



Н. П. ВОЛОШИНА¹, О. В. ЕГОРКИНА¹,
В. В. РЯЗАНЦЕВ², М. Е. ЧЕРНЕНКО¹

¹ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины», Харьков

²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков

Креатинкиназемия при боковом амиотрофическом склерозе

Цель — оценить активность креатинфосфокиназы (КФК) в сыворотке крови и ликворе больных боковым амиотрофическим склерозом (БАС) в качестве биомаркера заболевания.

Материалы и методы. В исследование были включены больные с диагнозом БАС, установленным на основании пересмотренных диагностических критериев El Escorial, электромиографических критериев и критериев измерения проводимости нервов для диагностики БАС, находившиеся на стационарном лечении в отделе нейроинфекций и рассеянного склероза Института неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины в 2012—2013 гг. Активность КФК определяли кинетическим спектрофотометрическим методом у 52 больных в сыворотке крови и у 35 больных в ликворе. Уровень активности КФК у больных с разными формами БАС изучали с учетом пола, оценки по шкале ALSFRS-R (Functional Rating Scale ALS, Revised) и длительности заболевания.

Результаты. Зафиксировано достоверное повышение активности КФК в ликворе больных БАС по сравнению с показателем пациентов с другими неврологическими заболеваниями и общей КФК в сыворотке крови — у половины больных БАС по сравнению с максимальным референсным значением. Среднее значение уровня КФК в сыворотке крови было достоверно выше у мужчин, в частности у мужчин с пояснично-крестцовой формой БАС. У больных с бульбарной формой заболевания независимо от пола среднее значение содержания КФК было в пределах нормы. Не выявлено достоверных различий уровня КФК в сыворотке крови между больными с началом заболевания с вовлечением верхних или нижних конечностей.

Выводы. У больных БАС отмечена повышенная регуляция КФК. Уровень активности КФК в сыворотке крови и ликворе больных БАС можно рассматривать как один из прогностических факторов выживаемости.

Ключевые слова: боковой амиотрофический склероз, креатинфосфокиназа, выживаемость.

Боковой амиотрофический склероз (БАС) — неуклонно прогрессирующее нейродегенеративное заболевание неустановленной этиологии, которое связано с поражением двигательных нейронов коры головного мозга, ствола и передних рогов спинного мозга и сопровождается развитием паралича и смертностью вследствие нарушения дыхательных и бульбарных функций в течение 2—5 лет после дебюта симптомов [1]. Неблагоприятное фатальное течение БАС, сложность диагностики и рост заболеваемости, в том числе среди лиц молодого возраста, отсутствие лечения объясняют повышенный интерес к вопросам этиологии и патогенеза болезни.

К настоящему времени отсутствует концепция, объясняющая природу БАС. Согласно современ-

ным представлениям, его можно отнести к группе мультифакторных болезней. Общая модель причин возникновения таких заболеваний включает взаимодействие генетических, эпигенетических, средовых (семейных и популяционных) и стохастических (случайных) факторов. В большинстве случаев БАС является спорадическим заболеванием, лишь 5—10% пациентов имеют семейный анамнез [6].

Выявление причин избирательной гибели двигательных нейронов при БАС является одной из приоритетных задач, стоящих перед исследователями. Вариабельность симптоматики спорадических форм БАС объясняет сложность выявления биомаркеров заболевания.

За последние десятилетия изменились лабораторные методы за счет внедрения новых технологий. В связи с этим были пересмотрены представления о

© Н. П. Волошина, О. В. Егоркина, В. В. Рязанцев, М. Е. Черненко, 2014

значении определения активности ферментов в постановке клинического диагноза. Традиционно целью определения активности ферментов было выявление заболеваний сердца, печени, поджелудочной железы, скелетных мышц, костной ткани и предстательной железы [14]. Несмотря на более широкое использование методов ДНК-диагностики, определение активности ферментов в сыворотке крови до сих пор остается значимым и наиболее доступным лабораторным методом диагностики [2, 3].

