

**В.В. Маврутенков, Г.О. Ушакова, В.Д. Ткаченко**

### **КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ S-100b ПРОТЕЇНУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ТА ЛІКВОРІ**

*Дніпропетровська медична академія; Дніпропетровський національний університет ім. О. Гончара;  
Дніпропетровська міська клінічна лікарня № 21 ім. проф. О.Г. Попкової*

*Досліджено методом тІФА рівень S-100b протеїну в сироватці крові у 40 пацієнтів віком від 17 до 85 років з клінічними ознаками гострого ураження центральної нервової системи (ЦНС), із яких у 24 (60 %) хворих було одночасно виконано дослідження вмісту білка в сироватці крові та лікворі. За підсумками дослідження підвищений вміст S-100b протеїну в лікворі було визначено у 62,5 % осіб, тоді як у сироватці крові підвищений рівень S-100b протеїну мав місце тільки у 29,2 % пацієнтів з клінічними ознаками гострого ураження ЦНС. Підвищення концентрації S-100b протеїну в лікворі або сироватці крові слід розглядати як біохімічний індикатор ураження ЦНС та прогнозу перебігу нейроінфекції та як маркер тяжкого інфекційного процесу.*

**Ключові слова:** *діагностика нейроінфекції, нейроспецифічні білки, рівень протеїну S-100b в крові та лікворі.*

Захворювання нервової системи (НС) завжди будуть залишатися найважливішим аспектом клінічної медицини внаслідок відомих загроз, що виникають для життя та здоров'я пацієнта. Головними засобами верифікації патології НС у клінічній практиці сьогодні є аналіз спинномозкової рідини та інструментальні методи нейровізуалізації, що мають деякі недоліки і певні ризики [1-4]. У зв'язку з чим визначення уражень НС із застосуванням імунохімічних засобів діагностики шляхом дослідження в крові рівня маркерів деструкції нейроглії і нейронів або активності нейромедіаторів та регуляторних протеїнів є перспективним напрямком клінічної неврології та інфектології [5, 6]. Одною з подібних сполук є нейроспецифічний поліпептид S-100b, який секретується головним чином астроцитами нейроглії [7]. Астроцитарний поліпептид S-100b належить до родини кальцій-залежних регуляторних протеїнів, що впливають на активність інших клітинних білків, а також беруть участь у міжклітинній взаємодії [8]. Доведено,

що при різноманітній неврологічній патології (травмах, інсультах, шизофренії тощо) суттєво підвищується концентрація S-100b у лікворі та сироватці крові [9, 10]. Білок S-100b розглядається як біохімічний маркер процесів запалення та відновлення нервової тканини, а також ефективності призначеного лікування [11].

Метою дослідження є удосконалення клінічної лабораторної діагностики нейроінфекцій шляхом вивчення вмісту протеїну S-100b у лікворі та сироватці крові у дорослих хворих.

#### **Пацієнти і методи**

У роботі проведено аналіз вибірки обсягом 40 пацієнтів віком від 17 до 85 років з клінічними ознаками гострого ураження центральної нервової системи (ЦНС) (основна група), що знаходились на лікуванні в КЗ МКЛ № 21 ім. проф. О.Г. Попкової м. Дніпропетровська, яка є клінічною базою кафедри інфекційних хвороб ДМА. В гендерному аспекті в групі спостереження переважали чоловіки (n=28; 70,0 %) над жінками (n=12; 30,0 %;  $p < 0,001$  за критерієм  $\chi^2$ ). Медіана віку (Me; 25-75 %) пацієнтів склала 32 роки (21-41).

До клінічних ознак вірогідної нейроінфекції відносили наявність у пацієнтів пригніченості свідомості або її відсутність, судоми, біль голови, який супроводжувався блювотою, менингеальні знаки, ознаки ураження черепно-мозкових нервів, загальний тяжкий стан хворого нез'ясованої етіології, що виник раптово. Верифікацію клінічного діагнозу здійснювали за сукупністю результатів лабораторних аналізів. При цьому усім хворим обов'язково виконували люмбальну пункцію з подальшим забарвленням по Граму та мікроскопією, а також бактеріологічними та інколи молекулярно-біологічними дослідженнями за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). За згодою хворим виконувалось обстеження на ВІЛ-інфекцію.

