghosh S. Macrophage-specific transgenic expression of cholesteryl ester hydrolase attenuates hepatic lipid accumulation and also improves glucose tolerance in ob/ob mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2012; 302(10): E1283—91.
33. Yuan Q., Bie J., Wang J., Ghosh S.S., Ghosh S. Cooperation between hepatic cholesteryl ester hydrolase and scavenger receptor BI for hydrolysis of HDL-CE. *J. Lipid. Res.* 2013; 54(11): 3078—84.
34. Pedersen T.R. The success story of LDL cholesterol lowering. *Circ. Res.* 2016; 118(4): 721—31.

Поступила 15.10.16

Принята к печати 29.11.16

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ. 2017

УДК 616.831.9-002-053.2-07:616.831.9-008.8

Алексеева Л.А., Скрипченко Н.В., Бессонова Т.В., Монахова Н.Е., Григорьев С.Г.

МАРКЕРЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ НЕЙРОНОВ И ГЛИИ В ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ МЕНИНГИТАХ У ДЕТЕЙ

ФГБУ «НИИ детских инфекций» ФМБА России, 197022, Санкт-Петербург

Актуальность изучения цереброспинальной жидкости при менингитах у детей обусловлена тяжестью течения заболевания с формированием резидуальных последствий у части пациентов. Появление в ликворе и сыворотке крови белков, характерных для нейронов, астро- и олигодендроглии, может служить маркером тяжести повреждения мозговой паренхимы и предиктором формирования неврологического дефицита. Исследованы образцы ликвора, полученные при диагностической люмбальной пункции у 44 детей (33 — с вирусным серозным менингитом, 11 — с бактериальным гнойным менингитом). Определение белка S-100, глиального фибриллярного кислого белка и нейронспецифичной енолазы проведено твердофазным иммуноферментным методом. Максимальное увеличение концентраций белка S-100 и глиального фибриллярного кислого белка обнаружено в начальной стадии бактериального гнойного менингита с последующим снижением в стадии реконвалесценции. При серозном менингите в остром периоде максимально высоким оказалось среднее значение концентрации нейронспецифичной енолазы с тенденцией к его увеличению в стадии реконвалесценции. Установлены разнонаправленные корреляционные взаимосвязи уровней нейронспецифичной енолазы, глиального фибриллярного кислого белка и белка S-100 со стандартными ликворологическими показателями и их прямые взаимосвязи между собой. Выявлена вариабельность уровней нейронспецифичных белков в ликворе, ассоциирующаяся с клиническими особенностями течения менингитов у детей, что свидетельствует о возможности их использования для уточнения вовлеченности в патологический процесс различных структур мозга и необходимости дальнейшего изучения взаимосвязи инфекционного поражения мозга с формированием неврологических последствий в резидуальном периоде.

Ключевые слова: цереброспинальная жидкость; менингит; дети; белок S-100; нейронспецифичная енолаза; глиальный фибриллярный кислый белок.

Для корреспонденции: Алексеева Лидия Аркадьевна, д-р биол. наук, вед. науч. сотр., рук. отдела клин. лаб. диагностики; e-mail: kldidi@mail.ru

Для цитирования: Алексеева Л.А., Скрипченко Н.В., Бессонова Т.В., Монахова Н.Е., Григорьев С.Г. Маркеры повреждения нейронов и глии в цереброспинальной жидкости при менингитах у детей. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62 (4): 204-210. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-4-204-210>

Alekseeva L.A., Skripchenko N.V., Bessonova T.V., Monakhova N.E., Grigoriev S.G.

THE MARKERS OF DAMAGE OF NEURONS AND GLIA IN CEREBROSPINAL LIQUOR UNDER MENINGITIS IN CHILDREN

The research institute of children infections of the Federal medical biological agency of Russia, 197022 St. Petersburg, Russia

The actuality of analysis of cerebrospinal fluid under meningitis in children is conditioned by severity of course of disease with development of residual aftermaths in part of patients. The appearance of proteins specific for neurons, astro- and oligodendroglia in liquor and blood serum can serve as a marker of severity of damage of cerebral parenchyma and as a predictor of development of neurological deficiency. The analysis was applied to samples of liquor obtained during diagnostic lumbar puncture in 44 children (33 with viral serous meningitis, 11 with bacterial purulent meningitis). The detection of protein S-100, glial fibrillar acid protein and neuron-specific enolase was implemented using solid-phase immune enzyme technique. The maximal increasing of concentrations of protein S-100 and glial fibrillar acid protein was detected at initial stage of bacterial purulent meningitis with consequent decreasing of at the stage of re-convalescence. Under serous meningitis at acute stage maximal high proved to be average value of concentration of neuron-specific enolase with tendency to its increasing at the stage of re-convalescence. The multi-directional correlation relationships are established concerning levels of neuron-specific enolase, glial fibrillar acid protein and protein S-100 with standard liquorologic indices and their direct mutual relationships. The variability of levels of neuron-specific proteins in liquor is established associated with clinical characteristics of course of meningitis in children that testifies possibility of their application for specifying involvement into pathological process of different brain structures and necessity of further studying of relationship of infection affection of brain with development of neurological aftermaths at the residual period.

