doi: 10.18008/1816-5095-2015-2-23-28 *Принята в печать 18.04.2015*

Специфический маркер нейродегенерации при диагностике оптических невритов

Х. М. Камилов М. С. Касимова Г. Х. Хамраева

Ташкентский институт усовершенствования врачей, ул. Паркентская, д. 51, Ташкент, 100007, Узбекистан

РЕЗЮМЕ

Офтальмология. 2015; 12 (2): 25–30

Цель. Оценка прогностической значимости нейрон-специфической енолазы (NSE) сыворотки крови и слезной жидкости при диагностике неврита зрительного нерва.

Пациенты и методы. Обследованы группы пациентов с невритом зрительного нерва (НЗН). В I группу включены 27 пациентов (27 глаз) в острой стадии НЗН. Во II группу вошли 23 пациента (23 глаза) с НЗН в стадии перехода в атрофию зрительного нерва. Контрольная (III) группа включала 10 клинически здоровых лиц (20 глаз). Уровень NSE в слезной жидкости и сыворотке крови определяли по стандартной методике с помощью автоматического электрохемилюминесцентного иммуноанализатора Cobas-e-411.

Результаты. В первой группе содержание NSE в слезной жидкости составило в среднем 0,81±0,15 нг/мл. Содержание NSE в сыворотке крови равнялось в среднем 13,67±1,44 нг/мл (норма 15,7-17,0 нг/мл). Во второй группе содержание NSE в слезной жидкости было повышено в среднем до 24,86±3,84 нг/мл, хотя ее уровень в сыворотке крови оставался в пределах нормы. В контрольной группе содержание NSE в слезной жидкости и сыворотке крови оставалось в пределах нормы (15,7±0,2 нг/мл и 16,8±0,12 нг/мл, соответственно).

Заключение. Уровень NSE в слезной жидкости у пациентов I группы был ниже нормы в 19 раз ($p < 0,05$). По-видимому, это обусловлено усилением гипоксии и активацией процессов анаэробного гликолиза в нервных клетках. Во II группе у больных с НЗН в стадии перехода в атрофию зрительного нерва отмечалось повышение содержания NSE в слезной жидкости в 1,43 раза по сравнению с нормой ($p < 0,05$), что может быть связано с началом деструктивных процессов в нервной ткани и постепенной гибелью нейронов при нейродегенерации с выходом NSE из поврежденных клеток во внеклеточную среду.

Прозрачность финансовой деятельности: Никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах и методах. Конфликт интересов отсутствует.

Ключевые слова: неврит зрительного нерва, слезная жидкость, маркер, нейродегенерация, нейрон-специфическая енолаза.

ENGLISH

Specific marker of neurodegeneration in optic neuritis diagnosing

Kh. M. Kamilov, M. S. Kasymova, G. Kh. Khamraeva
Tashkent Institute of Postgraduate Medical Education, 51, Parkentskaya Str. Tashkent, 100007, Uzbekistan

SUMMARY

Aim. To assess prognostic value of neuron-specific enolase (NSE) in blood serum and tear fluid in optic neuritis (ON).

Patients and methods. ON patients as well as healthy persons were examined. Group I included 27 patients (27 eyes) with acute ON. Group II included 23 patients (23 eyes) with ON and continuing optic nerve atrophy. Group III (controls) included 10 healthy persons (20 eyes). NSE levels in tear fluid and blood serum were measured using electrochemical luminescence immune analyzer Cobas-e-411.

Results. In group I, NSE levels in tear fluid and blood serum averaged 0.81±0.15 and 13.67±1.44 ng/mL, respectively. In group II, NSE level in tear fluid was 24.86±3.84 ng/mL (on average) while its blood serum level was within normal limits. In controls, NSE levels in tear fluid and blood serum were within normal limits (15.7±0.2 and 16.8±0.12 ng/mL, respectively).

Conclusions. In group I, NSE level in tear fluid was 19-fold less than normal ($p < 0.05$). It appears to be due to the

Контактная информация: Хамраева Гавхар Хусановна, gavhar08021982@mail.ru
Contact information: Khamraeva Gavkhar Khusanovna, gavhar08021982@mail.ru

activation of hypoxia and anaerobic glycolysis in neurons. In group II, NSE level in tear fluid was 1.43-fold higher than normal ($p < 0.05$). This may be due to neuronal degeneration and progressive death with NSE release from damaged neurons into the cellular matrix.

