

СОДЕРЖАНИЕ ЛАКТОФЕРРИНА В ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ МЕНИНГИТАМИ

Проф. В. П. МАЛЫЙ, доц. П. В. НАРТОВ, Т. И. ЛЯДОВА

LACTOFERRIN AMOUNT IN CEREBROSPINAL FLUID OF PATIENTS WITH ACUTE MENINGITIS

V. P. MALY, P. V. NARTOV, T. I. LIADOVA

*Харьковская медицинская академия последипломного образования,
Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина*

Представлены результаты определения лактоферрина в цереброспинальной жидкости больных острыми менингитами и показана перспективность этого метода для проведения ранней дифференциальной диагностики гнойных бактериальных и серозных вирусных менингитов.

Ключевые слова: лактоферрин, цереброспинальная жидкость, гнойный менингит, серозный менингит.

The findings of determining lactoferrin in cerebrospinal fluid of the patients with acute meningitis are presented. The prospects of this method in early differential diagnosis of purulent bacterial and serous viral meningitis is shown.

Key words: lactoferrin, cerebrospinal fluid, purulent meningitis, serous meningitis.

В структуре патологии нервной системы инфекционные заболевания составляют 40 %, причем наиболее частыми их клиническими формами являются менингиты и менингоэнцефалиты, среди заболевших которыми 25–30 % составляют взрослые [1, 2]. Острые менингиты (ОМ) часто характеризуются тяжелым течением с развитием осложнений, высокой летальностью и трудностью диагностики [2, 3].

Основной диагностический критерий ОМ — увеличение содержания клеток в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ). Для бактериальных менингитов характерен нейтрофильный состав ЦСЖ, а при вирусных менингитах наблюдается лимфоцитарный плеоцитоз. Существенно затрудняет диагностику ОМ выявление лимфоцитарного, реже нейтрофильного плеоцитоза, что характерно в ранние сроки заболевания для ОМ различной этиологии [1, 4]. Этот факт диктует необходимость продолжить поиск новых подходов к диагностике «универсальных» реакций, присущих как бактериальным, так и вирусным менингитам. Особое значение при этом имеет исследование белков ликвора, в связи с чем представляет интерес изучение уровня лактоферрина, который принимает активное участие в патогенезе ОМ различной этиологии [5, 6].

Лактоферрин (ЛФ) — полифункциональный гликопротеин из семейства трансферринов с молекулярной массой $75\,700 \pm 500$ Да, состоящий из 692 аминокислотных остатков [7]. Этот гликопротеин образует две сферы, способные связывать два иона железа Fe^{3+} [8, 9]. ЛФ синтезируется клетками железистого эпителия и гемопоэтиче-

ской ткани (костный мозг, селезенка, лимфатические узлы) [10]. В кровеносной системе ЛФ синтезируется в созревающих нейтрофилах на миелоцитарной стадии развития этих клеток и накапливается в их вторичных гранулах, высвобождаясь из них при стимуляции патогенными микроорганизмами и клеточными компонентами [11, 12]. Синтез белка контролируется гормонами или ткань-специфическими транскрипционными факторами.

Впервые ЛФ был обнаружен в 1939 г. в коровьем молоке и описан как «красный белок» молока коров, поскольку образует с железом комплекс красного цвета. В 1960 г. он был выделен из женского молока, а затем практически из всех биологических жидкостей организма [13]. ЛФ абсолютно не подчиняется одной из основных догм молекулярной биологии — «один белок — одна функция». Неполный список свойств ЛФ включает в себя антибактериальную, противовирусную, противогрибковую активность [14–16]. Современными исследованиями установлено, что противовоспалительная активность ЛФ объясняется его способностью ингибировать синтез противовоспалительных цитокинов [10, 17–19].