Key words: cerebrospinal liquor; meningitis; children; protein S-100; neuron-specific enolase; glial fibrillar acid protein

For citation: *Alekseeva L.A., Skripchenko N.V., Bessonova T.V., Monakhova N.E., Grigoriev S.G. The markers of damage of neurons and glia in cerebrospinal liquor under meningitis in children. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2017; 62 (4): 204-210. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-4-204-210>*

For correspondence: *Alekseeva L.A.*, doctor of biological sciences, leading researcher, the head of the department of clinical laboratory diagnostic. e-mail: kldidi@mail.ru

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 15.11.2016
Accepted 29.11.2016

Актуальность изучения цереброспинальной жидкости (синоним: ликвор) при бактериальных гнойных и вирусных серозных менингитах у детей обусловлена тяжестью течения и возможным формированием резидуальных последствий вследствие функционального или органического повреждения нервной ткани. Течение менингитов может осложниться отеком головного мозга, вовлечением в инфекционный процесс мозговой паренхимы (менингоэнцефалиты), нарушением когнитивных функций в стадии реконвалесценции. В диагностике менингитов решающее значение имеет исследование цереброспинальной жидкости (ЦСЖ), состав которой объективно отражает нарушения внутричерепного гомеостаза, изменения метаболизма и повреждение ткани мозга, увеличение проницаемости гематоэнцефалического барьера [1—3]. Максимальные изменения клеточного и белкового состава ЦСЖ установлены при бактериальных гнойных менингитах по сравнению с вирусным серозным менингитом, хотя стандартные ликворологические показатели (общий белок и цитоз ликвора) не всегда соответствуют этиологии заболевания, тяжести повреждения мозга и не прогнозируют формирование резидуальных последствий [4, 5]. Это обуславливает актуальность поиска дополнительных лабораторных критериев, одним из которых может быть определение в ЦСЖ концентрации белков, специфичных для ткани мозга.

К настоящему времени открыта целая группа белков, характерных для нейронов, астро- и олигодендроглии, обеспечивающих функции нервной системы и постоянство внутренней среды мозга [6]. Наиболее изученные белки астроцитарной глии — белок S-100 и глиальный фибриллярный кислый белок (ГФКБ), нейронов нейронспецифическая енолаза (НСЕ). Белки семейства S-100 — внутриклеточные кальций связывающие белки, которые регулируют кальциевый гомеостаз,

активность ферментов энергетического обмена клеток мозга, структурную организацию биомембран [7—9]. Часть белков семейства S-100 может секретироваться внеклеточно и взаимодействовать с рецепторами, экспрессируемыми клетками мозга и сосудистой стенки, оказывая воздействие на пролиферацию астроцитов, модуляцию пластичности синапсов, трофику нейронов [10]. Глиальный фибриллярный кислый белок — структурный компонент дифференцированных клеток астроцитарной глии. Он обеспечивает оптимальную среду вокруг нейронов. Его появление в сыворотке крови свидетельствует о нарушении целостности астроцитарных клеток, формирующих гематоэнцефалический барьер, и возможной гибели нейрональных клеток. В то же время основным маркером повреждения нейронов служит НСЕ — единственный общий маркер всех дифференцированных нейронов, внутриклеточный фермент, обеспечивающий энергетический метаболизм в нейронах головного мозга и периферической нервной ткани. Данные литературы указывают на полезность определения специфичных для нервной ткани белков в ЦСЖ и сыворотке крови у пациентов с разным характером течения того или иного острого заболевания центральной нервной системы (ЦНС) (черепно-мозговая травма различной степени тяжести, инсульт, гипоксия новорожденных и т. д.). Показано, что при черепно-мозговой травме, инсульте определение их концентрации в цереброспинальной жидкости или сыворотке крови позволяет оценить степень повреждения мозга и может быть использовано для уточнения глубины его поражения, определения нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера, прогноза течения и исхода заболевания [11—13]. Имеются сведения о более значительном увеличении специфичных для ткани мозга белков в биологических жидкостях при вирусных и клещевых энцефалитах по сравнению с бак-

Показатели состава цереброспинальной жидкости при менингитах у детей

Группа больных	Показатели ЦСЖ ($M \pm m$)				
	общий белок, г/л	цитоз, $\cdot 10^6/\text{л}$	НСЕ, нг/мл	белок S-100, нг/мл	ГФКБ, нг/мл
1 (БГМ, острый период), $n = 11$	$1,42 \pm 0,26^{*xo}$	$4655,4 \pm 1475,9^{*xo}$	$1,16 \pm 0,33$	$0,84 \pm 0,25^{*xo}$	$6,49 \pm 3,22$
2 (БГМ, реконвалесценция), $n = 6$	$0,32 \pm 0,06$	$66,9 \pm 17,1^{*o}$	$1,05 \pm 0,24$	$0,20 \pm 0,04$	$0,66 \pm 0,27$
3 (ВМ, острый период), $n = 33$	$0,5 \pm 0,04^{*x}$	$236,3 \pm 37,8^{*x}$	$0,62 \pm 0,07$	$0,20 \pm 0,02$	$0,3 \pm 0,07$
4 (ВМ, реконвалесценция), $n = 16$	$0,32 \pm 0,02^*$	$14,1 \pm 2,2^*$	$0,87 \pm 0,19$	$0,21 \pm 0,02$	$0,36 \pm 0,07$
Контрольная, $n = 15$	$0,23 \pm 0,02$	$3,54 \pm 0,76$	—	—	—

Примечание: * — достоверное отличие от контрольной группы; x — достоверное отличие острого периода от периода реконвалесценции при БГМ и СМ; o — достоверное отличие БГМ от СМ в соответствующем периоде заболевания.

териальными гнойными менингитами [14—16]. Также установлено, что при бактериальных менингитах их концентрация ниже, чем при дегенеративных заболеваниях ЦНС, остром церебральном инфаркте, полиневропатии [17]. В доступной литературе отсутствуют сведения о сравнительных измерениях концентрации специфических для нейронов и глиии белков при серозных и гнойных менингитах у детей.

Цель настоящей работы — измерение концентрации НСЕ, белка S-100 и глиального фибриллярного кислого белка в цереброспинальной жидкости детей с гнойными и серозными менингитами в динамике заболевания и определение их патогенетического и диагностического значения.