Financial disclosure: Authors has no financial or property interests related to this article.
The authors declare that there are no conflicts of interest.
Keywords: optic neuritis, tear fluid, marker, neurodegeneration, neuron-specific enolase.
Ophthalmology in Russia. 2015; 12 (2): 25–30

ВВЕДЕНИЕ

Проблема изучения патогенеза воспалительных заболеваний зрительного нерва является актуальной ввиду высокой заболеваемости, преимущественно в молодом и трудоспособном возрасте, развития слепоты или слабовидения у 10-35% переболевших. Для диагностики и прогноза течения заболеваний зрительного нерва важное значение имеет определение специфических маркеров апоптоза в крови. Постепенная гибель нейронов при нейродегенерации приводит к выходу нейрон-специфических ферментов и их изоферментов из поврежденных клеток во внеклеточную среду. Следовательно, определение уровня этих ферментов позволяет выяснить глубину и выраженность структурно-функциональных нарушений биомембран в центральной нервной системе [1, 2].

Среди известных нейрон-специфических белков наиболее изученной является нейрон-специфическая енолаза (NSE), которая характеризует собственно мембранные функции гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). В настоящее время она рассматривается как маркер для диагностики острых состояний с церебральной ишемией и гипоксией [3].

NSE является общим маркером всех дифференцированных нейронов. По литературным данным, качественное и количественное определение этого белка в сыворотке крови при заболеваниях нервной ткани дает ценную информацию о степени выраженности повреждений нейронов и нарушениях общей целостности ГЭБ. Повышение его уровня в крови и спинномозговой жидкости свидетельствует о повреждении головного мозга [5].

Gelderblom и соавт. провели экспериментальное исследование у крыс с моделированием ишемического инсульта и рассеянного склероза. По результатам МРТ и иммунологического исследования они установили прямую корреляционную взаимосвязь между увеличением содержания NSE в сыворотке крови и гибелью нервных клеток мозга. Максимальное повышение уровня NSE имело место на 15-й день эксперимента, а с 21-го по 30-й дни отмечалась тенденцию к его снижению. По мнению авторов, информативность данного метода обосновывает его широкое применение при различных заболеваниях нервной системы [6].

Схожие исследования были проведены при глаукоме, катаракте и при врожденной патологии сетчатки. Их результаты доказали высокую чувствительность данной методики и возможность ее широкого использования при заболеваниях зрительно-нервного аппарата [1, 4, 7].

Pleines и соавт. доказали информативность NSE у больных с тяжелыми черепно-мозговыми травмами. Они выяснили, что NSE является маркером нейровоспаления. Более того, посредством определения содержания NSE в спинномозговой жидкости можно диагностировать начало воспалительного процесса после черепно-мозговой травмы [8].

Одним из перспективных направлений является изучение данного уровня указанного фермента в крови и слезной жидкости и их сравнительный анализ при различных стадиях неврита зрительного нерва (НЗН).

ЦЕЛЬ

Оценка диагностической значимости NSE сыворотки крови и слезной жидкости при неврите зрительного нерва.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Обследованы пациенты с НЗН в возрасте от 18 до 55 лет (в среднем 27±1,4 лет). Среди обследованных было 19 мужчин и 31 женщина. Больные были рандомизированы по полу и возрасту. В I группу были включены 27 пациентов (27 глаз) в острой стадии НЗН. Во II группу вошли 23 пациента (23 глаза) с НЗН в стадии перехода в атрофию зрительного нерва. Контрольная (III) группа включала 10 клинически здоровых лиц (10 глаз).

Всем пациентам проведено комплексное обследование, включавшее стандартные офтальмологические тесты (визометрию, тонометрию, периметрию на цвета, офтальмоскопию) и специальные методы обследования: магнитно-резонансную томографию (МРТ) головного мозга и орбиты с трактографией (магнитно-резонансный томограф BRIVO-355/1,5 Tesla GE, США), спектральную оптическую когерентную томографию (ОКТ) (Carl Zeiss Meditec, Германия) и исследование зрительных вызванных потенциалов/ЗВП (Нейрон-Спектр 4-ВПМ). Все пациенты консультированы оториноларингологом, невропатологом, нейрохи-

