

УДК: 616.921.5:616.2-002.1-018.73:612.1:616.8.09-07

В.Д. Ткаченко

РІВЕНЬ НЕЙРОСПЕЦИФІЧНОГО ПРОТЕЇНУ S100B В СИРОВАТЦІ КРОВІ У ХВОРИХ НА ГРИП ТА ГОСТРІ РЕСПІРАТОРНІ ВІРУСНІ ІНФЕКЦІЇ

Комунальний заклад Дніпропетровська міська клінічна лікарня імені проф. Є.Г. Попкової

Досліджено рівень S100b у сироватці крові 40 імуннокомпетентних дорослих пацієнтів, які хворіли на типову форму грипу або ГРВІ. У 77,5% пацієнтів спостерігалось підвищення рівня S100b в крові без ознак органічних уражень ЦНС. Рівень S100b в крові є маркером енцефалопатії, який можливо використовувати в клінічній практиці для оцінки активності імунопатологічного процесу.

Ключові слова: грип, гостра респіраторна вірусна інфекція, рівень протеїну S100b в крові, енцефалопатія, головний біль.

Характерною рисою клінічної картини пандемічного грипу 2009–2010 рр., на відміну від сезонного грипу, був швидкий розвиток токсикозу та дихальної недостатності. Вже на початку пандемії була відмічена ще одна особливість пандемічного грипу — високий рівень неврологічних ускладнень. У деяких хворих клінічна картина повністю відповідала клініці енцефаліту або енцефалопатії [2]. При проведенні противірусної терапії ці симптоми швидко зникали і хворі одужували без наявних неврологічних ускладнень.

Вірусологи відмічають високий рівень нейровірулентності у пандемічних штамів, що дуже небезпечно. Зважаючи на те, що генетичні маркери нейровірулентності у вірусів грипу не ідентифіковані, визначення “нейроспецифічних білків” при неврологічних ускладненнях грипу може бути корисним для діагностики та прогнозування виникнення неврологічних ускладнень при грипі.

Аналіз періодичної вітчизняної науково-практичної літератури довів, що опубліковані роботи, у переважній більшості, присвячені описанню сучасної клініки пандемічного штаму А/Каліфорнія/Н1N1, в тому числі вивченню ускладнень з боку бронхолегеневої системи, що виникли внаслідок захворювання на гострі респіраторні вірусні інфекції (ГРВІ) [1, 6, 9]. Але захворювання на грип може призвести до інших загрозливих ускладнень, насамперед з боку нервової системи (НС) [4, 20]. Вивчення

патогенезу виникнення ускладнень з боку НС при грипі дозволять удосконалити їх діагностику.

На цей час головним напрямком у вивченні механізму уражень НС є дослідження так званих “нейроспецифічних білків”, на підставі визначення яких ґрунтуються сучасні методи неінвазивної лабораторної діагностики та терапії неврологічної патології [7, 8, 15]. Одним з найбільш поширених представників нейроспецифічних білків є протеїн S100, який міститься в астроцитах, олігодендроцитах, епендімальних, хоріоїдальних, ендотеліальних, лімфоцитарних клітинах мозку людини [12]. Протеїн S100 складається з двох субодиниць — α (з молекулярною масою 10,4 kDa) та β (з молекулярною масою 10,5 kDa), що вивільняються у ліквор та кров внаслідок загибелі вищевказаних нервових клітин. Поліпептид S100b відноситься до родини кальцій-залежних регуляторних протеїнів, що впливають на активність інших клітинних білків, а також беруть участь у міжклітинній взаємодії [17]. Доведено, що при різноманітній неврологічній патології (запаленні, травмах, інсультах, шизофренії тощо) реєструється суттєве підвищення концентрації S100b у лікворі та сироватці крові [11]. Таким чином, білок S100b розглядається у якості одного з головних маркерів, який допомагає діагностувати процеси деструкції центральної нервової системи (ЦНС) у гостру фазу захворювання.

Метою дослідження є розробка нового методу діагностики ураження ЦНС при грипі та ГРВІ шляхом визначення вмісту протеїну S100b у сироватці крові хворих.