Материал и методы. Исследованы образцы ЦСЖ, полученные при диагностической люмбальной пункции у 44 детей, из них 33 ребенка с серозным менингитом (СМ), 11 — с бактериальным гнойным менингитом (БГМ). Этиологический диагноз верифицирован с использованием стандартных микробиологических исследований, полимеразной цепной реакции и иммуноферментного анализа. При БГМ пневмококковая этиология менингита установлена у 1 ребенка, менингококковая — у 5 детей, гемофильная — у 4, у 1 ребенка этиология осталась невыясненной. Среди детей с серозным менингитом у 18 диагностирован энтеровирусный менингит (преимущественно серотип 68 и 70), у остальных детей этиология заболевания не установлена. Люмбальная пункция у большинства детей проведена дважды — в остром периоде (1—2-е сутки после поступления в стационар) и в стадии ранней реконвалесценции (7—10-е сутки после поступления). После проведения стандартного ликворологического исследования (определения общего содержания белка с использованием пирогаллолового красного и цитоза после окраски реактивом Самсона) образцы ЦСЖ центрифугировали в течение 10 мин при 1500 об/мин, надосадок отбирали и аликвотировали в пробирки типа Эппендорф. Образцы замораживали и хранили при -34°C до определения уровня МСБ. Определение концентрации специфических для нейронов и глиии белков проводили твердофазным иммуноферментным методом. Для определения уровня НСЕ и белка S-100 использовали наборы фирмы FUJIREBIO Diagnostics (Швеция), для определения концентрации ГФКБ — набор фирмы BioVendor (Чехия). Измерение концентрации проведено на иммуноферментном анализаторе Sunrise (TECAN, Австрия). Проводили статистическую обработку данных в 4 группах: 1-я группа — БГМ, острый период, 2-я — БГМ, период реконвалесценции, 3-я — СМ, острый период, 4-я группа — СМ, стадия реконвалесценции. Оценивали среднее значение, стандартную ошибку, медиану, межквартильный размах, минимальное и максимальное значение в указанных группах. Достоверность различий между показателями в группах оценивали методами параметрической (t -критерий Стьюдента) и непараметрической (U -критерий Манна—Уитни) статистики

с помощью стандартных программ Microsoft Office Excel 2003—2007, Statistica 7. Стандартные ликворологические показатели (общий белок, цитоз) сравнивали с показателями контрольной группы (ОРВИ с менингеальными явлениями). Оценивали корреляционные взаимосвязи НСЕ, ГФКБ, белка S-100 и связи со стандартными показателями ликвора — общим белком и цитозом.

Результаты и обсуждение. В острой стадии заболевания в ЦСЖ детей выявлены характерные для менингитов изменения — увеличение общего содержания белка и цитоза (табл. 1).

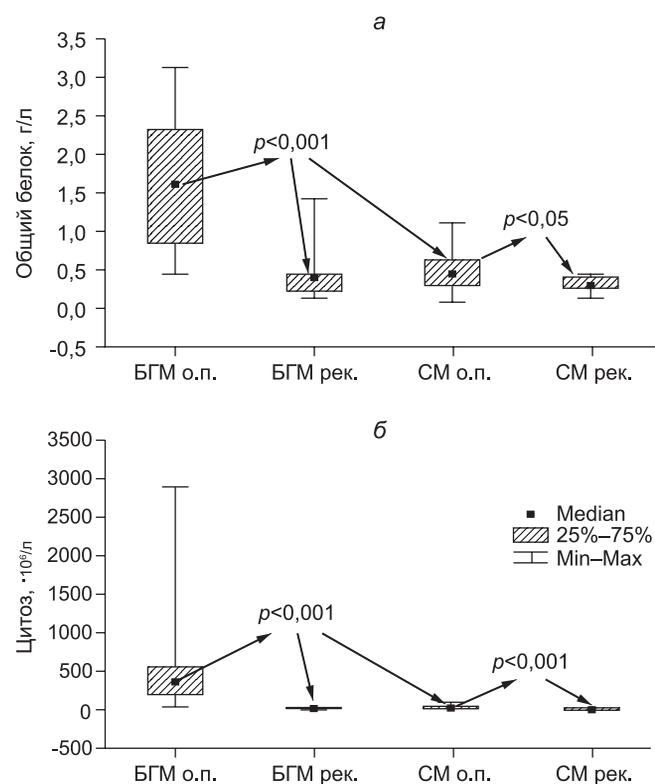


Рис. 1. Динамика общего содержания белка (а) и цитоза (б) в цереброспинальной жидкости детей с бактериальными гнойными и серозными менингитами.

По оси абсцисс — группы больных в разные периоды заболевания; по оси ординат — а — содержание общего белка в г/л, б — цитоз (число клеток $\cdot 10^6/\text{л}$).

Здесь и на рис. 2: о.п. — острый период; рек. — реконвалесценция.

Стрелками указаны достоверные отличия между группами в разные периоды болезни.

Таблица 2

Коэффициенты линейной корреляции между концентрацией специфических для нейронов и глии белков и стандартными ликворологическими показателями при бактериальных и серозных менингитах у детей

Сопоставляемые показатели	<i>r</i> в группах больных, уровень достоверности			
	1 (БГМ, острый период)	2 (БГМ, реконвалесценция)	3 (СМ, острый период)	4 (СМ, реконвалесценция)
НСЕ — общий белок	0,16	0,30	0,01	0,40 (<i>p</i> < 0,05)
НСЕ — цитоз	-0,02	0,37	0,06	0,07
S-100 — общий белок	-0,07	0,03	0,49, <i>p</i> < 0,01	10
S-100 — цитоз	-0,32	-0,38	0,29, <i>p</i> < 0,05	-0,07
ГФКБ — общий белок	-0,02	0,72, <i>p</i> < 0,01	0,31, <i>p</i> < 0,05	0,11
ГФКБ — цитоз	-0,26	0,03	0,55, <i>p</i> < 0,01	-0,07

Примечание: Здесь и в табл. 3: *r* — коэффициент линейной корреляции показателей.