ЛФ является важным маркером активации нейтрофилов, одним из факторов неспецифической защиты организма, острофазовым показателем. Низкий физиологический уровень ЛФ в сыворотке крови в несколько раз возрастает при инфекционных заболеваниях, значительно повышаясь в очаге воспаления. В условиях гипоксии головного мозга нейтрофилы наиболее интенсивно синтезируют ЛФ [13]. Поскольку основной ареной

воспалительных реакций при менингите является ЦНС, определение содержания ЛФ в ЦСЖ более информативно, чем в сыворотке крови. Следует отметить, что увеличение уровня ЛФ в ликворе не связано с повреждением проницаемости гематоэнцефалического барьера, а объясняется его локальной продукцией в ЦНС [27]. Кроме того, обнаружено повышение содержания данного белка при лепре, цитомегаловирусной инфекции, клещевом энцефалите, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, доброкачественных и злокачественных поражениях легких и плевры, ревматоидных артритах [3, 4, 6, 18, 20, 21]. В литературе имеются единичные сообщения о содержании ЛФ в ликворе взрослых больных менингитами различной этиологии, однако они требуют дальнейшего детального изучения [5, 6].

В связи с этим целью нашей работы являлось количественное изучение содержания ЛФ в ЦСЖ больных гнойными и серозными менингитами в динамике заболевания.

Исследование осуществлялось в условиях отделений воздушно-капельных инфекций и интенсивной терапии областной клинической инфекционной больницы г. Харькова, которые являются клинической базой медицинской академии последипломного образования. Были обследованы 54 пациента с ОМ, поступившие в экстренном порядке в среднетяжелом и тяжелом состоянии. Диагноз был верифицирован на основании клинико-ликворологических, бактериологических, серологических и молекулярно-генетических исследований (полимеразная цепная реакция).

Больные были разделены на две группы: первую составили 28 больных гнойным, вторую — 26 больных серозным менингитом. При этиологической расшифровке гнойных менингитов (ГМ) у 10 человек (36%) установлена менингококковая, у 3 (11%) — стафилококковая, у 8 (29%) — пневмококковая этиология заболевания, в 7 случаях (24%) возбудителя заболевания установить не удалось. Бактериальная этиология недифференцированного ГМ была подтверждена с помощью SLP-теста (silkworm larvae plasma), основанного на каскаде реакций в гемолимфе личинок тутового шелкопряда [22]. У 12 (46%) пациентов с серозным менингитом (СМ) диагностирован герпесвирусный менингит (HSV-1,2 — 7, CMV — 3, EBV — 1, HHV-6 — 1), в остальных случаях (14 больных — 54%) этиологический фактор не установлен, а бактериальная природа заболевания была исключена с помощью SLP-теста.

Больные были в возрасте от 17 до 65 лет, причем преобладали лица моложе 40 лет (средний возраст женщин составил $37 \pm 5,3$, мужчин $25 \pm 4,8$ года). В основном (36 пациентов, 67% общего числа наблюдавшихся больных) это были жители г. Харькова.

Концентрацию ЛФ определяли в ЦСЖ твердофазным иммуоферментным методом с использованием коммерческой тест-системы «Лактоферрин-

стрип» — ЗАО «Вектор — Бест» (г. Новосибирск.).

Образцы ЦСЖ отбирали в объеме 0,5 мл в остром периоде заболевания (при поступлении больных) и в период выздоровления (10–14-й день болезни). При проведении спинномозговой пункции использовали одноразовые пункционные иглы и пробирки типа «Эппендорф». Контрольную группу составили 11 лиц с интактной ЦСЖ.

Компьютерную обработку результатов исследований осуществляли на персональном компьютере с использованием программы SPSS for Windows (ver. 10.0). Достоверность различий между показателями сравниваемых величин оценивали по *t*-критерию Стьюдента.

У больных первой группы при поступлении в инфекционный стационар индивидуальный разброс уровня содержания ЛФ в ЦСЖ составил 4776,97–7103,37 нг/мл, средний показатель $5940,11 \pm 567,85$ нг/мл, что в 9,7 раз превышало показатели контрольной группы ($p < 0,05$). У пациентов второй группы уровень ЛФ определялся в концентрации от 583,94 до 1243,51 нг/мл, средний показатель $913,73 \pm 160,12$ нг/мл, что в 1,5 раза превышало контрольные значения ($p < 0,05$). В этом периоде заболевания отмечались статистически значимые различия в уровнях содержания ЛФ в ЦСЖ у больных ГМ по сравнению с показателями пациентов с СМ.