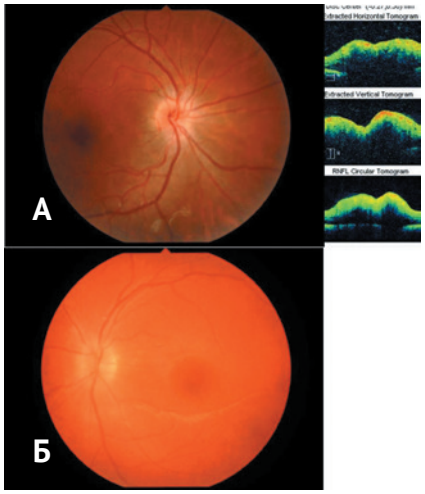

Рис. 1. Фото глазного дна. А – отмечается отек и гиперемия ДЗН, нечеткость границ, отсутствие физиологической экскавации, увеличение количества сосудов, проходящих через край ДЗН. Б – ДЗН бледного цвета, границы стушеванные, количество сосудов проходящих через край диска уменьшено, артерии сужены, вены нормального калибра.

Fig. 1. Eye fudus (photo): A – optic disc is swollen and hyperemic, its margins are blurred, no physiological cup, blood vessels arrear to be increased in number. B – optic disc is pale, its margins are blurred, blood vessels appear to be decreased in number, arteries are constricted, veins are normal.

ургом, инфекционистом, терапевтом и ревматологом. Все испытуемые дали информированное согласие на участие в клинических испытаниях.

Слезную жидкость исследовали утром после пробуждения, чтобы исключить влияние гигиенических процедур на её состав. Сбор слезной жидкости (0,15 мл) проводили из слезного озера и нижнего конъюнктивального свода с помощью канюли, не касаясь конъюнктивы и роговицы. Забор крови осуществляли из локтевой вены в количестве 5 мл. Затем из нее получали сыворотку. Собранные образцы слезной жидкости и сыворотки крови помещали в пробирки и сразу же отправляли на исследование.

Уровень NSE в слезной жидкости и сыворотке крови определяли по стандартной методике с помощью автоматического электрохемилюминесцентного иммуноанализатора Cobas-e-411 для хемилюминесцентного иммуноанализа (Roche Diagnostics, Швейцария).

Полученные данные подвергали статистической обработке на персональном компьютере Pentium-4 по программам пакета EXCEL с использованием библиотеки статистических функций. Вычисляли среднее арифметическое (M), среднее квадратичное отклонение (σ), стандартной ошибку (m), и критерий Стьюдента (t) с вероятностью ошибки (p). Различия средних величин считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами результаты позволили выявить значительные нарушения функционального состояния пораженного глаза у больных с НЗН. Острота зрения пораженного глаза в обеих группах составила в среднем 0,1±0,04, суммарное поле зрения равнялось 354,17±12,7°. При этом имело место концентрическое сужение поля зрения с наличием центральной скотомы. При биомикроскопии передний отрезок глаза был не изменен.

При прямой офтальмоскопии в I группе больных наблюдалась следующая картина: диск зрительного нерва (ДЗН) округлой или овальной формы, насыщенно розового цвета, с нечеткими границами, количество сосудов, проходящих через край ДЗН, увеличено до 17,4±2,3, калибр артерий не изменен, вены расширены, отёк перипапиллярной зоны, макулярный рефлекс сглажен (см. Рис. 1А).

При прямой офтальмоскопии в II группе больных наблюдалась следующая картина: ДЗН бледный, границы стушеванные, количество сосудов, проходящих через край диска, уменьшено до 13,1±2,0, артерии сужены, вены нормального калибра, макулярный рефлекс сглажен (см. Рис. 1Б).

В III (контрольной) группе глазное дно было без патологии.

По данным исследования ЗВП, показатель латентности (P100)

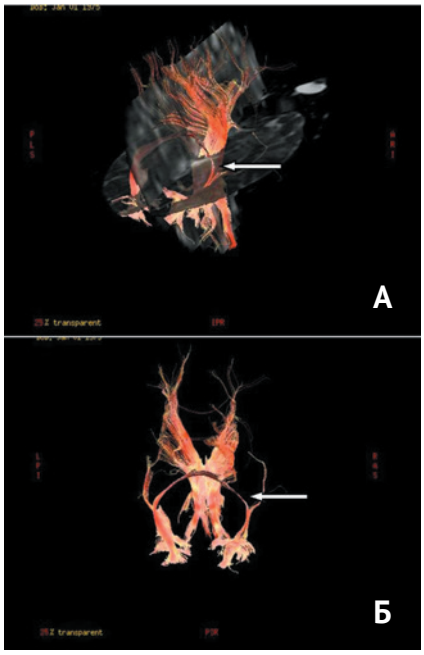

Рис. 2. МРТ-трактография головного мозга. А – отмечается истончение волокон затылочных щипцов на месте прикрепления к пучку зрительной лучистости. Б – отмечается истончение и обрыв нескольких нитей волокон затылочных щипцов на месте прикркпления к пучку зрительной лучистости.