При этом обнаружен значительный разброс стандартных ликворологических показателей (рис. 1). При БГМ общее содержание белка находилось в пределах 0,44—3,14 г/л, при СМ — в пределах 0,09—1,09 г/л. Плеоцитоз в остром периоде БГМ варьировал в широком диапазоне — от $186 \cdot 10^6/л$ до $29\ 000 \cdot 10^6/л$ с преимущественным увеличением полинуклеарных клеток, при СМ — в пределах от $20 \cdot 10^6/л$ до $980 \cdot 10^6/л$, с преобладанием мононуклеаров. Выявлена достоверность отличий средних значений общего белка и цитоза при БГМ и СМ в остром периоде заболевания (см. табл. 1). В стадии реконвалесценции обнаружено снижение средних значений общего белка и цитоза в обеих группах при сохранении разброса показателей (см. табл. 1, рис. 1). При БГМ колебания общего белка в ликворе находились в пределах 0,126—1,44 г/л, плеоцитоза — $17 \cdot 10^6/л$ — $115 \cdot 10^6/л$, тогда как при серозном менингите — в пределах 0,126—0,46 г/л для общего содержания белка и $4 \cdot 10^6/л$ — $106,7 \cdot 10^6/л$ — для плеоцитоза. Полученные результаты подтверждают известные данные о возможном перекрытии общепринятых ликворологических показателей при бактериальной или вирусной природе менингита как в острой стадии, так и в периоде реконвалесценции.

Таблица 3

Коэффициенты линейной корреляции между уровнями специфических для нейронов и глии белков в цереброспинальной жидкости при бактериальных гнойных и серозных менингитах у детей

Сопоставляемые показатели	<i>r</i> между МСБ в группах больных, уровень достоверности			
	1 (БГМ, острый период)	2 (БГМ, реконвалесценция)	3 (СМ, острый период)	4 (СМ, реконвалесценция)
НСЕ — S-100	0,47 (<i>p</i> < 0,05)	0,69 (<i>p</i> < 0,01)	0,24	0,44 (<i>p</i> < 0,05)
НСЕ — ГФКБ	0,37	0,86 (<i>p</i> < 0,01)	0,25 (<i>p</i> < 0,05)	0,26
S-100 — ГФКБ	0,92 (<i>p</i> < 0,01)	0,78 (<i>p</i> < 0,01)	0,42 (<i>p</i> < 0,01)	0,63 (<i>p</i> < 0,01)

При сравнении концентраций специфических для нейронов и глии белков в ЦСЖ в начальной стадии заболевания максимальное увеличение их уровня обнаружено у пациентов с БГМ (см. табл. 1). В стадии ранней реконвалесценции концентрации белков S-100 и ГФКБ при БГМ существенно снижались (в 4 и 10 раз соответственно), тогда как среднее значение уровня ЕСН оставалось на прежнем уровне. Напротив, при серозном менингите в остром периоде максимально высокой в ЦСЖ оказалась концентрация НСЕ, причем в стадии реконвалесценции она имела тенденцию к увеличению (0,62 и 0,87 нг/мл соответственно). Достоверных отличий в концентрации глиальных белков в динамике СМ не обнаружено (см. табл. 1). Можно предположить, что увеличение в ликворе уровня белков, специфических для астроцитарной глии, свидетельствует о более выраженном при БГМ воспалении мозговых оболочек с повреждением астроцитарных структур, формирующих гематоэнцефалический барьер, что сопровождается значительным увеличением в ликворе общего белка и цитоза. Однако данные корреляционного анализа трактуются неоднозначно (табл. 2).

Так, при БГМ прямая достоверная взаимосвязь установлена между концентрацией ГФКБ и общим содержанием белка в ликворе только в стадии реконвалесценции. В остром периоде БГМ отмечена тенденция к наличию обратной зависимости между белком S-100 и плеоцитозом (*r* = -0,32), в стадии ранней реконвалесценции прямая связь между уровнем НСЕ и общим белком (*r* = 0,30), уровнем НСЕ и цитозом (*r* = 0,37). Недостоверность этих взаимосвязей, возможно, обусловлена незначительным количеством детей в этой группе. При серозном менингите достоверные прямые взаимосвязи слабой и средней силы установлены между уровнем глиальных белков и стандартными ликворологическими показателями в остром периоде заболевания и между концентрацией НСЕ и общим содержанием белка — в стадии реконвалесценции. Оценка взаимосвязи уровня специфических для нейронов и глии белков в ЦСЖ показала наличие прямых достоверных коэффициентов корреляции между ними различной силы (табл. 3). Прямая зависимость установлена между уровнем НСЕ и белка S-100 в разные стадии БГМ, а также в периоде реконвалесценции у больных СМ, а также между уровнем НСЕ и ГФКБ в периоде реконвалесценции БГМ и слабая взаимосвязь между этими белками в остром периоде серозного менингита. Во все стадии заболевания выявлены достоверные взаимосвязи концентрации белка S-100 и ГФКБ. Полученные данные указывают на участие специфических для нейронов и глии белков в развитии интратекального воспаления, их влиянии на повреждение и метаболизм нейронов, свидетельствуют о пролонгированном нарушении проницаемости структур гематоэнцефалического барьера и его селективную проницаемость для клеток и белков крови и мозга.

