

ОСНОВНОЙ БЕЛОК МИЕЛИНА И НЕЙРОНСПЕЦИФИЧЕСКАЯ ЕНОЛАЗА СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Астахин А.В.¹, Евлашева О.О.¹, Левитан Б.Н.¹

¹ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, e-mail: agma@astranet.ru

Проведено изучение концентрации основного белка миелина (ОБМ) и нейронспецифической енолазы (НСЕ) в сыворотке крови у 84 больных хроническим гепатитом (ХГ) (вирусной этиологии HBV, HCV – 38; алкогольной этиологии – 17; аутоиммунный гепатит – 11; гепатит смешанной этиологии - 18) и 77 циррозом печени (ЦП) (вирусной этиологии HBV, HCV, HBV+HCV – 27; первичный билиарный цирроз – 10, алкогольной этиологии – 18; смешанной этиологии - 22). Контрольная группа - 30 практически здоровых лиц (доноры). Концентрации ОБМ и НСЕ в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем 449-5830 DSL MBP и 420-10 Fujirebio НСЕ. По результатам проведенного исследования при алкогольных поражениях печени как на стадии ХГ, так и сформировавшегося ЦП наблюдалось значительное повышение концентрации ОБМ крови по сравнению с вирусными поражениями. Концентрация НСЕ у больных ЦП изучаемых этиологических групп, в отличие от ХГ, существенно не отличалась.

Ключевые слова: основной белок миелина, нейронспецифическая енолаза, хронический гепатит, цирроз печени, печеночная энцефалопатия.

MYELIN BASIC PROTEIN AND NEURONSPECIFIC ENOLASE IN SERUM IN LIVER DISEASES OF DIFFERENT ETIOLOGY

Astakhin A.V.¹, Evlasheva O.O.¹, Levitan B.N.¹

¹Astrakhan State Medical University, Astrakhan, e-mail: agma@astranet.ru

We have studied the concentration of myelin basic protein (MBP) and neuron specific enolase (NSE) in serum in 84 patients with chronic hepatitis and 77 with cirrhosis. The control group was 30 practically healthy persons (donors). The concentrations of MBP and NSE in serum were determined by ELISA using commercial test systems 449-5830 DSL MBP and 420-10 Fujirebio NSE. In result, the significant increase of MBP concentrations in blood was detected in alcoholic lesions of the livers at the stage of chronic hepatitis and stage of cirrhosis, in comparison with viral lesions of liver. The NSE concentration in patients with cirrhosis of studied etiological groups, in comparison with the NSE concentration in patients with chronic hepatitis, was not significantly different.

Keywords: myelin basic protein, neuron specific enolase, chronic hepatitis, cirrhosis, hepatic encephalopathy.

Хронический гепатит (ХГ) и цирроз печени (ЦП) являются полиэтиологическими заболеваниями. Общеизвестно, что инфицирование гепатотропными вирусами является основным этиологическим фактором, приводящим к развитию ХГ, а злоупотребление алкоголем, в свою очередь, является второй основной причиной данной патологии [3; 4].

Течение и прогноз заболеваний печени в значительной мере определяется наличием и степенью выраженности поражения центральной нервной системы (ЦНС) [3]. Печеночная энцефалопатия (ПЭ) представляет собой комплекс потенциально обратимых нервно-психических нарушений, обусловленных поражением ЦНС токсическими веществами, не обезвреженными патологически измененной печенью, возникающих прежде всего в результате острой или хронической печеночной недостаточности [2; 3; 6; 9; 10]. Учитывая крайнюю агрессивность этих веществ, можно предположить, что под их воздействием

происходит деструкция нервной ткани с высвобождением в жидкие среды организма продуктов ее распада [8].

Изучению диагностической и прогностической значимости таких маркеров нейродеструкции, как основной белок миелина (ОБМ) и нейронспецифическая енолаза (НСЕ), при различных патологических состояниях ЦНС посвящено достаточно большое количество исследований [1; 5; 7; 8; 11-14]. В то же время вопрос об их диагностической ценности при хронических диффузных заболеваниях печени (ХДЗП) различной этиологии остается мало изученным. В связи с этим изучение ОБМ и НСЕ в зависимости от этиологии ХДЗП является актуальным и перспективным.