Матеріали і методи

Методом випадкового відбору було відібрано 40 пацієнтів, що були госпіталізовані з діагнозом грип або ГРВІ до клінічної лікарня № 21 м. Дніпропетровська в сезон епідемії 2009–2010 рр. Критеріями відбору хворих у дослідження були: типові форми захворювання, вік від 18 до 65 років, відсутність будь-яких попередніх захворювань або

травм НС; відсутність хронічних ендокринних або генетичних захворювань та наявності будь-яких імунodefіцитних станів. Із дослідження були також виключені особи, які вживали наркотики або зловживали алкоголем.

В гендерному аспекті в групі спостереження дещо переважали чоловіки ($n=23$; 57,5%) над жінками ($n=17$; 42,5%; $p=0,180$ за критерієм χ^2). Медіана віку (Me; LQ–HQ) — 27; 21–35 років. Пацієнти були розподілені на дві групи: I група — хворі на грип ($n=20$); II група — хворі на ГРВІ ($n=20$). У 5 (12,5%) пацієнтів із I групи було виділено штам пандемічного грипу А/Каліфорнія/Н1N1 із змиву з носоглотки методом полімеразної ланцюгової реакції. Дослідження проведені в лабораторії обласної СЕС м. Дніпропетровська.

Визначення кількості астроцитарного білка S-100b в сироватці крові проводили згідно зі стандартною методикою конкурентного ІФА з використанням моноспецифічних поліклональних антитіл проти S-100b, чистого стандартного білка та антитіл проти IgG кролів, мічених пероксидазою хрому. Для побудови калібрувальних кривих використовували розчини відомої концентрації чистого білку S-100b — Sigma. Для оцінки результатів проводили вимірювання оптичної густини на спектрофотометрі “Anthos 2010” (Фінляндія) при довжині хвилі 492 нм [19].

Для статистичної обробки отриманих результатів використовували наступні методи: перевірка гіпотези про нормальний закон розподілу кількісних показників з використанням критерію Колмогорова-Смірнова з поправкою Лілієфорса; перевірка гомогенності дисперсій — за критеріями Фішера (F) та Левена (L); оцінка вірогідності різниці середніх — за критеріями Стьюдента (t), Колмогорова-Смірнова (K-S) і Вальда-Вольфовіця (W-W), відносних показників — за критерієм Хі-квадрат Пірсона (χ^2); порівняння з контрольною групою здорових осіб — за критерієм Даннета. Статистичні характеристики, що приводяться в тексті і рисунках, мають наступні значення: n — кількість спостережень; M (Mean) — середнє арифметичне значення, SD — стандартне відхилення, SE — стандартна похибка середнього, Me — медіана, $LQ-HQ$ — інтерквартильний розмах, C — коефіцієнт варіації. Враховуючи неоднорідність розподілу даних в різних групах — відхилення від нормального закону розподілу вмісту S-100b у пацієнтів II групи, і відповідність даному закону в I групі, аналіз проводився з використанням як параметричних, так й непараметричних методів.

Критичне значення рівня значимості (p) приймалося $\leq 5\%$. У роботі використана комп’ютерна програма статистичного аналізу Statistica v.6.1®.

Результати та їх обговорення

В усіх випадках захворювання на грип та ГРВІ розпочиналось типово з виникнення раптової слабкості, цефалгії, ознаками катару верхніх дихальних шляхів (кон’юнктивіт, гіперемія слизової ротоглотки, сухий кашель, дертя у горлі тощо), ломоти у тілі та лихоманки, яка зазвичай досягала фебрильних цифр і важко піддавалась зниженню прийомом нестероїдних ліків та застосуванням фізичних засобів охолодження. В жодному випадку в обох групах хворих не виникали ознаки “неврологічного дефіциту” та зниження свідомості менше ніж 15 балів за шкалою Глазго (of Glasgow). В обох групах у половини хворих реєструвались ускладнення з боку бронхо-легеневої системи (пневмонії I–II категорії, бронхіти, ларингіти) та ЛОР-органів (отити, синусити), які однак не потребували інтенсивної терапії і закінчились повним одужанням.