Анализ данных выявил вариабельность уровней специфических для нейронов и глии белков в ликворе у больных менингитами детей, особенно в остром периоде заболевания (рис. 2). Концентрация белка S-100 колебалась в пределах 0,14—2,25 и 0,01—0,48 нг/мл при БГМ и СМ соответственно. Уровень ГФКБ находился в пределах 0,1—28 нг/мл и 0—1,4 нг/л, концентрация НСЕ в пределах 0—3,7 и 0,1—4 нг/мл при БГМ и СМ соответственно. Несколько меньший разброс значений обнаружен в стадии реконвалесценции. Концентрации белков находились в следующих диапазонах: белок S-100 — 0,071—1,152 и 0,02—0,74 нг/мл, ГФКБ — 0—1,4 нг/мл и 0,1—0,9 нг/л, НСЕ — 0—1,7 и 0—2,6 нг/мл при БГМ и СМ соответственно. Установлена разнонаправленность изменений уровня НСЕ в динамике заболевания в зависимости от гнойного или серозного характера воспаления мозговых оболочек (см. рис. 2, а, табл. 1). В остром периоде концентрации НСЕ колебались в близких пределах при БГМ

БИОХИМИЯ

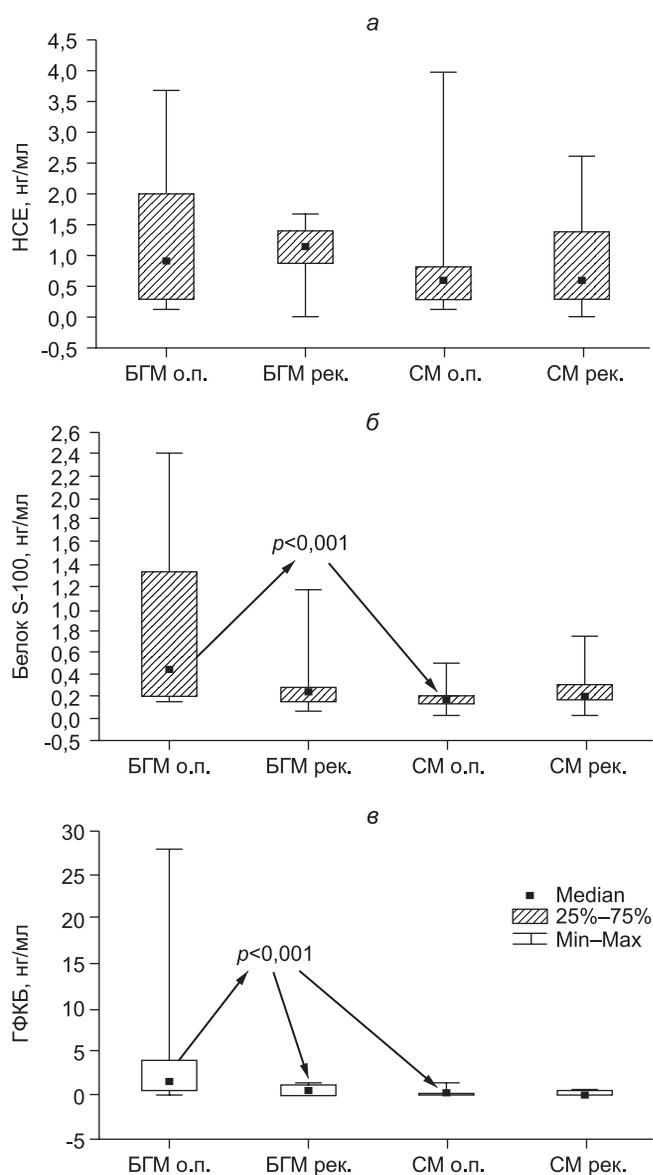


Рис. 2. Содержание мозгоспецифических белков в цереброспинальной жидкости в динамике бактериальных гнойных и серозных менингитов у детей:

а — нейронспецифическая енолаза; *б* — белок S-100; *в* — глиальный фибриллярный кислый белок.

По оси абсцисс — группы больных в разные периоды заболевания; по оси ординат — *а* — концентрация НСЕ (нг/мл); *б* — концентрация белка S-100 (нг/мл); *в* — концентрация ГФКБ (нг/мл).

и СМ, что привело к отсутствию достоверных различий в 1-й и 3-й группах, тогда как в стадии реконвалесценции при БГМ отмечена тенденция к снижению среднего значения уровня НСЕ при его увеличении в группе с СМ (см. табл. 1). Полученные результаты свидетельствовали о многофакторности патогенетических механизмов, влияющих на мозг при нейроинфекциях, индивидуальных реакциях мозга на внедрение возбудителя, что определило необходимость сопоставления уровня характерных для нейронов и глии белков в ликворе с клиническими особенностями течения менингитов у детей. В обследованной группе пациентов течение БГМ у всех детей было тяжелым, СМ — среднетяжелым, без значительных отклонений в состоянии здоровья при выписке.