У 24 (60 %) хворих з ознаками гострого захворювання ЦНС було одночасно виконано дослідження вмісту білка S-100b у сироватці крові та лікворі. Кількісне ви-

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

значення астроцитарного специфічного білка S-100b виконували методом конкурентного імуоферментного аналізу (тіФА) з використанням моноспецифічних поліклональних антитіл проти S-100b, стандартного чистого білка та антитіл проти IgG кролів, мічених пероксидазою хрому [12]. Фізіологічний рівень білка S-100b у сироватці крові визначали шляхом дослідження здорових волонтерів (n=10) (контрольна група), зіставних з пацієнтами основної групи за віком (p<0,122) і статтю (p<0,544), який склав M=7,04 нг/мл, 95 % ДІ – 6,02-8,05 нг/мл. Фізіологічний рівень білка S-100b у лікворі складав 1-2 нг/мл [13].

Для обробки отриманого матеріалу використовували наступні методи статистичного аналізу [14]: 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 і розподілу – за критеріями Стюдента (t), Колмогорова-Смірнова (K-S) і Вальда-Вольфовіця (W-W), відносних показників – за критерієм  $\chi$ -квадрат Пірсона ( $\chi^2$ ). Статистичні характеристики, що приводяться в тексті, таблицях і малюнках, мають такі значення: n – кількість спостережень; M –

середнє арифметичне значення, SD – стандартне відхилення, m – стандартна похибка середнього, 95 % ДІ – 95 % довірчий інтервал для середнього, Me – медіана, 25-75 % – інтерквартильний розмах, C – коефіцієнт варіації, r – коефіцієнт кореляції Спірмена. Враховуючи неоднорідність розподілу даних у різних групах та середовищах – відхилення від нормального закону розподілу вмісту S-100b у лікворі хворих основної групи (p<0,01), у сироватці крові пацієнтів контрольної групи (p<0,01), і відповідність даному закону в інших випадках (p>0,20), аналіз проводився з використанням як параметричних, так й непараметричних методів. Критичне значення рівня значимості (p) приймалося  $\leq 5\%$ . Обробка отриманих даних проводилася за допомогою пакету програм статистичного аналізу Statistica v.6.1.

### Результати досліджень та їх обговорення

У пацієнтів з клінічними ознаками гострого ураження ЦНС концентрація S-100b протеїну в цілому в лікворі була вірогідно вище фізіологічних меж вмісту цього поліпептиду в цереброспінальній рідині (p<0,001 за критерієм T-Test for Single Means); підвищений рівень було визначено у 25 (62,5 %) хворих (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст S-100b протеїну (нг/мл) у сироватці крові та лікворі пацієнтів основної й контрольної груп

Статистичні характеристики		Сироватка крові		Ліквор
		Основна група	Контрольна група	Основна група
Кількість спостережень	n	24	10	40
Мінімум	Min	0,0	3,19	0,0
Максимум	Max	21,86	8,17	60,83
Середнє арифметичне	M	9,70	7,04	9,94
Стандартне відхилення	SD	5,76	1,42	12,51
Стандартна похибка середнього	m	1,18	0,45	1,98
Коефіцієнт варіації	C (%)	59,4	20,1	125,8
95 % довірчий інтервал для середнього	95 % ДІ	7,27-12,13	6,02-8,05	5,94-13,94
Медіана	Me	9,44	7,47	8,25
Інтерквартильний розмах	25-75 %	5,71-12,89	6,99-7,79	0,0-13,43

Підвищений рівень S-100b протеїну у сироватці крові мав місце тільки у 7 з 24 обстежених хворих (29,2 %) з ознаками гострого ураження ЦНС. Водночас відзначена тенденція до більш високої його концентрації в основній групі (за критерієм t – p<0,162), а також статистично значущі відмінності форми розподілу показника (включаючи різницю у медіанах, варіації і асиметрії) порівняно з клінічно здоровими особами, про що свідчать результати порівняння за критеріями K-S (p<0,01), W-W (p<0,001), F (p<0,001) та L (p<0,004).