Креатинкиназа, или креатинфосфокиназа (КФК), — фермент, содержащийся в скелетной мускулатуре, миокарде, гладких мышцах и головном мозге. В тканях с высокой потребностью в энергии КФК катализирует превращение креатинфосфата в креатин с образованием аденозинтрифосфата (АТФ). КФК обеспечивает потребность в большом количестве энергии за короткий промежуток времени, например, для мышечного сокращения. В детском возрасте активность КФК выше, чем у взрослых, что связано с интенсивным ростом и участием в этом процессе тканей, богатых этим ферментом, — мышечной и нервной. У женщин активность КФК несколько ниже, чем у мужчин.

КФК является димером, состоящим из двух субъединиц: В (от brain — мозговая) и М (от muscle — мышечная). Фермент образует три изофермента: КФК-ВВ — мозговой, КФК-МВ — сердечный и КФК-ММ — мышечный [5, 10]. У практически здоровых лиц активность КФК в сыворотке крови в основном определяется активностью изофермента КФК-ММ, активность которого составляет 94—96 % от общей активности КФК [12, 13]. В мозге преобладает изофермент КФК-ВВ.

КФК-ММ (измеряемый, как правило, как общая КФК) играет важную роль в диагностике, мониторинге и оценке статуса при патологии скелетных мышц. Так, при дистрофии мышц в сыворотке существенно повышается активность КФК и трансаминаз, что связано с выходом этих ферментов из распадающихся клеток. Причины, приводящие к повышению активности КФК в крови при ряде заболеваний, можно условно разделить на две группы. К первой относятся заболевания, для которых очевидна связь между гиперкреатинкиназемией (активностью креатинкиназы в сыворотке крови, превышающей в 1,5 раза верхний предел референсного диапазона) и вовлечением в патологический процесс мышечной ткани, ко второй — редко встречающиеся заболевания или синдромы, для которых до сих пор не установлены механизмы развития гиперкреатинкиназемии (нейроакантоцитоз, синдром обструктивного апноэ сна).

Активность КФК связана с массой тела и физической активностью [11] и может быть повышена у больных БАС, имеющих заинтересованность мышечного волокна на фоне повреждения нейромышечного соединения, что приводит к амиотрофии скелетных мышц и дыхательной недостаточности.

Финансовая доступность и практически 100 % чувствительность делают определение активности КФК надежным маркером для скрининга нервно-мышечных заболеваний.

Цель работы — оценить активность КФК в сыворотке крови и ликворе больных БАС в качестве биомаркера заболевания.

Материалы и методы

В исследование были включены больные с диагнозом БАС, установленным на основании пересмотренных диагностических критериев El Escorial [7], электромиографических критериев и критериев измерения проводимости нервов для диагностики БАС [8, 9], проходившие стационарное лечение в отделе нейроинфекций и рассеянного склероза Института неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины в 2012—2013 гг.

Активность КФК в сыворотке крови была исследована у 52 больных (из них 28 мужчин и 24 женщины), в ликворе — у 35 больных (из них 22 мужчины и 13 женщин).

Активность КФК определяли при помощи набора реагентов производства DAC-SpectroMed S. R. L. кинетическим спектрофотометрическим методом.

Полученные результаты обрабатывали методами вариационной статистики с использованием программы MS Excel путем расчета средних арифметических величин и ошибок средних. Для оценки достоверности различий двух величин использовали параметрический критерий Стьюдента. Критический уровень значимости принимали равным 0,05.

Результаты и обсуждение

Больные БАС были распределены в группы с учетом формы начала заболевания. Уровень активности КФК в сыворотке крови сравнивали с референсными значениями, указанными производителем реагента и установленными у здоровых лиц (табл. 1).

Данные относительно содержания КФК в сыворотке крови в зависимости от пола больных БАС представлены в табл. 2.

Уровень КФК был повышен у 26 (50 %) больных (в среднем — $(358,00 \pm 174,57)$ МЕ/л). У больных с показателем в пределах нормы среднее значение составило $(110,68 \pm 41,42)$ МЕ/л.

Среднее значение уровня КФК у мужчин было статистически выше, чем у женщин (278,62 и 182,67 МЕ/л соответственно, $p < 0,05$).