У 27% детей в остром периоде БГМ и чуть меньшего

количества детей с СМ (по 21% для белков S-100 и ГФКБ и 24% для НСЕ) установлено превышение 75% процентиля концентраций этих белков в ЦСЖ. В стадии ранней реконвалесценции отмечено нарастание количества детей с превышением 75% процентиля в выборке (для каждого белка до 33 и 25% при БГМ и СМ соответственно). Вероятно, это ассоциируется с клиническими особенностями течения этих заболеваний. Отмечено, что у детей с максимально увеличенными концентрациями в ликворе нейроспецифических белков имелись неврологические признаки, указывающие на тяжесть поражения мозговой паренхимы (длительная и выраженная внутричерепная гипертензия, нарушение сознания, заторможенность). В случае превалирования общинфекционного синдрома у детей с БГМ без признаков церебральной недостаточности уровень белков, специфичных для нейронов и астроглии, в ЦСЖ в остром периоде болезни был существенно ниже. Установленное в настоящем исследовании нарастание концентрации НСЕ у детей с СМ в стадии реконвалесценции может свидетельствовать о пролонгированных воспалительных процессах в мозговой паренхиме при относительно легком течении острого периода заболевания. Наши наблюдения отчасти ассоциируются с данными о нарастании уровня нейроспецифических белков при легкой черепно-мозговой травме в отличие от тяжелой травмы [18]. По мнению авторов, это — следствие медленного нарастания деструктивно-воспалительных реакций при легком повреждении мозга. Можно предположить, что увеличение концентрации НСЕ в стадии реконвалесценции — одна из причин формирования когнитивных нарушений при серозном менингите у детей. Так, снижение кратковременной и оперативной памяти в остром периоде СМ выявлено у 86% детей при сохранении когнитивных нарушений спустя 3 и 6 мес после перенесенного заболевания у 46 и 32% детей соответственно. Это согласуется с общепринятыми клиническими наблюдениями, свидетельствующими о доброкачественном течении острого периода СМ, приводящего, однако, в 40—50% случаев к развитию функциональных нарушений ЦНС (церебрастенический, гипертензионный синдромы, невроподобные и невротические состояния).

Участие специфических для нейронов и глии белков в патогенезе острых нейроинфекционных заболеваний подтверждают литературные данные. Установлено, что их избыточный синтез с выходом в интраклеточное пространство может как усиливать воспалительные реакции, повреждая ткань мозга, так и быть триггером аутоиммунных реакций с пролонгированием иммунопатологического процесса [19, 20]. Учитывая полифункциональность нейроспецифических белков, их участие в синаптогенезе, регуляции иммунного ответа, выполнении трофических функций, обеспечивающих метаболизм и координированное действие нейронной сети мозга, их появление в ЦСЖ может иметь самостоятельное патогенетическое значение. Так, установлена способность некоторых белков семейства S-100 проявлять свойства цитокинов, участвовать в модуляции экспрессии ряда генов, ответственных за синтез биологически активных молекул, в организации глиально-нейрональных и глиально-глиальных взаимодействий [21, 22]. Показано, что при значительном увеличении концентрации секретируемого белка S-100 он может оказывать нейротоксическое действие на нейроны и глию, индуцируя апоптоз и некроз клеток путем индукции синтеза провоспалительных цитокинов и ферментов оксидативного стресса [19, 23]. Совокупное действие увеличенных концентраций S-100 может способствовать генерализации воспаления и нейродегенерации и высвобождению других нейротоксичных молекул, что доказано экспериментально [24, 25]. С другой стороны, не исключено, что усиление экспрессии S-100 при повреждении может способствовать саногенезу, восстановлению по-

врежденных нейронов, повышению устойчивости к возможным последующим повреждениям. В.П. Молочный и соавт. [26] установили наличие прямой корреляции уровня НСЕ и ГФКБ в ликворе и крови с выраженностью общемозгового, менингеального и энцефалического синдромов при БГМ. Это позволило авторам рекомендовать использование данных показателей в качестве критерия тяжести поражения мозга при осложненном течении БГМ [26]. Аналогичные результаты получены Л. Кера [27, 28], показавшим достоверное нарастание уровня НСЕ и белка S-100 в ликворе больных с очень тяжелым течением менингоэнцефалита по сравнению с умеренным и легким течением болезни. В то же время имеются сведения о более значительном увеличении содержания белка S-100 в ЦСЖ при вирусных энцефалитах по сравнению с БГМ, что позволило авторам рекомендовать его определение для дифференциальной диагностики [15]. По данным О.Н. Сумлиной и соавт. [29], уровень НСЕ в ликворе коррелирует с более значительным повреждением нейронов при клещевых энцефалитах и может служить ранним прогностическим маркером формирования очаговой формы этого заболевания. Аналогичные результаты получены и J.W. Park и соавт. [30], указавшими на увеличение уровня белка S-100 в ликворе пациентов с повреждением нейронов по данным магнитно-резонансной терапии при нейроинфекционной патологии.

Таким образом, результаты проведенного исследования и данные современной литературы указывают на участие специфических для нейронов и глии белков в патогенезе вирусных и бактериальных менингитов у детей. Увеличение концентрации этих белков в ЦСЖ при менингитах у детей свидетельствует о возможности их использования в качестве маркеров тяжести повреждения нейронов и глии для уточнения вовлеченности в патологический процесс различных структур мозга и должны учитываться при дальнейшем наблюдении за здоровьем и развитием ребенка. Представляется перспективным и необходимым дальнейшее изучение взаимосвязи инфекционного поражения мозга с формированием неврологических последствий в резидуальном периоде, поиск эффективных лабораторных критериев для прогноза нарушений деятельности ЦНС вследствие перенесенного детьми нейроинфекционного заболевания.

Выводы

1. Обнаружено максимальное увеличение концентрации белка S-100, глиального фибриллярного кислого белка и НСЕ в ликворе в остром периоде БГМ по сравнению с СМ у детей, что может свидетельствовать о более значительном повреждении астроглиальных клеток, формирующих гематоэнцефалический барьер, при внедрении бактериального возбудителя в оболочки мозга. В стадии реконвалесценции выявлено снижение концентрации астроглиальных белков по сравнению с острым периодом при отсутствии динамики в содержании НСЕ.

2. При СМ выявлено увеличение уровня НСЕ в ликворе в стадии реконвалесценции по сравнению с острым периодом заболевания, что может свидетельствовать о пролонгированных нарушениях внутриклеточного метаболизма нейронов.