За підсумками дослідження підвищений вміст білка S-100b у сироватці крові (в середньому $M \pm SD = 0,080 \pm 0,020$ мкг/мл) було відмічено у $n=31$ (77,5%) хворих на грип та ГРВІ. З них підвищений рівень білка мали 95% ($n=19$) хворих на грип і 60% ($n=12$) хворих на ГРВІ ($p=0,008$ за критерієм χ^2).

Середні рівні протеїну S-100b в сироватці крові хворих обох груп були вірогідно вище ($p < 0,001$ за критерієм Даннета), ніж фізіологічна норма вмісту у крові означеного поліпептиду (рис. 1).

Як видно з рис. 1, у хворих на грип в середньому рівень білка S-100b у сироватці крові був вірогідно вище (за критеріями: t — $p < 0,024$, $K-S$ — $p < 0,05$ та $W-W$ — $p < 0,006$), ніж у хворих на ГРВІ. При цьому варіабельність показників була значно більше (за критеріями: F — $p < 0,001$ та L — $p < 0,001$)

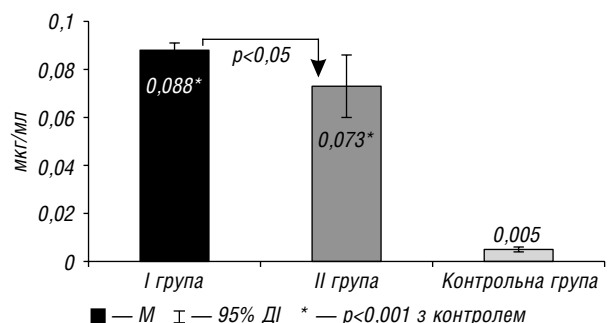


Рисунок 1. Концентрація білка S-100b (мкг/мл) у сироватці крові хворих на грип та ГРВІ

у пацієнтів II групи, ніж серед хворих на грип (коефіцієнт варіації $C=36\%$ і $C=6,2\%$ відповідно), що може бути наслідком “поліетіологічності” структури ГРВІ.

При співставленні семіотики та перебігу захворювання з рівнем нейроспецифічного білка S-100b в сироватці крові, нами не виявлено клінічних ознак, що могли б бути проявом нейропатології у хворих на грип та ГРВІ в гострому періоді захворювання, окрім скарг на головний біль. У зв'язку з чим було проаналізовано вміст білка S-100b в сироватці крові хворих на грип та ГРВІ залежно від наявності у них цефалгії. В групу з клінічно значимим головним болем включили хворих, які скаржились на цефалгію тривалістю більше ніж 3 доби, або головний біль був основною скаргою і потребував призначення нестероїдних протизапальних засобів (НПЗ).

Встановлено, що у осіб з клінічно значимою цефалгією середній рівень білка S-100b в сироватці крові мав тенденцію (за критеріями: t — $p=0,29$, $K-S$ — $p>0,10$ та $W-W$ — $p=0,149$) до більш високої концентрації і значно меншу варіабельність (за критеріями: F — $p<0,044$ та L — $p<0,004$) показників у порівнянні з хворими без суттєвих ознак головного болю (рис. 2).

Визначаючи клініко-патогенетичну значимість отриманих даних, слід враховувати нейрофізіологію протеїну S-100b. Як вказувалось вище, протеїн S-100b локалізується внутрішньоклітинно, переважно в гліальних клітинах та в незначній кількості в нейронах, і може визначатися в “мінорних” концентраціях в сироватці крові здорових людей. При цьому вплив протеїну S-100b має дозозалежний ефект. Так, в досліджах на тваринах було доведено, що невелика концентрація білка S-100b запобігає uszkodженню нейронів, тоді як значне збільшення