Больные с бульбарной формой заболевания имели в основном нормальный уровень КФК в сыворотке крови (рис. 1), повышенное содержание КФК наблюдали чаще у больных с шейно-грудной и пояснично-крестцовой формами заболевания.

Среднее значение уровня КФК в сыворотке крови было достоверно выше у больных с пояснично-крестцовой формой БАС по сравнению с пациентами с бульбарной и шейно-грудной фор-

Таблиця 1
 Распределение больных в зависимости от уровня активности КФК в сыворотке крови и формы начала БАС

| Уровень КФК | Бульбарная БАС | | | Высокая БАС | | | Пояснично-крестцовая БАС | | | Шейно-грудная БАС | | |
|------------------|----------------|---------|--------|-------------|---------|--------|--------------------------|---------|--------|-------------------|---------|--------|
| | Женщины | Мужчины | Вместе | Женщины | Мужчины | Вместе | Женщины | Мужчины | Вместе | Женщины | Мужчины | Вместе |
| В пределах нормы | 8 | 1 | 9 | 1 | 0 | 1 | 2 | 0 | 2 | 6 | 8 | 14 |
| Выше нормы | 1 | 2 | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 5 | 6 | 5 | 12 | 17 |
| Всего | 9 | 3 | 12 | 1 | 0 | 1 | 3 | 5 | 8 | 11 | 20 | 31 |

мой ((323,10; 156,54 и 244,1 МЕ/л соответственно, $p < 0,05$).

Средние значения уровня КФК в сыворотке крови как женщин, так и мужчин с бульбарной формой БАС были в пределах референсных значений, при шейно-грудной форме — превышали максимальное референсное значение, но различия были статистически незначимы (рис. 2). При пояснично-крестцовой форме среднее значение уровня КФК у мужчин было достоверно выше как максимального референсного значения, так и среднего значения у женщин ($p < 0,05$).

Более высокий уровень активности КФК, по-видимому, был связан со значительно лучшей выживаемостью. У 9 (75%) больных с бульбарной формой, у 2 (25%) — с пояснично-крестцовой и у 14 (45%) с шейно-грудной уровень КФК был в пределах нормы (у половины из них балл по шкале ALSFRS-R был ниже 25) (рис. 3). Прямая зависимость уровня КФК от длительности болезни установлена только при бульбарной форме (рис. 4).

Сниженное содержание КФК в крови связано с уменьшением мышц в объеме и недостаточной физической активностью. При истощении мышц в результате дистрофического процесса активность КФК снижается, так как чем меньше мышечная масса, тем в меньшем количестве этот фермент поступает в кровь. Поскольку мышечная масса больных БАС уменьшается по мере прогрессирования заболевания, то при выраженной дистрофии и низкой мышечной массе (когда распалась уже нечему) отмечается нормализация уровня ак-

тивности КФК. Повышение уровня активности КФК в сыворотке крови при БАС может объясняться также повышенной регуляцией этого фермента для получения энергии за счет фосфатной группы в гиперкатаболическом состоянии, что позволяет предположить, что КФК может принимать участие



Рис. 1. Уровень КФК в зависимости от формы БАС

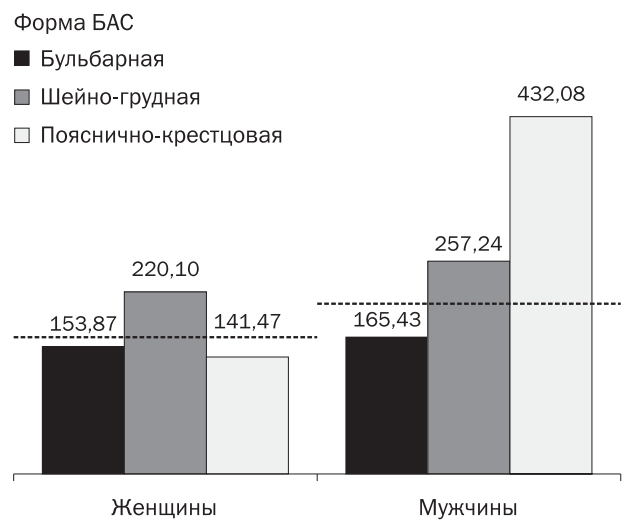


Рис. 2. Уровень КФК (МЕ/л) в сыворотке крови в зависимости от пола и формы начала БАС (пунктирная линия — максимальное референсное значение)