Цель: изучить диагностическую значимость определения концентрации основного белка миелина и нейронспецифической енолазы в сыворотке крови в зависимости от этиологии ХДЗП.

Материалы и методы. Для решения поставленных задач за период с 2012 по 2014 г. было обследовано 84 больных ХГ (вирусной этиологии HBV, HCV – 38; алкогольной этиологии – 17; аутоиммунный гепатит – 11; смешанной этиологии - 18) и 77 ЦП (вирусной этиологии HBV, HCV, HBV+HCV – 27; первичный билиарный цирроз – 10, алкогольной этиологии – 18; смешанной этиологии - 22), находившихся на стационарном лечении в гастроэнтерологическом отделении ГБУЗ АО «АМОКБ». Среди обследованных больных с патологией печени была выделена группа из 17 пациентов, не вошедшая в состав больных ХГ. Эту группу составляли пациенты с острым алкогольным гепатитом (ОАГ), протекающим с симптомами выраженной печёночно-клеточной недостаточности. Контрольную группу составили 30 практических здоровых лиц (доноры).

Исследования проводились на основе собственных наблюдений и данных медицинской документации (клиническая история болезни, амбулаторная карта, заключения специалистов по параклиническим методам обследования).

Больные поступали в клинику в стадии обострения основного заболевания. При постановке диагноза использованы общепринятые в настоящее время классификации. Клинический диагноз устанавливался на основании жалоб больных, изучения анамнеза, физикальных данных, лабораторных и инструментальных методов исследования. В анамнезе уделялось особое внимание оперативным вмешательствам, гемотрансфузиям, употреблению алкоголя и внутривенных наркотических препаратов, длительному применению гепатотоксичных лекарственных препаратов, наличию наследственных заболеваний.

Критерии исключения: сопутствующая патология ЦНС, лечение препаратами, обладающими побочным нейротоксическим эффектом.

Концентрации ОБМ и НСЕ в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа при помощи наборов реагентов коммерческих тест-систем 449-5830 DSL MBP и 420-10 Fujirebio HCE.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Для количественного сравнения признаков двух несвязанных групп применяли параметрический критерий Стьюдента (t). Корреляционный анализ с расчетом коэффициента корреляции (r) проводили с использованием критерия Спирмена. Различия считали статистически значимыми при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Концентрация ОБМ у больных ХГ вирусной этиологии в среднем составила $1,9 \pm 0,27$ нг/мл, смешанной – $2,3 \pm 0,3$ нг/мл, аутоиммунной $2,17 \pm 0,19$ нг/мл, что достоверно не отличалось от результатов, полученных в группе доноров — $1,9 \pm 0,3$ нг/мл ($p > 0,05$) (рис. 1). Более значительное повышение уровня ОБМ было выявлено у больных хроническим гепатитом алкогольной этиологии, составив $2,9 \pm 0,39$ нг/мл, что достоверно превышало значения, полученные в контрольной группе, а также у больных с вирусной этиологией заболевания ($p < 0,05$). Максимальная концентрация ОБМ в сыворотке крови была выявлена в группе больных ОАГ, составив в среднем $5,4 \pm 0,17$ нг/мл, что достоверно превышало показатели, характерные как для здоровых лиц, так и для больных хроническим гепатитом вирусной, смешанной, аутоиммунной и алкогольной этиологии ($p < 0,05$). В исследуемой группе пациентов ОАГ максимальная концентрация ОБМ в периферической крови наблюдалась в 75% случаев.

Результаты, полученные при исследовании концентрации НСЕ у больных ХГ и ОАГ, несколько отличались (рис. 2).

Концентрация НСЕ у больных хроническим гепатитом вирусной этиологии составила $6,9 \pm 0,41$ нг/мл, смешанной - $7,4 \pm 0,37$ нг/мл, аутоиммунной - $6,4 \pm 0,52$ нг/мл. Полученные результаты близки и достоверно не отличались от значений, полученных в контрольной группе - $6,49 \pm 0,41$ нг/мл ($p > 0,05$).