рівня вказаного поліпептиду має токсичний ефект [14, 16, 18]. Виходячи з клініки та перебігу грипу та ГРВІ, слід ще раз наголосити, що у пацієнтів з підвищеним рівнем білка S-100b у крові в жодному випадку загальнономозкових або менінгіальних ознак ураження ЦНС не було, тому люмбальну пункцію для діагностики нейроінфекції не проводили. Цей факт може свідчити про відсутність органічного uszkodження ЦНС і дає підстави виключити прямий вплив вірусної інфекції на нервову тканину. У зв'язку з цим виникає питання: внаслідок чого відбулося підвищення концентрації білка S-100b в сироватці крові хворих на грип та ГРВІ? Одним з ймовірних механізмів підвищення рівня S-100b в сироватці крові є виникнення порушення проникності гематоенцефалітичного бар'єру (ГЕБ) під впливом медіаторів запалення, які є атрибутом інфекційного процесу. Так, низкою вітчизняних та закордонних робіт було доведено, що після кардіо-оваскулярних втручань та при феномені післяопераційної гіпералгезії, де немає прямого ураження ЦНС, в сироватці крові відбувається підвищення рівня білка S-100b, як наслідок порушень проникності ГЕБ под впливом медіаторів запалення [3, 10, 13]. Виходячи з наведених вище фактів, виникає досить важливе питання про доцільність та небезпечність застосування в терапії грипу та ГРВІ фармакологічних препаратів, що є по суті медіаторами запалення, наприклад, інтерферонів або їх індукторів.

Таким чином, при захворюванні на грип та ГРВІ в сироватці крові майже у $3/4$ пацієнтів було встановлено підвищення рівню S100b без ознак органічного ураження ЦНС, яке може бути наслідком порушення проникності ГЕБ під впливом цитокінів імунної відповіді. Це дозволяє розглядати рівень S100b в сироватці крові не тільки як маркер енцефалопатії, а також в якості критерію активності імунопатологічного процесу, на кшталт визначення в крові кількості C-реактивного протеїну або прокальцитоніну.

Висновки

1. У 77,5% пацієнтів хворих на типову форму грипу та ГРВІ спостерігалось підвищення рівня S100b в сироватці крові.

2. Підвищення концентрації S100b в сироватці крові хворих на грип та ГРВІ не супроводжувалось ознаками органічних уражень ЦНС. Головним клінічним симптомом енцефалопатії у хворих був головний біль.

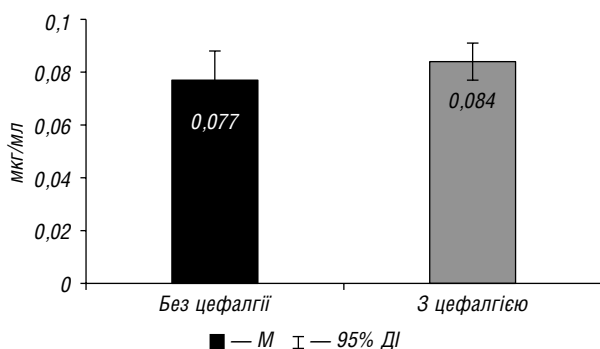


Рисунок 2. Рівень білка S-100b (мкг/мл) у сироватці крові хворих на грип та ГРВІ в залежності від наявності головного болю

3. Визначення рівня S100b в сироватці крові доцільно використовувати в клінічній лабораторній діагностиці як маркер активності системної запальної відповіді у гостру фазу захворювання.