Fig. 2. MR brain tractography: A - loss in occipital forceps fibers at the site of their binding to optic radiation bundle; B - loss and break of several occipital forceps fibers at the site of their binding to optic radiation bundle.

в I группе был увеличен по сравнению со II группой и составил в среднем 119,4±9,6 мсек при норме 102 мсек. Амплитуда ЗВП была значительно снижена во II группе по сравнению с I группой (4,38±2,24 мкВ при норме 8,4 мкВ). Снижение амплитуды свидетельствовало об уменьшении количества функционирующих аксонов.

На МР трактографии у 17 больных II группы отмечено истончение и частичный надрыв, а у 4 больных — обрыв нескольких нитей волокон затылочных щипцов в месте прикрепления к пучку зрительной лучистости и прерыванием в месте контакта, тогда как в I группе эти изменения отсутствовали (см. Рис. 2А и 2Б).

Проведенный нами анализ результатов изучения уровня NSE показал существенные изменения

Таблица 1. Содержание NSE в слезной жидкости и сыворотке крови у пациентов исследуемых групп.

Параметры	I группа (n = 27)	II группа (n = 23)	Контрольная группа (n = 10)
NSE в слезной жидкости, нг/мл	0,81±0,15*	24,86±3,84*	15,7±0,2*
NSE в сыворотке крови, нг/мл	13,67±1,44	14,76±1,23	16,8±0,12

Примечание: * — P ≤ 0,05.

Table 1. NSE levels in tear fluid and blood serum in ON patients and healthy persons.

Parameter	Group I (n = 27)	Group II (n = 23)	Control group (n = 10)
NSE (tear fluid), ng/mL	0.81±0.15*	24.86±3.84*	15.7±0.2*
NSE (blood serum), ng/mL	13.67±1.44	14.76±1.23	16.8±0.12

* — P ≤ 0.05.

Таблица 2. Информативность определения содержания NSE в слезной жидкости при неврите зрительного нерва.

Параметр	Выявление NSE	Инструментальные методы (ОКТ, ЗВП)
Чувствительность	86%	74%
Специфичность	82%	67%
Точность	86%	78%
Прогностическая ценность положительного результата (+VP)	78%	72%
Прогностическая ценность отрицательного результата (-VP)	74%	66%
В среднем	81,2%	71,4%

Table 2. Significance of NSE (tear fluid) detection in ON.

Parameter	NSE detection	Instrumental tests (OCT, VEP)
Sensitivity	86%	74%
Specificity	82%	67%
Accuracy	86%	78%
Positive predictive value (+VP)	78%	72%
Negative predictive value (-VP)	74%	66%
On average	81.2%	71.4%

этого показателя в зависимости от стадии патологического процесса и темпа прогрессирования заболевания. В норме содержание NSE в слезной жидкости равнялось 15,7±0,2 нг/мл. В I группе уровень NSE в слезной жидкости составлял в среднем 0,81±0,15 нг/мл, а в сыворотке крови — 13,67±1,44 нг/мл. Таким образом, на начальных стадиях НЗН уровень NSE в слезной жидкости был снижен по сравнению с нормой в 19 раз. В стадии гиперемии и набухания ДЗН содержание NSE в слезной жидкости оказывается ниже нормы, но ее содержание в сыворотке крови остается в пределах нормальных значений, что доказывает диагностическую значимость используемого метода. Во II группе содержание NSE в слезной жидкости было повышено и составляло в среднем 24,86±3,84 нг/мл, хотя в сыворотке крови оно оставался в пределах нормы. Таким образом, на ишемической и глиозно-атрофической стадии заболевания отмечается значительное повышение уровня NSE в слезной жидкости.

При анализе содержания NSE в сыворотке крови у пациентов контрольной и основных групп достоверные различия и патологические отклонения не были обнаружены.

Проведенный анализ отражает тенденцию к повышению содержания NSE в слезной жидкости по мере прогрессирования заболевания. При переходе заболевания из острой стадии в стадию ишемии уровень NSE в слезной жидкости повышается в 1,43 раз по сравнению с нормой.

В контрольной группе показатель NSE в слезной жидкости и сыворотке крови остается в пределах нормы (15,7±0,2 нг/мл и 16,8±0,12 нг/мл, соответственно).