Уровень НСЕ у больных хроническим гепатитом алкогольной этиологии в среднем составил $8,1 \pm 0,51$ нг/мл, что достоверно выше, чем в контрольной группе, а также у больных аутоиммунным и ХГ вирусной этиологии ($p < 0,05$).

Наиболее значительное повышение концентрации НСЕ, так же как и ОБМ, было выявлено у больных ОАГ, составив в среднем $14,3 \pm 0,47$ нг/мл, причём у 81% обследованных пациентов полученные результаты существенно превышали показатели, характерные для доноров, а также больных хроническим гепатитом вирусной, смешанной, аутоиммунной и алкогольной этиологии ($p < 0,05$), достигая 25 нг/мл.

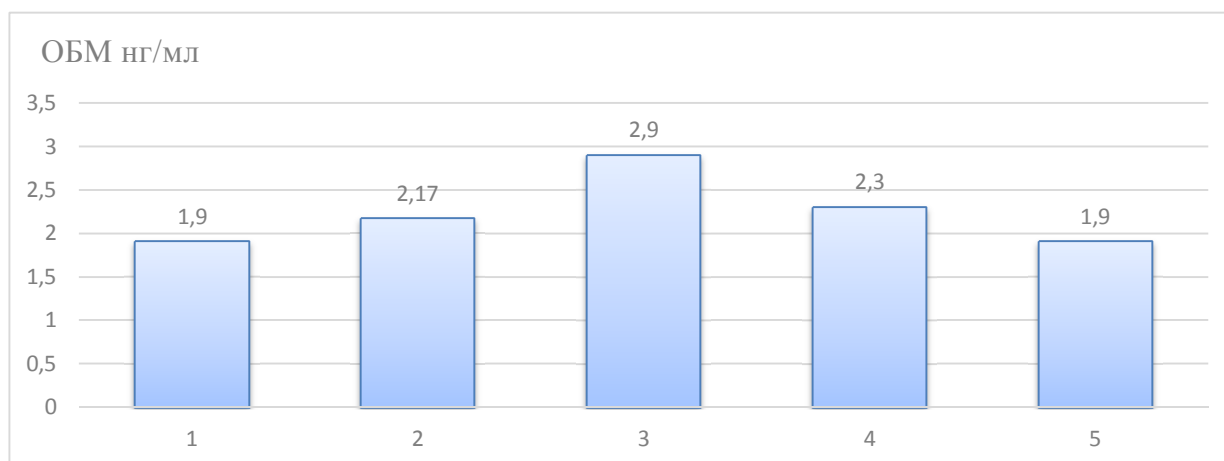


Рис. 1. Концентрация ОБМ у больных ХГ в зависимости от этиологии:

*1 – вирусный гепатит (HBV, HCV); 2 – аутоиммунный гепатит; 3 – алкогольный гепатит;
4 – гепатит смешанной этиологии; 5 – контроль*

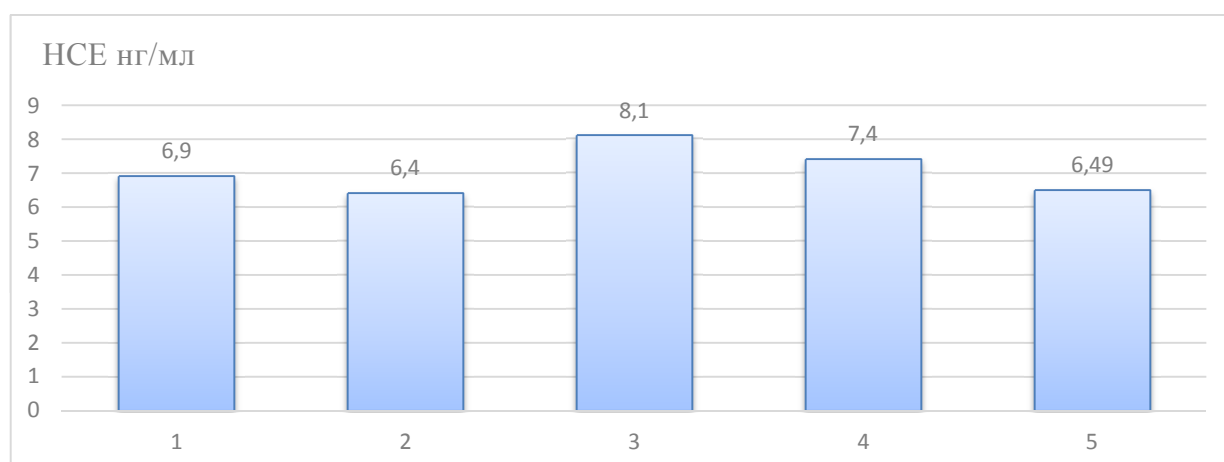


Рис. 2. Концентрация НСЕ у больных ХГ в зависимости от этиологии:

*1 – вирусный гепатит (HBV, HCV); 2 – аутоиммунный гепатит; 3 – алкогольный гепатит;
4 – гепатит смешанной этиологии; 5 – контроль*

Высокая концентрация в периферической крови изучаемых маркеров повреждения нервной ткани, таких как ОБМ и НСЕ, выявленная нами при алкогольных поражениях печени, вероятно, является проявлением демиелинизирующих процессов, нередко наблюдаемых при данной патологии. Выявленные закономерности говорят в пользу того, что причинами развития атрофических изменений головного мозга и повреждений нервных волокон (маркерами которых являются ОБМ и НСЕ), часто встречающихся у лиц, злоупотребляющих алкоголем, является не только нейротоксический эффект этанола и его

метаболизм, но и такие факторы, как дисфункция печени, нарушения питания, а также дефицит витаминов группы В и никотиновой кислоты.

Как уже говорилось выше, основным этиологическим фактором, приводящим к возникновению хронических гепатитов, является гепатотропная вирусная инфекция.

Показатели концентрации ОБМ и НСЕ в сыворотке крови больных ХГ в зависимости от вида гепатотропного вируса (В и С) были близки и достоверно не отличались друг от друга, а также от показателей, полученных в контроле ($p > 0,05$). Также не было выявлено существенных различий концентраций исследуемых маркеров деструкции нервной ткани у больных ХГС с 1 генотипом и генотипом «не-1» (2 и 3а). Следовательно, уровень в периферической крови изучаемых нами показателей не зависит от типа вирусов.

Обращает на себя внимание, что показатели концентрации ОБМ и НСЕ у больных ХГ вирусной и ХГ смешанной этиологии (вирусной+алкогольной) существенно не отличаются друг от друга, а также от результатов, полученных в контроле ($p > 0,05$). В то же время установлено, что сочетание вирусного и алкогольного факторов оказывает более существенное влияние на состояние изучаемых маркеров нейродеструкции, чем только при вирусной этиологии. Так, если у больных смешанной этиологии уровень ОБМ в 42% случаев превышал показатели, характерные для здоровых лиц, то при хронических вирусных гепатитах лишь в 30%. Концентрация НСЕ соответственно в 39% случаев превышала показатели, характерные для здоровых лиц при смешанной этиологии заболевания, а при вирусной лишь в 31%. На наш взгляд, это косвенно свидетельствует о том, что высокая концентрация изучаемых маркеров повреждения нервной ткани, выявленный у части больных ХГ, более характерна при наличии такого этиологического фактора, как злоупотребление алкоголем.

Проведённый в общей группе больных ХГ корреляционный анализ значений ОБМ и НСЕ показал отсутствие достоверных связей между данными показателями. В то же время в группе больных с алкогольными поражениями печени была выявлена положительная слабой силы корреляционная связь между концентрациями ОБМ и НСЕ ($r = 0,45$), что, на наш взгляд, косвенно свидетельствует о близких механизмах, приводящих к повышению уровня этих маркеров повреждения нервной ткани при данной патологии.

Выявленные закономерности позволяют использовать определение уровня ОБМ и НСЕ в сыворотке крови больных ХГ в качестве дополнительного маркера при диагностике различных этиологических форм хронического гепатита, прежде всего алкогольной этиологии, а также для выявления наличия демиелинизирующих процессов при данной патологии.