Таблиця 2
 Средний уровень КФК в сыворотке крови у пациентов с БАС, МЕ/л

| ЛДГ | Женщины (n = 24) | Мужчины (n = 28) |
|------------------|----------------------------|-----------------------------|
| В пределах нормы | 110,29 ± 44,14 (n = 16) | 111,31 ± 38,96 (n = 10) |
| Выше нормы | 327,45 ± 164,75 (n = 8) | 371,57 ± 181,67 (n = 18) |

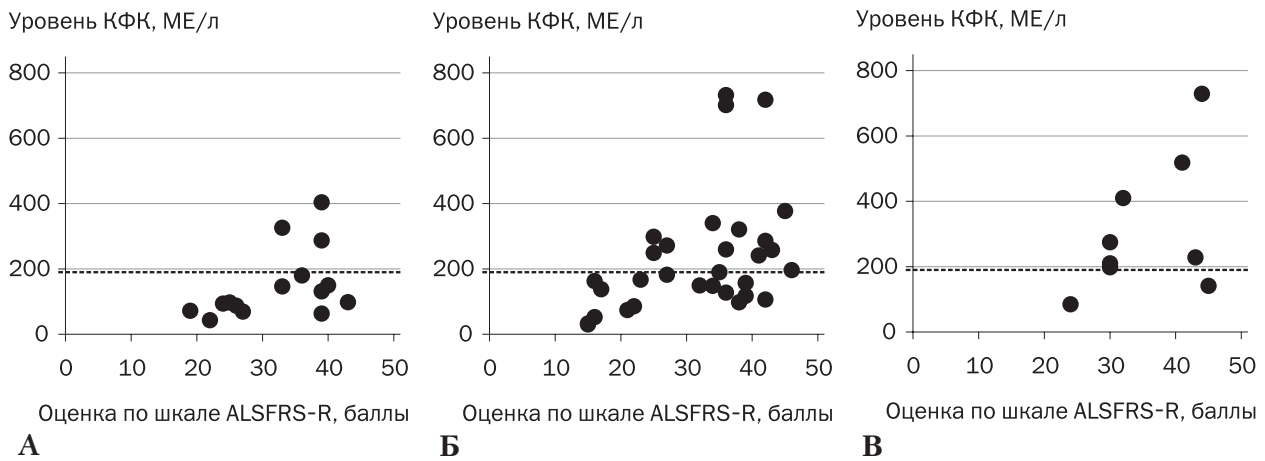


Рис. 3. Соотношение между уровнем КФК в сыворотке крови и оценкой по шкале ALSFRS-R у больных с бульбарной (А), шейно-грудной (Б) и пояснично-крестцовой (В) формой БАС (пунктирная линия — максимальное референсное значение)