Уменьшение содержания NSE в слезной жидкости у пациентов I группы в 19 раз по сравнению с нормой ($p < 0,05$), по всей вероятности, обусловлено усилением гипоксии и активацией процессов анаэробного гликолиза в нервных клетках. Во II группе у больных с НЗН в стадии перехода в атрофию зрительного нерва имел место подъем уровня NSE в 1,43 раз по сравнению с нормой ($p < 0,05$), что может быть связано с началом деструктивных процессов в нервной ткани и постепенной гибелью нейронов при нейродегенерации с выходом NSE из поврежденных клеток во внеклеточную среду. Содержание NSE позволяет выяснить глубину и выраженность структурно-функциональных нарушений биомембран в зрительном нерве.

Следует отметить следующую закономерность изменений уровня NSE в зависимости от темпа прогрессирования заболевания: в острую фазу заболевания отмечается его снижение до 3,75±0,36 нг/мл ($p < 0,05$), а при переходе в хроническую стадию — постепенное повышение до 22,49±3,71 нг/мл ($p < 0,05$). При переходе в стадию атрофии содержание NSE повышается на 43%.

НЕКОТОРЫЕ ПОВЕРХНОСТИ НУЖДАЮТСЯ В ЗАЩИТЕ

Глазная поверхность – одна из них.

Семейство Систейн® включает в себя офтальмологические средства, разработанные специально для облегчения симптомов сухости глаз, а также для защиты, сохранения и улучшения здоровья глазной поверхности[1-4].

Систейн®

№ ФСЗ 2009/03787 от 18 марта 2009 | № ФСЗ 2009/05172 от 24 сентября 2009 | № ФСЗ 2012/13526 от 27 декабря 2012 | № ФСЗ 2011/10489 от 8 сентября 2011 | № ФСЗ 2012/11762 от 20 марта 2012 | ТС № RU Д-US.АЯ46.В.59756 от 6 июня 2013 | № RU.77.99.57.003.Е.009771.12.13 от 9 декабря 2013

НЕ ЯВЛЯЕТСЯ ЛЕКАРСТВЕННЫМ СРЕДСТВОМ

Больше, чем просто защита

Alcon®

Июль 2014 RUS14SYSF021 Одобрение действительно до Июля 2015

Реклама

1. Кристенсен М.Т., Блекки С.А. Корб Д.Р., и др. Оценка эффективности новых увлажняющих глазных капель. Постер Д692 представлен на ежегодном собрании Ассоциации исследований зрения и офтальмологии, Май 2-6, 2010; Форт Лаудердале, Фл. 2. Лане С, Паух Д.Р., Вебб Д.Р., Кристенсен М.Т., Оценка времени фиксации in vivo нового препарата группы искусственных слез в сравнении с плацебо-контролем. Постер Д923 представлен на ежегодном собрании Ассоциации исследований зрения и офтальмологии. Май 3 -7, 2009; Форт Лаудердале, Фл. 3. Давитт В.О., Блюменштейн М., и др. Эффективность лечения новыми увлажняющими глазными каплями пациентов с синдромом «сухого глаза». Ж. Окул Фармакол. Тер. 2010; 26(4)347-353. 4. Гиирлинг Г. и др. Международная рабочая группа по Дисфункции Мейбомиевых желез: Отчет подкомитета по руководству и лечению дисфункции мейбомиевых желез. IOVS 2011:52(4).

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. ПЕРЕД ПРИМЕНЕНИЕМ НЕОБХОДИМО ПРОКОНСУЛЬТИРОВАТЬСЯ СО СПЕЦИАЛИСТОМ

Корреляционной связи между содержанием NSE в сыворотке крови и стадиями заболеваниями в наших исследованиях не выявлено. Следовательно, исследование уровня NSE в сыворотке крови не дает достоверной информации о тяжести патологического процесса, возможно, в связи с малой площадью поражения по отношению к массе тела.

Согласно полученным результатам, между уровнем NSE в слезной жидкости и зрительными функциями имеется обратная корреляционная связь. При высокой остроте зрения и большой сумме градусов границ периферического поля зрения содержание NSE ниже нормы на 25%, а при ослаблении остроты зрения оно повышается на 46%.