Перспективи подальших досліджень полягають у визначенні ролі S100b при інших інфекційних хворобах, які не супроводжуються ураженням ЦНС.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Возианова Ж.И.* Пандемия гриппа А(Н1N1): особенности течения и несостоявшиеся прогнозы / Ж.И. Возианова, О.А. Голубовская // Сучасні інфекції — 2010. — № 2. — С. 4–12.
2. *Киселев О.И.* Геном пандемического вируса гриппа А/Н1N1V — 2009. Санкт-Петербург-Москва. — 2011. — 163 с.
3. *Козубенко Н.В.* Содержание S100b в мозге и сыворотке крови в условиях послеоперационной гипералгезии / Н.В. Козубенко, Ю.Ю. Кобеляцкий, Г.А. Ушакова // Архив клинич. и эксперим. медицины. — 2001. — Т. 10, № 3. — С. 301–304.
4. *Малий В.П.* Грипп: Пособие для врачей / В.П. Малий, М.Г. Романцов, Т.В. Сологуб. — СПб. — Харьков, 2007. — 108 с.
5. МОЗ України, офіційний сайт.- Режим доступу: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/pre_20100329_3.html.
6. Особливості перебігу грипу А(Н1N1) Каліфорнія, ускладненого пневмонією в умовах пандемічного спалаху / Л.Р. Шостакович — Корецька, О.О. Волікова, О.П. Шевченко [та ін.] // Сучасні інфекції. — 2010. — № 2. — С. 42–46.
7. Пат. 2389027 RU, МПК G01N33/68. Способ ранней диагностики диабетической энцефалопатии у детей / Пузикова О.З., Афонин А.А., Афонина Т.А., Михайличенко Л.С.; Заявитель и патентообладатель(и): ФГУ Ростов. НИИ акушерства и педиатрии Федерального агентства по высокотехнологичной мед. помощи; опубл. 01. 2006.
8. *Тюленев В.И.* Роль белка S-100 в функционировании клеточных ядер мозга / В.И. Тюленев, А.А. Капралов, Я.В. Белик // Укр. биохим. журнал. — 1996. — Т. 68, № 3. — С. 3–13.
9. Факторы риска неблагоприятного исхода гриппа А/Н1N1 (Калифорния), осложнившегося развитием пневмонии у больных, находившихся в отделении интенсивной терапии / И.А. Зайцев, Е.А. Чебалина, А.И. Салоникиди [и др.] // Сучасні інфекції. — 2010. — № 2. — С. 54–59.
10. Do blood levels of neuron-specific enolase and S-100 protein reflect cognitive dysfunction after coronary artery bypass? / L.S. Rasmussen, M. Christiansen, P.B. Hansen [et al.] // Acta Anaesth. Scand. — 1999. — Vol. 43, № 5. — P. 495–500.
11. *Donato R.* Intracellular and extracellular roles of S100 proteins / R. Donato // Microsc. Res. Tech. — 2003. — Vol. 60. — P. 540–551.
12. Evidence for a wide extra-astrocytic distribution of S100b in human brain / J. Steiner, H. G. Bernstein, H. Bielau [et al.] // BMC Neurosci. — 2007. — Vol. 8, № 2. — P. 822–829.
13. *Gao F.* Time course of neurone-specific enolase and S-100 protein release during and after coronary artery bypass grafting / F. Gao, D.N.F. Harris, S. Sapsed-Byrne // Brit. J. of Anaesthesia. — 1999. — Vol. 82, № 2. — P. 266–267.
14. Glutamate uptake is stimulated by extracellular S100b in hippocampal astrocytes / F. Tramontina, A.C. Tramontina, D.F. Souza [et al.] // Cell Mol. Neurobiol. — 2006. — Vol. 26, № 1. — P. 81–86.
15. *Sen J.* S100B in neuropathologic states: the CRP of the brain? / J. Sen, A. Belli // J. Neurosci Res. — 2007. — Vol. 85, № 7. — P. 1373–1380.
16. S100b counteracts effects of the neurotoxicant trimethyltin on astrocytes and microglia / C. Reali, F. Scintu, R. Pillai [et al.] // J. Neurosci Res. — 2005 — Vol. 81, № 5. — P. 677–686.
17. S100b-stimulated NO production by BV-2 microglia is independent of RAGE transducing activity but dependent on RAGE extracellular domain / C. Adami, R. Bianchi, G. Pula, R. Donato // Biochim. Biophys. Acta. — 2004. — Vol. 1742, № 1–3. — P. 169–177.
18. The astroglial-derived S100beta protein stimulates the expression of nitric oxide synthase in rodent macrophages through p38 MAP kinase activation / G. Esposito, D. De Filippis, C. Cirillo [et al.] // Life Sci. — 2006. — Vol. 78, № 23. — P. 2707–2715.
19. The neuroprotective effect of 2-oxoglutarate in the experimental ischemia of hippocampus / T.N. Kovalenko, G.A. Ushakova, I. Osadchenko, G.G. Skibo [et al.] // J. Physiol. Pharmacol. — 2011. — Vol. 62, № 2. — P. 246–329.
20. *Wright P.F., Neuzil K.M.* Influenza Viruses // Infectious Diseases. / ed. by Gorbach L.S., Bartlett G.J., Blacklow R.N. — 3rd Ed.: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. — P. 1988 — 1997.