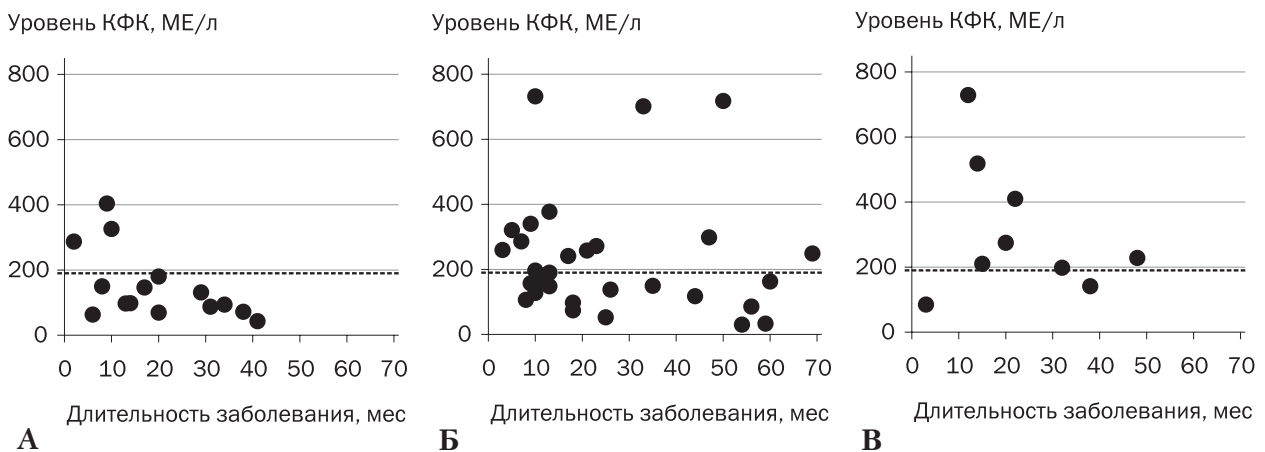


Рис. 4. Соотношение между уровнем КФК в сыворотке крови и длительностью заболевания на момент обращения в клинику у больных с бульбарной (А), шейно-грудной (Б) и пояснично-крестцовой (В) формой БАС (пунктирная линия — максимальное референсное значение)

в механизме защиты и что повышение активности КФК в сыворотке крови и ликворе, наблюдаемое у 50 % пациентов с БАС, — это адаптивная реакция в условиях гипоксии или гибели клетки и один из прогностических факторов выживаемости.

Ткань головного мозга содержит большое количество ферментов, что связано с высокой интенсивностью происходящих в ней обменных процессов, поэтому любая перестройка работы структур нервной системы будет приводить не только к дисферментопатии ткани мозга, но и к изменению активности ферментов в ликворе.

Высокое содержание КФК-ВВ отмечено в мозговых структурах (нейроны, астроциты). Изофермент КФК-ВВ специфичен для мозговой ткани, его содержание составляет до 95 % от общей активности КФК в ликворе. Активность КФК-ВВ в ликворе имеет положительную корреляционную связь с тяжестью травматического повреждения мозга [4].

Поскольку все метаболические, воспалитель-

ные и дегенеративные изменения, происходящие в ЦНС, отражаются на физико-химических параметрах ликвора, его исследование имеет важное, порой решающее, значение для своевременной диагностики вида поражения ЦНС.

Активность КФК в ликворе измерена у 35 пациентов. Группу сравнения составили 10 пациентов с другими неврологическими заболеваниями, включая мышечные. Содержание КФК в ликворе больных БАС было достоверно ($p < 0,05$) выше, чем максимальное референсное значение — соответственно 8,98 и 5,00 МЕ/л, в группе сравнения этот показатель в среднем составил 27,91 МЕ/л. Группа сравнения не могла быть учтена, т. к. другие неврологические заболевания включали мышечные заболевания.

Уровень КФК в ликворе был повышен у 17 (49 %) больных со средним значением уровня КФК ((15,92 ± 13,53) МЕ/л). Среднее значение содержания КФК у больных с нормальным значением данного показателя составило (2,43 ± 1,14) МЕ/л.

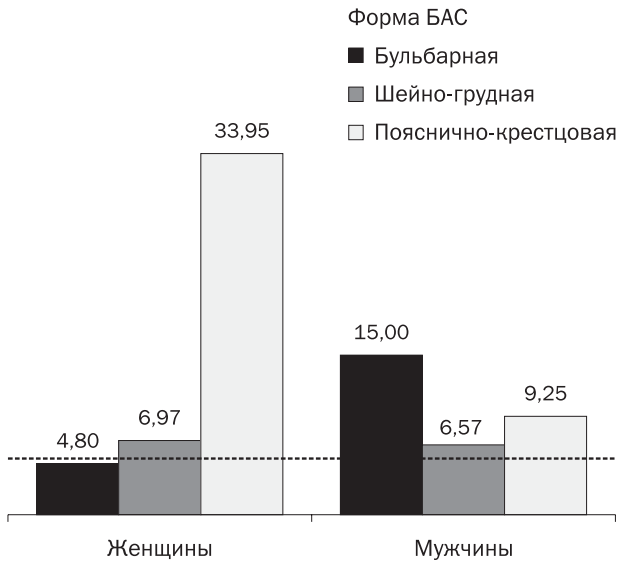


Рис. 5. Уровень КФК в ликворе в зависимости от пола и формы начала БАС (пунктирная линия — максимальное референсное значение)