3. Необходимы дальнейшие исследования и наблюдения за развитием детей и формированием их когнитивных функций после перенесенного гнойного или серозного менингита с целью разработки дифференцированного подхода к их реабилитации в стадии реконвалесценции.

Благодарности. Авторы выражают благодарность руководителям отделов вирусологии и молекулярно-биологических методов исследования и медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ НИИДИ ФМБА России д-ру биол. наук Е.А. Муриной и проф. серозного менингита. Сидоренко за предоставление данных по этиологической диагностике менингитов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 7—8, 10—17, 19—25, 27—28, 30 см. REFERENCES)

1. Алексеева Л.А., Сорокина М.Н. Диагностическое значение белкового спектра ЦСЖ при бактериальных и вирусных менингитах у детей. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2001; (7): 215—9.
2. Скрипченко Н.В., Алексеева Л.А., Ивашченко И.А., Кривошееенко Е.М. Цереброспинальная жидкость и перспективы ее изучения. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2011; 56(6): 88—97.
3. Железничкова Г.Ф., Скрипченко Н.В., Алексеева Л.А. Иммуные факторы в цереброспинальной жидкости при бактериальных, грибковых или паразитарных нейроинфекциях. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2012; (11): 43—7.
4. Сорокина М.Н., Иванова В.В., Скрипченко Н.В. *Бактериальные гнойные менингиты у детей*. М.: Медицина; 2003.
5. Алексеева Л.А., Скрипченко Н.В., Бессонова Т.В. Полиморфизм интраклеточного ответа при нейроинфекционных заболеваниях у детей. *Нейрохирургия и неврология детского возраста*. 2010; (1): 39—46.
6. Штарк М.Б. *Мозгоспецифические белки (антигены) и функции нейрона*. М.: Медицина; 1985.
7. Трайлин А.В., Левада О.А. Белок S100B: нейробиология, значение при неврологической и психиатрической патологии. *Международный неврологический журнал*. 2009; (1): 166—75.
8. Лисянский Н.И., Черенько Т.М., Комиссаренко С.В. Определение нейроспецифических белков в крови больных с закрытой черепно-мозговой травмой и их диагностическое значение. *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова*. 1993; 93(2): 50—3.
9. Молочный В.П., Макарова Т.Е., Головкова Н.Ф., Обухова Г.Г. Нейроспецифическая енолаза и глиофибрилярный кислый протеин крови и цереброспинальной жидкости как маркер повреждения ткани мозга при бактериальных гнойных менингитах у детей. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2012; (2): 48—51.
10. Сумливая О.Н., Воробьева Н.Н., Каракулова Ю.В. Оценка информативности определения нейроспецифической енолазы в сыворотке крови и ликворе у больных в остром периоде клещевого энцефалита. *Здоровье семьи — 21 век*. 2012; 3(3): 19-26. Available at: <http://fh-21.perm.ru/download/2012-3-19.pdf>.

REFERENCES

1. Alekseeva L.A., Sorokina M.N. Diagnostic value of protein spectrum of the CSF in bacterial and viral meningitis in children. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2001; (7): 215—9. (in Russian)
2. Skripchenko N.V., Alekseeva L.A., Ivashchenko I.A., Krivosheenko E.M. Cerebrospinal fluid and prospects of its study. *Rossiyskiy Vestnik perinatologii i pediatrii*. 2011; 56(6): 88—97. (in Russian)
3. Zhelezniczkova G.F., Skripchenko N.V., Alekseeva L.A. Immune factors in cerebrospinal fluid during bacterial, fungal or parasitic neuroinfections. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2012; (11): 43—7. (in Russian)
4. Sorokina M.N., Ivanova V.V., Skripchenko N.V. *Bacterial Purulent Meningitis in Children [Bakterial'nye gnoynnye meningity u detej]*. Moscow: Meditsina; 2003. (in Russian)
5. Alekseeva L.A., Skripchenko N.V., Bessonova T.V. Polymorphism intrathecal response in neuroinfectious diseases in children. *Nevrokhirurgiya i nevrologiya detskogo vozrasta*. 2010; (1): 39—46. (in Russian)
6. Shtark M.B. *Brain-Specific Proteins (antigens) and the Function of the Neuron [Mozgospetsificheskie belki (antigeny) i funktsii neyronaj]*. Moscow: Meditsina; 1985. (in Russian)
7. Barger S.W., Van Eldik L.J. S100b stimulates calcium fluxes in glial and neuronal cells. *J. Biol. Chem*. 1992; 267(14): 9689—94.
8. Heizmann C.W. The multifunctional S100 protein family. *Methods Mol. Biol*. 2002; 172: 69—80.