Учитывая, что имеются этиологические особенности характера течения ЦП, темпов

прогрессирования, развития осложнений, было проведено изучение концентрации ОБМ и НСЕ в зависимости от этиологии заболевания. У 27 больных (35%) был диагностирован ЦП вирусной этиологии, у 18 (23%) – алкогольный, у 22 (29%) в анамнезе злоупотребление алкоголем и перенесенный вирусный гепатит одновременно (смешанная этиология), у 10 больных (13%) был диагностирован первичный билиарный цирроз печени. Концентрации ОБМ и НСЕ у больных ЦП вирусной этиологии составили $2,3 \pm 0,42$ и $8,2 \pm 0,56$ нг/мл, смешанной – $2,7 \pm 0,34$ и $7,8 \pm 0,43$ нг/мл, билиарной $3,2 \pm 0,39$ и $8,3 \pm 0,39$ нг/мл, алкогольной $3,4 \pm 0,3$ и $8,9 \pm 0,44$ нг/мл соответственно.

Средние значения концентрации НСЕ в группах больных ЦП вирусной, билиарной и алкогольной этиологии достоверно ($p < 0,05$) превышали показатели в контрольной группе. В то же время отсутствовали достоверные различия концентраций НСЕ в периферической крови в зависимости от этиологии ЦП. Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что на стадии ЦП, в отличие от ХГ, концентрация данного маркера нейродеструкции в периферической крови не связана с этиологией заболевания.

Следовательно, на стадии сформировавшегося ЦП причины, обуславливающие повышение уровня НСЕ в периферической крови, несколько отличаются от таковых при гепатитах (ОАГ, ХГ). Вероятно, ведущую роль играет нейротоксическое действие продуктов эндогенной интоксикации, циркулирующих в крови при тяжелой дисфункции печени, а не прямое действие этанола и его метаболитов.

Помимо того что НСЕ прежде всего относится к внутриклеточным ферментам центральной нервной системы и считается одним из наиболее специфичных показателей ее повреждения, в то же время существует пять молекулярных форм изоферментов НСЕ, обнаруживаемых не только в нейронах, но и в нейроэндокринных клетках, скелетной мускулатуре, печени, эритроцитах и тромбоцитах, и колебания ее общего уровня могут быть связаны напрямую с тяжелой дисфункцией печени и развитием различных осложнений, характерных для ЦП.

Результаты, полученные при исследовании уровня ОБМ в периферической крови больных ЦП различной этиологии, несколько отличались.

Так, результаты исследования свидетельствуют, что при ЦП билиарной ($3,2 \pm 0,39$ нг/мл) и алкогольной ($3,4 \pm 0,3$ нг/мл) этиологии значения ОБМ достоверно повышены по сравнению с контрольной группой – $1,9 \pm 0,3$ нг/мл и больными циррозом печени вирусной этиологии – $2,3 \pm 0,42$ нг/мл ($p < 0,05$). При ЦП вирусной этиологии уровень ОБМ был наиболее низким, сопоставимым с показателями, полученными в контроле ($p > 0,05$). При ЦП смешанной этиологии ($2,7 \pm 0,34$ нг/мл) его уровень был несколько выше, чем при вирусной, и соответственно больше, чем в контроле, но достоверных различий при сопоставлении

полученных результатов не выявлено ($p>0,05$). Несмотря на достоверную разницу показателей ОБМ крови у больных ЦП алкогольной этиологии и ПБЦ по сравнению с контролем, достоверного различия в уровне исследуемого белка между этими изучаемыми группами больных мы не выявили ($p>0,05$). Средние значения концентрации ОБМ в периферической крови у больных циррозом печени смешанной и алкогольной этиологии незначительно отличались друг от друга: $2,7\pm 0,34$ и $3,4\pm 0,3$ нг/мл соответственно, достоверного различия выявлено не было ($p>0,05$). Полученные результаты представлены на рис. 3 и 4.