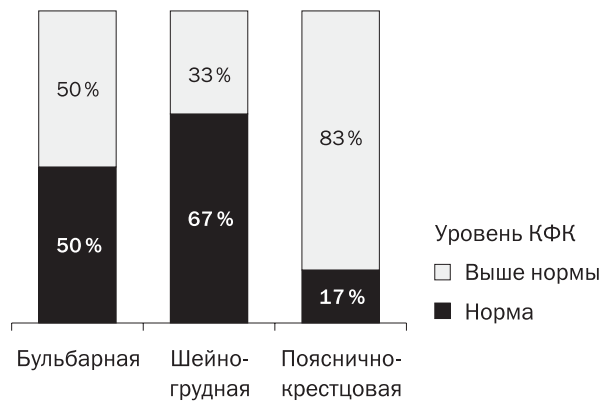


Рис. 6. Распределение больных в зависимости от уровня КФК в ликворе и формы БАС

Установлен более высокий уровень КФК в ликворе у женщин — 10,29 и 8,20 МЕ/л соответственно, но различия были недостоверны.

Анализ активности КФК в ликворе больных с разными формами БАС показал значительное повышение при пояснично-крестцовой форме (17,48 МЕ/л по сравнению с 8,63 и 6,68 МЕ/л при бульбарной и шейно-грудной форме соответственно), однако различия были недостоверны из-за малого количества проб ликвора у пациентов с данной формой заболевания.

Средние значения уровней КФК в ликворе у женщин, кроме женщин с бульбарной формой, и у мужчин при всех формах заболевания были выше максимального референсного значения, но различия были недостоверны. При бульбарной форме средний уровень КФК был в 3 раза выше у мужчин, при пояснично-крестцовой — у женщин, но разли-

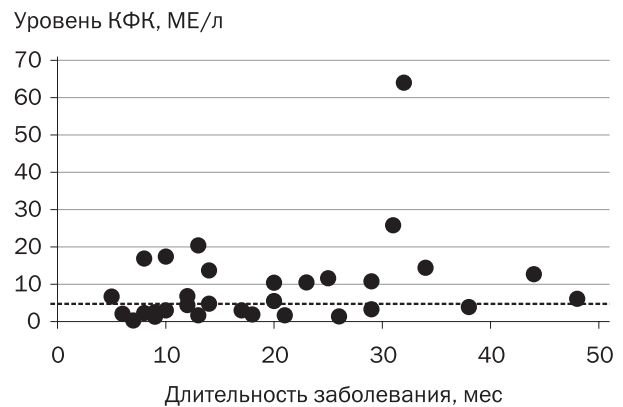
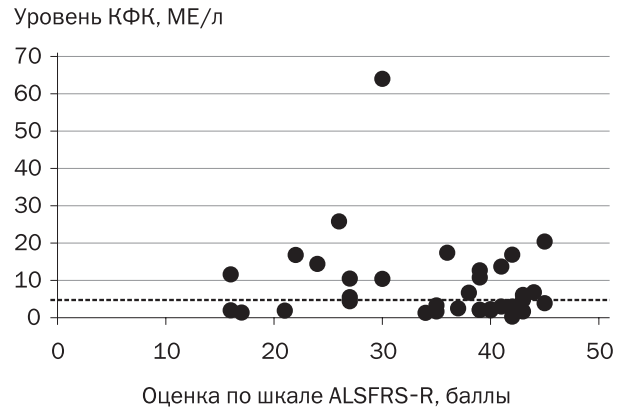


Рис. 7. Соотношение значений уровня активности КФК в ликворе больных с БАС (пунктирная линия — максимальное референсное значение)

чия были недостоверны, возможно, из-за недостаточного числа пациентов (рис. 5).