В динамике заболевания отмечалась тенденция к снижению исследуемого показателя у пациентов обеих групп (в 1,3 и 2,1 раза соответственно), но достоверные различия отмечались только в группе больных СМ.

В периоде реконвалесценции индивидуальные показатели ЛФ у больных ГМ варьировали в интервале от 2990,13 до 6027,98 нг/мл, средний показатель $4509,06 \pm 712,62$ нг/мл в 7,3 раза превышал контрольные величины. Снижение концентрации ЛФ у больных СМ происходило в интервале от 305,61 до 575,56 нг/мл, средний показатель $440,59 \pm 64,90$ нг/мл, что было сопоставимо с контрольными данными и статистически достоверно по сравнению с показателями у пациентов с ГМ (таблица, рисунок).

Полученные результаты показывают, что в остром периоде заболевания разница в уровнях содержания ЛФ в ЦСЖ больных ГМ (бактериальными) и СМ (вирусными) была статистически достоверной. Следовательно, при содержании ЛФ в ЦСЖ ниже или равном 1300 нг/мл можно говорить о вирусной этиологии заболевания. В тех случаях, когда концентрация ЛФ превышает 4700 нг/мл, имеет место бактериальная этиология ОМ.

Стабильно высокое с незначительной тенденцией к снижению содержание ЛФ в периоде выздоровления у больных ГМ, по-видимому, является адекватной реакцией, отражающей степень мобилизации защитных механизмов при воспалении ЦНС. Наблюдаемое снижение ЛФ у больных СМ свидетельствует о более выраженной динамике

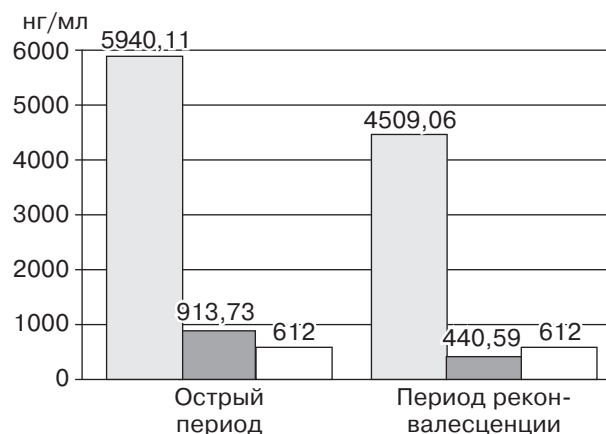
Содержание ЛФ (нг/мл) в ЦСЖ больных ОМ в динамике заболевания ($M \pm m$)

Группа больных	Период заболевания	
	острый	выздоровления
Первая, $n = 28$	5940,11±567,85*	4509,06±712,62*
Вторая, $n = 26$	913,73±160,12*	440,59±64,90**
Контроль, $n = 11$	612,00±92,85	

Примечание. $p < 0,05$ — достоверность различий:

* — с контролем,

** — между группами.



Динамика уровней ЛФ в СМЖ в разные периоды ОМ

□ — ГМ ■ — СМ □ — Контроль

затихания воспалительных изменений в мягких мозговых оболочках и сосудах мозга. Полученные нами данные подтвердили достаточно высокую информативность оценки содержания ЛФ в ЦСЖ больных ОМ.