УРОВЕНЬ НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКОГО ПРОТЕИНА S100b В СЫРОВАТКЕ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ГРИППОМ И ОСТРЫМИ РЕСПИРАТОРНО-ВИРУСНЫМ ИНФЕКЦИЯМИ

В.Д. Ткаченко

Коммунальное учреждение Днепропетровская городская клиническая больница
им. проф. Е.Г. Попковой

Исследован уровень S100b в сыворотке крови у 40 иммунокомпетентных взрослых пациентов с типичными формами гриппа и ОРВИ. У 77,5% больных отмечен повышенный уровень S100b в крови без признаков органического поражения ЦНС. Уровень S100b в крови является маркером энцефалопатии, который можно использовать в клинической практике для оценки активности иммунопатологического процесса.

Ключевые слова: грипп, острая респираторно вирусная инфекция, уровень протеина S100b в крови, энцефалопатия, головная боль.

**LEVEL OF THE NEUROSPECIFIC PROTEIN S100B IN BLOOD SERUM
OF THE PATIENTS WITH INFLUNZA AND ACUTE RESPIRATORY VIRAL INFECTIONS**

V.D. Tkachenko

Municipal establishment of Dnipropetrovsk City Clinical Hospital named after prof. Ye. G. Popkova
Blood serum level of S100b in 40 immunocompetent adult patients with typical forms of influenza and acute respiratory viral infections is investigated. 77,5% of the subjects showed increased level of S100b in blood without signs of organic damage of CNS. The blood level of S100b is the marker of encephalopathy, which can be used in clinical practice for evaluation of the activity of immunopathologic process.

Key words: influenza, acute respiratory viral infection, level of protein S100b in blood, encephalopathy, headache.

УДК 519.863:616.9

А.Л. Гепко, А.В. Шевченко

**ВИЯВЛЕННЯ ЗАКОНОМІРНОСТЕЙ ТА ОСНОВНИХ ФАКТОРІВ
ВПЛИВУ НА РОЗВИТОК ЕПІДЕМІЙ ГРИПУ В УКРАЇНІ**

Головний клінічний військовий госпіталь, Київ

Проведено аналіз факторів, що впливають на розвиток епідемій грипу. За допомогою відомих математичних моделей епідемій встановлені основні закономірностей активації зазначених факторів та виявлені закономірності розвитку епідемій грипу в Україні з метою визначення шляхів вдосконалення профілактичних та протиепідемічних заходів.

Ключові слова: прогноз, модель, епідемія, протиепідемічні заходи.

Історія людства — це історія епідемій [5]. Серед найдавніших фактів: епідемія віспи 480 р. до н.е., яка вирішила долю протистояння Персів та Греків на користь останніх, “юстіанова чума” 6-го сторіччя в Візантії (за 50 років померло біля 100 млн. чол.), епідемія бубонної чуми 14-го сторіччя (померла третина населення Азії та половина населення Європи), грип “іспанка” в 1918 році (уніс життя декілька десятків мільйонів життів) [5]. Не зважаючи на успіхи сучасної медицини питання протидії епідеміям залишається актуальним [4].

Організувати протидію епідемії набагато легше, якщо спрогнозувати її розвиток. Передбачення можливих варіантів розвитку епідемій дозволяє вчасно вжити адекватних протиепідемічних за-

ходів. Наприклад, потрібен час для проведення неспецифічної (виявлення та ізоляція захворівших, введення карантину та відміна масових суспільних заходів) та специфічної (вакцинація населення) профілактики грипу [8]. Для правильного передбачення необхідно знати та розуміти внутрішню природу закономірностей розвитку епідемій. Виявлення закономірностей розвитку є корисним як для прийняття рішень щодо протиепідемічних заходів, так і з точки зору збільшення адекватності математичних моделей, які використовуються для прогнозування наслідків епідемії при тих чи інших стратегіях протиепідемічних заходів. Отже виявлення закономірностей розвитку епідемій на основі аналізу статистичних даних є актуальним питанням. Особливу цінність при цьому представляє не тільки виявлення математичних закономірностей, але й їх увязка із фізичним (біологічним, медичним) змістом процесів, що відбуваються.

Розвиток епідемій має свої закономірності, але інколи одночасно збігається настільки багато різних факторів, що ззовні процес здається хаотичним. Тому при пошуку закономірностей розвитку епідемій необхідний ретельний аналіз статистичних даних одночасно з відокремленням закономірностей вже відомих з інших джерел,