Не выявлено значимых отличий по уровню КФК в ликворе у пациентов с разными формами БАС.

При пояснично-крестцовой форме БАС доля больных с повышенным уровнем КФК в ликворе была большей (рис. 6).

В группе больных БАС корреляций уровня активности КФК с длительностью заболевания и оценкой по шкале ALSFRS-R не выявлено (рис. 7).

Вопрос о роли активности КФК в сыворотке крови и ликворе у больных с разными формами БАС требует дальнейшего изучения.

Выводы

Содержание общей КФК в сыворотке крови было повышено у половины больных БАС.

Среднее значение уровня КФК в сыворотке крови было достоверно выше у мужчин, в частности у мужчин с пояснично-крестцовой формой БАС.

У больных с бульбарной формой заболевания независимо от пола среднее значение уровня КФК было в пределах нормы.

Не выявлено достоверных различий уровня КФК в сыворотке крови у больных, у которых заболевание начиналось с вовлечения нижних или верхних конечностей.

Литература

1. Боковой амиотрофический склероз / Под ред. И. А. Завалишина. — М.: Гэотар-Медиа, 2009. — 272 с.
2. Козлов А. В., Берестовская В. С., Ребякова Е. Н. Гиперкреатинкиназемия как лабораторный маркер // Лаб. диагностика. — 2012. — № 1 (26). — С. 27—31.
3. Козлов А. В., Берестовская В. С., Ребякова Е. Н. Гиперкреатинкиназемия как лабораторный маркер (продолжение) // Лаб. диагностика. — 2012. — № 2 (27). — С. 34—38.
4. Методы лабораторного исследования цереброспинальной жидкости: Учеб. пособие, сост. Н. В. Инюткина, С. Н. Шахина, М. Ф. Фейзулла, В. С. Кузнецова. — М.: ФУВ МОНИКИ, 2008. — 64 с.
5. Основы биохимии / Под ред. Ю. А. Овчинникова. — М.: Мир, 1981. — Т. 1. — 534 с.
6. Andersen P. M., Al-Chalabi A. Clinical genetics of amyotrophic lateral sclerosis: what do we really know? // Nat. Rev. Neurol. — 2011. — Vol. 7. — P. 603—615.
7. Brooks B. R., Miller R. G., Swash M. et al. El Escorial revisited: revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis // Amyotroph. Lateral Scler. Other Motor Neuron. Disord. — 2000. — Vol. 1. — P. 293—299.
8. De Carvalho M., Dengler R., Eisen A. et al. Electrodiagnostic criteria for diagnosis of ALS // Clin. Neurophysiol. — 2008. — Vol. 119. — N 3. — P. 497—503.
9. De Carvalho M. D., Swash M. Awaji diagnostic algorithm increases sensitivity of El Escorial criteria for ALS diagnosis // Amyotroph. Lateral Scler. — 2009. — Vol. 10. — P. 53—57.
10. Eppenberger H. M., Eppenberger M., Richterich R. et. al. The ontogeny of creatine kinase isoenzymes // Dev. Biol. — 1964. — Vol. 10. — P. 1—16.
11. Kyriakides T., Angelinib C., Schaefer J. et al. EFNS guidelines on the diagnostic approach to pauci- or asymptomatic hyperCKemia // Eur. J. Neurol. — 2010. — Vol. 17. — P. 767—773.
12. Menache R., Rubinstein I., Gaist L. et. al. Creatine kinase isoenzymes in normal and pathological sera // Clinica Chimica Acta. — 1968. — Vol. 19. — P. 33—35.
13. Somer H., Kontinen A. Demonstration of serum creatine kinase isoenzymes by fluorescence technique // Clinica Chimica Acta. — 1972. — Vol. 40. — P. 133—138.
14. Wu A. H., Apple F. S., Gibler W. B. et al. National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases // Clin. Chem. — 1999. — Vol. 45. — P. 1104—1121.