Литература

1. Ермоленко В. М., Филатова Н. Н. Физиология метаболизма железа // Анемия.— 2004.— № 1.— С. 3–10.
2. Харченко Г. А., Иванов П. А., Захарова Н. А. Изучение лактоферрина и ферритина в крови при вирусных менингитах у детей // Четвертый конгресс педиатров-инфекционистов России.— М., 2005.— 184 с.
3. Мерзеньюк З. А., Лыкова О. Ф., Кольшиева Т. В. Лактоферрин и его диагностическая роль при клещевом энцефалите // Клини. лаб. диагностика.— 2003.— № 3.— 18 с.
4. Панов А. А., Воробьева А. А., Курочкин А. В. Лактоферрин у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки // Фунд. исследования.— 2006.— № 10.— 98 с.
5. Лобзин Ю. В., Пишпенко В. В., Громько Ю. Н. Менингиты и энцефалиты.— СПб.: Фолиант, 2003.— 128 с.
6. Трубников Г. А., Сухарева А. Е., Орлова Е. А. Клинико-диагностическое значение исследований ферритина и лактоферрина при доброкачественных и злокачественных поражениях легких и плевры // Клини. медицина.— 1998.— № 3.— С. 21–25.
7. Миелопероксидаза и лактоферрин в сыворотке крови и ликворе детей, больных менингитом / Н. М. Ботерашвили, Г. М. Алешина, М. Н. Сорокина, В. В. Иванова // Мед. иммунология.— 2002.— Т. 4, № 4–5.— С. 565–572.
8. Цинзерлинг В. А., Чухловина М. Л. Инфекционные поражения нервной системы: вопросы этиологии, патогенеза и диагностики: Руков. для врачей многопроф. стационаров.— СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2005.— 44 с.
9. IL-1beta-induced Langerhans' cell migration and TNF-alpha production in human skin: regulation by lactoferrin / M. Cumberbatch, M. Bhushan, R. J. Dearman et al. // Clin. Exp. Immunol.— 2003.— Vol. 132.— P. 352–359.
10. Oral administration of lactoferrin reduces colitis in rats via modulation of the immune system and correction of cytokine imbalance / J. Togawa, H. Nagase, K. Tanaka et al. // J. Gastroenterol. Hepatol.— 2002.— Vol. 17.— P. 1291–1298.
11. Brock J. H. The physiology of lactoferrin // Biochem. Cell. Biol.— 2002.— Vol. 80.— P. 1–4.
12. Exogenous topical lactoferrin inhibits allergen-induced Langerhans cell migration and cutaneous inflammation in humans / C. E. Griffiths, M. Cumberbatch, S. C. Tucker et al. // Br. J. Dermatol.— 2001.— Vol. 144.— P. 715–725.
13. A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development / P. K. Singh, M. R. Parsek, E. P. Greenberg, M. J. Welsh // Nature.— 2002.— Vol. 417.— P. 552–555.
14. Oral administration of lactoferrin inhibits inflammation and nociception in rat adjuvant-induced arthritis / K. Hayashida, T. Kaneko, T. Takeuchi et al. // J. Vet. Med. Sci.— 2004.— Vol. 66.— P. 149–154.
15. Kaisho T., Akira S. Pleiotropic function of Toll-like receptors // Micr. Infect.— 2004.— Vol. 6.— P. 1388–1394.
16. Lactoferrin biosynthesis during granulocytopenia / T. A. Rado, J. Bollekens, G. St. Laurent et al. // Blood.— 1984.— Vol. 64.— P. 1103–1109.
17. Human lactoferrin — derived peptide's antifungal activities against disseminated *Candida albicans* infection / A. Lupetti, C. Brouwer, S. Bogards, M. Welling // J. Infect. Dis.— 2007.— Vol. 196 (9)— P. 1416–1424.
18. Mycobacterium leper infection and serum lactoferrin levels / D. Maruganand, E. Daniel, G. J. Ebenezer et al. // Lepr. Rev.— 2004.— Vol. 75 (3)— P. 282–288.
19. Orsi N. The antimicrobial activity of lactoferrin: cur-

- rent status and perspectives // *Biometals*.— 2004.— Vol. 17.— P. 189–196.
20. Содержание лактоферрина в сыворотке крови и ликворе больных менингитом / О.Ф. Лыкова, Е.В. Захарова, Т.В. Колышева, З.А. Хохлова // *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.*— 2007.— №1.— С. 84–87.
21. *Сорокина М. Н., Иванова В. В., Скрипченко Н. В.* Бактериальные менингиты у детей.— М.: Медицина, 2003.— 320 с.
22. *Малий В. П., Нартов П. В., Кульшин В. С.* Визначення бактеріальних ендотоксинів у лікворі хворих менингококовим менингітом з використанням плазми личинок шовкопряда // *Інф. хвороби.*— 2008.— № 1.— С. 11–14.

Поступила 26.09.2008