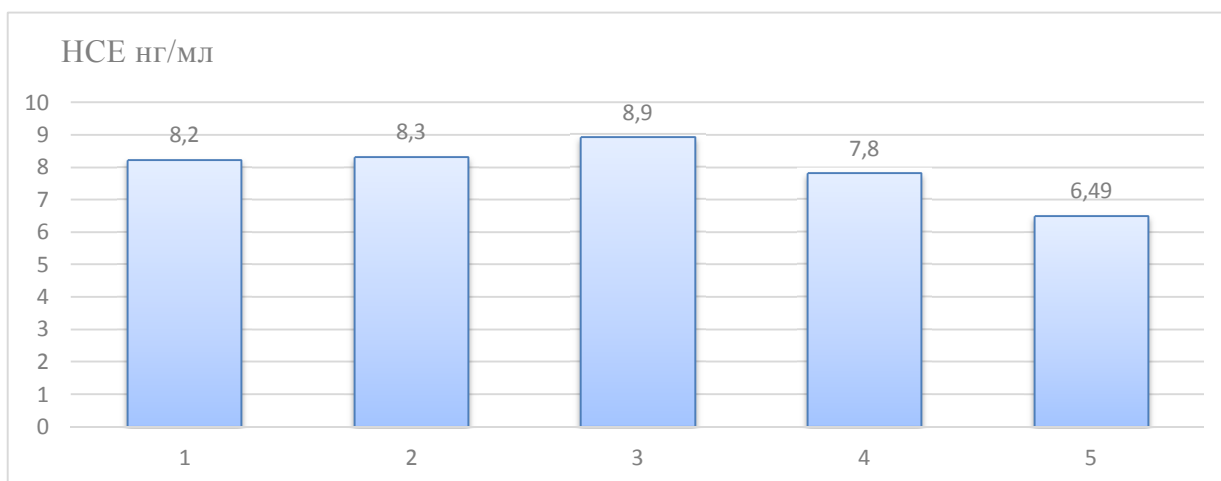


Рис. 3. Концентрация НСЕ у больных ЦП в зависимости от этиологии: 1 – ЦП вирусной этиологии (HBV, HCV); 2 – первичный билиарный цирроз; 3 – ЦП алкогольной этиологии; 4 – ЦП смешанной этиологии; 5 - контроль

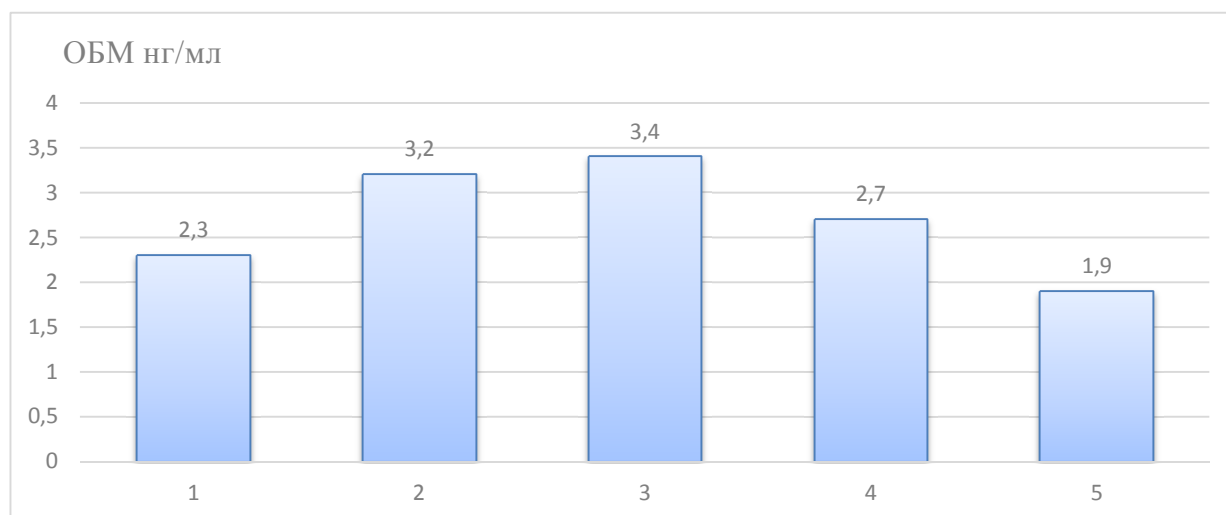


Рис. 4. Концентрация ОБМ у больных ЦП в зависимости от этиологии: 1 – ЦП вирусной этиологии (HBV, HCV); 2 – первичный билиарный цирроз; 3 – ЦП алкогольной этиологии; 4 – ЦП смешанной этиологии; 5 – контроль

Таким образом, выявленные закономерности аналогичны результатам, полученным у больных ХГ, в группе которых максимальная концентрация ОБМ плазмы так же наблюдалась при алкогольной этиологии заболевания.