Н. П. ВОЛОШИНА¹, О. В. ЄГОРКІНА¹,
В. В. РЯЗАНЦЕВ², М. Є. ЧЕРНЕНКО¹

¹ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України», Харків

²Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України, Харків

Креатинкіназемія при бічному аміотрофічному склерозі

Мета — оцінити активність креатинфосфокінази (КФК) у сироватці крові та лікворі хворих на бічний аміотрофічний склероз (БАС) як біомаркер захворювання.

Матеріали і методи. До дослідження залучено хворих з діагнозом БАС, установленим на підставі переглянутих діагностичних критеріїв El Escorial, електроміографічних критеріїв та критеріїв вимірювання нервової провідності для діагностування БАС, які проходили стаціонарне лікування у відділі нейроінфекцій та розсіяного склерозу Інституту неврології, психіатрії та наркології НАМН України у 2012—2013 рр. Активність КФК визначено кінетичним спектрофотометричним методом у 52 хворих у сироватці крові та у 35 хворих у лікворі. Активність КФК хворих з різними формами БАС вивчали з урахуванням статі, оцінки за шкалою ALSFRS-R (Functional Rating Scale ALS, Revised) і тривалості захворювання.

Результати. Зафіксовано достовірне підвищення активності КФК у лікворі хворих на БАС порівняно з показником пацієнтів з іншими неврологічними захворюваннями та загальною КФК у сироватці крові у половини хворих на БАС порівняно з максимальним референсним значенням. Середнє значення рівня КФК у сироватці крові було достовірно вище у чоловіків, зокрема у чоловіків з попереково-крижовою формою БАС. У хворих з бульбарною формою захворювання незалежно від статі середнє значення вмісту КФК було в межах норми. Не виявлено достовірної різниці щодо рівнів КФК у сироватці крові між хворими з початком захворювання із залученням верхніх або нижніх кінцівок.

Висновки. У хворих на БАС виявлено підвищену регуляцію КФК. Рівень активності КФК у сироватці крові та лікворі хворих на БАС можна розглядати як один із прогностичних чинників виживаності.

Ключові слова: бічний аміотрофічний склероз, креатинфосфокіназа, виживаність.

N. P. VOLOSHINA ¹, O. V. EGORKINA ¹,
V. V. RYAZANTSEV ², M. E. CHERNENKO ¹

¹SI «Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of NAMS of Ukraine», Kharkiv

²Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of NAMS of Ukraine, Kharkiv

Creatine kinasemia in amyotrophic lateral sclerosis

Objective — to evaluate the activity of the enzyme creatine phosphokinase (CPK) of serum and cerebrospinal fluid as a biomarker of the disease in patients with amyotrophic lateral sclerosis (ALS).

Methods and subjects. Patients with ALS were examined. ALS was defined by revised El Escorial diagnostic criteria, electromyographic criteria and measurement criteria of nerve conduction for the diagnosis of ALS. Patients received treatment in the department of neuroinfections and multiple sclerosis of SI INPN NAMSU in 2012—2013. CPK activity was determined by a kinetic spectrophotometric method in 52 patients in the serum and in 35 patients in the cerebrospinal fluid. CPK levels in patients with different forms of ALS were considered by gender, ALSFRS-R (Functional Rating Scale ALS, Revised) score and duration of the disease.

Results. Analysis of the finding revealed that the CPK enzyme activity of cerebrospinal fluid of ALS patients was significantly higher than the maximum reference value of CPK activity of cerebrospinal fluid of healthy people; total serum CPK was elevated in 50% of ALS patients. The mean value of serum CPK level was significantly higher in men than in women; the mean value of serum CPK levels was statistically elevated in men with lumbosacral form of ALS; patients with bulbar form of the disease, regardless of gender, had mean CPK level within the normal range; there was no significant difference in the mean values of serum CPK level of patients with onset of the disease with upper limbs involvement and with lower limbs involvement.

Conclusions. In ALS patients were observed or elevated regulation of CPK. These data of CPK levels of serum and cerebrospinal fluid of ALS patients can be considered as one of the prognostic factors of survival.

Key words: amyotrophic lateral sclerosis, creatine phosphokinase, survival.