Изменения на глазном дне в виде гиперемии и отека ДЗН сопровождались достоверным снижением уровня NSE в слезной жидкости у пациентов I группы. Деколорация ДЗН и сужение сосудов характеризовались постепенным ростом содержания NSE в слезной жидкости у пациентов II группы. У больных с изменениями при трактографии в виде истончения волокон больших затылочных щипцов отмечен подъем уровня NSE в слезной жидкости на 43%.

При анализе корреляционной взаимосвязи между данными ОКТ и содержанием NSE было установлено, что в остром периоде НЗН при ОКТ имел место отек ДЗН и перипапиллярной зоны, чему соответствовало снижение уровня NSE (обратная корреляционная связь r = –0,45). При переходе процесса в стадию атрофии зрительного нерва отмечен рост содержания NSE, что сопровождалось истончением перипапиллярной зоны сетчатки при ОКТ (обратная корреляционная связь r = –0,56).

Оценка чувствительности и специфичности инструментальных методов (ОКТ, ЗВП) и определения уровня NSE в слезной жидкости при диагностике НЗН свидетельствует о том, что чувствительность данных методов составляет 74% и 86%, соответственно, специфичность — 67% и 82%, соответственно, а общая точность — 78% и 86%, соответственно (см. Табл. 2).

Таким образом, определение уровня NSE в слезной жидкости при НЗН является более специфическим диагностическим методом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В острую стадию НЗН содержание NSE в слезной жидкости уменьшается в среднем до 0,81±0,15, а в глиозно-атрофическую стадию этот показатель повышается до 24,86±3,84 нг/мл, что, по-видимому, обусловлено усиленным распадом нервных волокон.

Чувствительность данной методики составляет 86% против 74% для инструментальной диагностики, а специфичность на 15% выше по сравнению со стандартными методами.

Определение уровня NSE в слезной жидкости необходимо включить в комплексное обследование больных с НЗН в качестве дополнительного маркера воспалительного процесса, имеющегося уже на ранних стадиях.

Мнение авторов может не совпадать с позицией редакции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. Kamenskikh T.G., Zaharova N.B., Kolbenev I.O., Kamenskikh I.D., Sidelnikova B.S. [Study of molecular mechanisms of retinal ganglion cells apoptosis regulation in glaucoma]. Izuchenie molekuljarnyh mehanizmov reguljacii apoptoza v ganglioznyh kletkah setchatki pri glaukome. [Clinical Ophthalmology]. *Klinicheskaja oftal'mologija.* 2013; 2: 46-49. (in Russ.).
2. Chekhonin V.P., Gurina I.A., Rabukhin I.A. [Immuno-enzyme assay of neurospecific enolase based on monoclonal antibodies in the study of blood-brain barrier permeability in neuro-psychic disorders]. Immuno-fermentnyj analiz nejrospecificheskoj elonazy na osnove monoklonal'nyh antitel v ocenke pronicaemosti gematojencefaliticheskogo bar'era pri nervno-psihicheskih zabolevanijah. [Russian Journal of Psychiatry]. *Rossijskij psihiatricheskij zhurnal.* 2000, 4: 15-19. (in Russ.).
3. Chehonin V.P., Dmitrieva T.B., Zhirkov Yu.A. [Immunoassay of neurospecific antigens]. *Immunologicheskij analiz nejrospecificheskih antigenov.* Moscow, Medicina, 2000. (in Russ.).
4. Audrey C. Ko, Hernandez J., Brinton J.P., Faidley E.A., Mugge1 S. A., Mets M.B. Anti-gamma-enolase autoimmune retinopathy presenting in early childhood. Arch. Ophthalmol. 2010; 128 (12): 1590-1595.
5. Berger R.P., Pierce M.C., Wisniewski S.R., Adelson P.D., Clark R.S. Neuron-specific enolase and S100B in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury in infants and children. Pediatrics. 2002; 109: E31.
6. Gelderblom M.D., Tristan S., Benjamin L., Peter B. Plasma levels of neuron specific enolase quantify the extent of neuronal injury in murine models of ischemic stroke and multiple sclerosis. Neurobiol. Dis. 2013; 59: 177-182.
7. Maruyama I., Ohguro H., Ikeda, Y. Retinal ganglion cells recognized by serum autoantibody against g-enolase found in glaucoma patients. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2000, 41: 1657-1665.
8. Pleines U.E., Morganti-Kossmann M.S., Rancan M., Joller H., Trentz O., Kossmann T. S-100b reflects the extent of injury and outcome, whereas neuronal specific enolase is a better indicator of neuroinflammation in patients with severe traumatic brain injury. J. Neurotrauma. 2001, 18: 491-498.