9. Trailin A.V., Levada O.A. Protein S100V: neuroscience, value for neurological and psychiatric diseases. *Mezhdunarodnyy neurologicheskiy zhurnal*. 2009; (1): 166—75. (in Russian)
10. Arumugam T., Simeone D.M., Schmidt A.M., Logsdon C.D. S100P stimulates cell proliferation and survival via receptor for activated glycation end products (RAGE). *J. Biol. Chem.* 2004; 279(7): 5059—65.
11. Kanner A.A., Marchi N., Fazio V., Mayberg M.R., Koltz M.T., Siomin V. et al. Serum S100p. A noninvasive marker of blood-brain barrier function and brain lesions. *Cancer*. 2003; 97(11): 2806—13.
12. Lima J.E., Takayanagui O.M., Garcia L.V., Leite J.P. Use of neuron-specific enolase for assessing the severity and outcome in patients with neurological disorders. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2004; 37(1): 19—26.
13. Hamed S.A., Hamed E.A., Zakary M.M. Oxidative stress and S-100B protein in children with bacterial meningitis. *BMC Neurol.* 2009; 9: 51.
14. Unden J., Christensson B., Bellner J., Ailing C., Romner B. Serum S100B levels in patients with cerebral and extracerebral infectious disease. *Scand. J. Infect. Dis.* 2004; 36(1): 10—3.
15. Zhang L.Y., Li Y., Jin M.F. Diagnostic values of neopterin and S100b for central nervous system infections in children. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. 2014; 16(4): 380—3.
16. Shihara T., Miyake T., Izumi S., Sugihara S., Watanabe M., Takashi J. et al. Serum and CSF biomarkers in acute pediatric neurological disorders. *Brain Dev.* 2014; 36(6): 489—95.
17. Infante J.R., Martinez A., Ochoa J., Canadillas F., Torres-Avisbal M., Vallejo J.A. et al. Level of S-100 and neuron-specific enolase in cerebrospinal fluid from subjects with neurological pathologies. *Rev. Esp. Med. Nucl.* 2003; 22(4): 238—43.
18. Lisiany N.I., Cheren'ko T.M., Komissarenko S.V. Determination neurospecific proteins in the blood of patients with closed craniocerebral injury and their diagnostic value. *Zhurnal neurologii i psikhatrii imeni S.S. Korsakova*. 1993; 93(2): 50—3. (in Russian)
19. Hu J., Ferreira A., Van Eldik L.J. S100 beta induces neuronal cell death through nitric oxide release from astrocytes. *J. Neurochem.* 1997; 69(6): 2294—301.
20. Barger S.W., Basile A.S. Activation of microglia by secreted amyloid precursor protein evokes release of glutamate by cystine exchange and attenuates synaptic function. *J. Neurochem.* 2001; 76(3): 846—54.
21. Adami C., Sorci G., Blasi E. et al. S100B Expression in and effects on microglia. *Glia*. 2001; 33(2): 131—42.
22. Nishiyama H., Knopfel T., Endo S., Itohara S. Glial protein S100B modulates long-term neuronal synaptic plasticity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002; 99(6): 4037—42.
23. Lam A.G., Koppal T., Akama K.T., Guo L., Craft J.M., Samy B. et al. Mechanism of glial activation by S100B: involvement of the transcription factor NFκB. *Neurobiol. Aging*. 2001; 22(5): 765—72.
24. Li Y., Barger S.W., Liu L., Mrak R.E., Griffin W.S. S100p induction of the proinflammatory cytokine interleukin-6 in neurons. *J. Neurochem.* 2000; 74(1): 143—50.
25. Liu L., Li Y., Van Eldik L.J., Griffin W.S., Barger S.W. S100B-induced microglial and neuronal IL-1 expression is mediated by cell type-specific transcription factors. *J. Neurochem.* 2005; 92(3): 546—53.
26. Molochnyy V.P., Makarova T.E., Golovkova N.F., Obukhova G.G. Neuron specific enolase and protein gliofibrillary acidic blood and cerebrospinal fluid as a marker of tissue damage in the brain bacterial purulent meningitis in children. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal*. 2012; (2): 48—51. (in Russian)
27. Kupa L. Evaluation of cerebrospinal fluid and plasma neuron-specific enolase (NSE) concentration in patients with purulent, bacterial meningitis. *Przegl. Epidemiol.* 2009; 63(1): 23—8.
28. Kupa L., Oczko-Grzesik B. Evaluation of cerebrospinal fluid S100B protein concentration in patients with purulent, bacterial meningitis — own observations. *Przegl. Epidemiol.* 2013; 67(3): 415—9, 525—8.
29. Sumlivaya O.N., Vorob'eva N.N., Karakulova Yu.V. Evaluation of informativity determining neuron specific enolase in serum and cerebrospinal fluid in patients with acute encephalitis. *Zdorov'e sem'i — 21 vek*. 2012; 3(3): 19—26. Available at: <http://th-21.perm.ru/download/2012-3-19.pdf>. (in Russian)
30. Park J.W., Suh G.I., Shin H.E. Association between cerebrospinal fluid S100B protein and neuronal damage in patients with central nervous system infections. *Yonsei. Med. J.* 2013; 54(3): 567—71.

Поступила 15.11.16

Принята к печати 29.11.16

ЦИТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 618.19-076.5

Волченко Н.Н., Борисова О.В., Ермолаева А.Г., Мельникова В.Ю., Петров А.Н.

ТРУДНОСТИ ЦИТОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА МАТЕРИАЛЕ ТРЕПАНОБИПСИЙ

Московский онкологический институт им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 125284, Москва

В статье на основании литературы и собственных данных проанализированы причины ошибочных цитологических заключений на материале трепанобиопсий молочной железы. Наиболее распространенные доброкачественные поражения, при которых наиболее часто отмечают цитологическую гипердиагностику рака, — фиброаденома с пролиферацией эпителия и склерозирующий аденоз. В то же время некоторые варианты долькового рака молочной железы, тубулярный, папиллярный рак, а также высокодифференцированную инвазивную карциному неспецифического типа из клеток с невыраженной ядерной атипией иногда крайне сложно диагностировать на клеточном уровне. Чувствительность цитологической диагностики патологии молочной железы по материалу трепанобиопсий, по данным нашего института, составляет 97,5%, специфичность — 98,5%. Число ложноположительных цитологических заключений о наличии злокачественной опухоли составляет 0,6%, ложноотрицательных — 1,5%. Достоверность цитологического исследования составляет 97,4%, эффективность — 96,3%.

Ключевые слова: CNB-биопсия; молочная железа; цитологическое исследование.

Для корреспонденции: Борисова Олеся Владимировна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. отдела онкоморфологии, e-mail: borisova07@bk.ru