Заключение. При алкогольных поражениях печени, как на стадии ХГ, так и сформировавшегося ЦП, наблюдается значительное повышение концентрации ОБМ крови по сравнению с вирусными поражениями, что подтверждает наше предположение о том, что, помимо нейротоксического действия продуктов эндогенной интоксикации, циркулирующих в крови при тяжелых поражениях печени, существенную роль в процессах нейродеструкции и демиелинизации нервных волокон играет прямой повреждающий эффект этанола и его метаболитов.

Список литературы

1. Жукова И.А. Нейронспецифическая енолаза как неспецифический маркер нейродегенеративного процесса / И.А. Жукова, В.М. Алифирова, Н.Г. Жукова // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – Т. 10. - № 2. – С. 15-21.
2. Белопасов В.В. Клиническая дифференциация печеночной энцефалопатии у больных циррозом печени / В.В. Белопасов, Р.И. Мухамедзянова, М.К. Андреев, Б.Н. Левитан // Вятский медицинский вестник. - 2002. - № 1. - С. 46-47.
3. Ивашкин В.Т. Заболевания печени и печеночная энцефалопатия / В.Т. Ивашкин, Ф.И. Комаров, И.О. Иваников // Российский медицинский журнал. – 2001. - Т. 3. - № 12. - С. 150-155.
4. Левитан Б.Н. Хроническая патология печени и кишечный микробиоценоз (клинико-патогенетические аспекты) / Б.Н. Левитан, А.Р. Умерова, Н.Н. Ларина. – Астрахань : АГМА, 2010. - 135 с.
5. Левитан Б.Н. Изменения концентрации основного белка миелина в сыворотке крови при заболеваниях печени / Б.Н. Левитан, А.В. Астахин, О.О. Евлашева // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2015. - № 2. – С. 93.
6. Павлов Ч.С. Печеночная энцефалопатия: патогенез, клиника, диагностика, терапия / Ч.С. Павлов, И.В. Дамулин, В.Т. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2016. - № 1. – С. 44-53.
7. Торопова Н.Е. Оценка информативности нейронспецифической енолазы, определяемой иммуноферментным методом / Н.Е. Торопова, Е.А. Дорофеева, С.П. Дворянинова, Ж.П. Васиева // Клиническая лабораторная диагностика. - 1995. – № 1. - С. 15–17.

8. Чехонин В.П. Основной белок миелина. Строение, свойства, функции, роль в диагностике демиелинизирующих заболеваний / В.П. Чехонин, О.И. Гурина, Т.Б. Дмитриева и соавт. // Биомедицинская химия. – 2000. – Т. 46. - № 6. – С. 549–563.
9. Arguedas M.R. Influence of hepatic encephalopathy on healthy – related quality of life in patients with cirrhosis / M.G. Arguedas, T.G. Delawrence, B.M. Mcguire // Digestive diseases and sciences. – 2003. – V. 48. – P. 1622-1626.
10. Butterworth R.F. Pathophysiology of hepatic encephalopathy: The concept of synergism // Hepatol. Res. - 2008. - V. 38. - P. 116-121.
11. Isgro M. Neuron – specific enolase as a biomarker: biochemical and clinical aspects / M. Isgro, P. Bottoni, R. Scatena // AdvExp Mad Biol. – 2015. – Vol. 867. – P. 125-143.
12. Persson L. 100 protein and neuron-specific enolase in cerebrospinal fluid and serum: markers of cell damage in human central nervous system / L. Persson, H.G. Hardemark, J. Gustaffson et al. // Stroke. — 1987. — Vol. 18. — P. 911-918.
13. Rabinowicz A. NSE as a useful prognostic factor for patients after cerebral hypoxia / A. Rabinowicz, H. Reiber // Epilepsia. - 1996. - Vol. 37. - P. 122-125.
14. Tzakos A. Structure and function of the myelin proteins: current status and perspectives in relation to multiple sclerosis / A. Tzakos, A. Troganis, V. Theodorou // Curr. Med. Chem. – 2005. – Vol. 12. – P. 1569-1587.