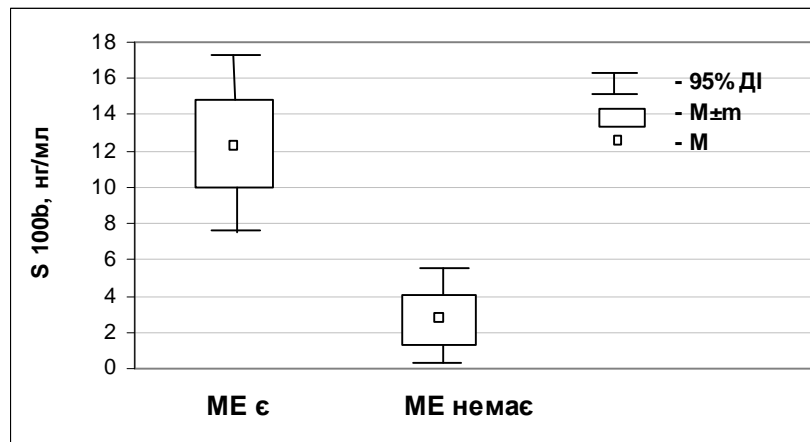
Виявлено, що вміст S-100b протеїну в сироватці крові не мав вірогідної залежності від його концентрації у лікворі (коефіцієнт кореляції r=0,28, p<0,20). Водночас, підвищений рівень S-100b протеїну в лікворі прямо корелював (r=0,43, p<0,006) з наявністю гнійного або серозного типу менінгоенцефаліту (ME) та коми (мал. 1). Середній рівень (M; 95 % ДІ) S-100b протеїну у лікворі хворих з наявністю ME (12,40 нг/мл; 7,41-17,40 нг/мл) та його варіабельність були вірогідно вище, ніж у хворих без ME (2,56 нг/мл; 0,0-5,76 нг/мл): за кри-

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

теріями  $t$  ( $p < 0,029$ ),  $K-S$  ( $p < 0,05$ ),  $W-W$  ( $p < 0,009$ ),  $F$  ( $p < 0,002$ ) та  $L$  ( $p < 0,087$ ).

Слід зазначити, що підвищення рівня S-100b протеїну в лікворі у хворих з ознаками гострого ураження ЦНС можна було очікувати, виходячи з біологічної ролі цього ензиму в функціонуванні нервової тканини, але з точки зору утилітарної клінічної лабораторної діагностики нейроінфекції цей тест не має великих переваг у порівнянні з прямою мікрос-

копією ліквору та ПЛР. У зв'язку з чим, визначення вмісту S-100b протеїну в сироватці крові розглядалося як більш доцільний та перспективний лабораторний тест ушкодження ЦНС з точки зору меншої травматичності дослідження для пацієнта та отримання стандартизованого результату. Але, як доводять дослідження, при інфекційному ураженні ЦНС обов'язкового підвищення рівня S-100b протеїну в сироватці крові не виникає.



Мал. 1. Концентрація S-100b в лікворі хворих з наявністю менінгоенцефаліту та коми або за їх відсутності.

Виходячи з того, що вміст S-100b протеїну в лікворі та в сироватці крові у хворих з ознаками гострого ураження ЦНС міг бути підвищеним або не перевищувати фізіологічну норму, нами було сформовано дві групи. Група *RL* (*Raised Level*), яка складалась з 27 пацієнтів з підвищеним рівнем протеїну в лікворі та/або сироватці крові, та друга група *NL* (*Normal Level*) з 13 пацієнтів, які мали нормальний вміст S-100b протеїну як у лікворі, так і в сироватці крові.

Встановлено, що в групі *RL* переважна кількість пацієнтів ( $n=22$ ; 81,5 %) мали ті чи інші ураження ЦНС, тоді як у групі *NL* гнійний або асептичний менінгіт документовано тільки у 6 (46,2 %) пацієнтів ( $p < 0,22$  за критерієм  $\chi^2$ ). Індивідуальний аналіз в ракурсі топіки ураження ЦНС визначив, що у групі *RL* 11 (40,7 %) пацієнтів були з ознаками бактерійного ME, 4 (14,8 %) хворих – з гнійним або серозним менінгітом у поєднанні з полінейропатією на тлі ВІЛ-інфекції, у 3 (11,1 %) випадках мав місце інсульт у поєднанні з ME, причому підвищення рівня S-100b протеїну спостерігалось одночасно в лікворі та в сироватці крові. Як видно з наведених вище даних, підвищення вмісту S-100b протеїну в більшості випадків припадало на гнійно-деструк-

тивні або асоційовані (мікробно-вірусні) пошкодження ЦНС. Цей факт має важливу практичну рацію з метою застосування визначення рівня S-100b протеїну в якості диференційно-діагностичного маркера між мікробно-деструктивними та асептичними (вірусними) захворюваннями ЦНС [15]. Але слід зазначити, що підвищення рівня S-100b протеїну як у лікворі, так і в сироватці крові спостерігається при різноманітних патологіях [16-18], що треба враховувати при клінічній інтерпретації отриманих результатів дослідження. Так, за власними даними, у решти ( $n=4$ ; 14,8 %) хворих з групи *RL* було виключено безпосереднє пошкодження ЦНС, але були ознаки енцефалопатії внаслідок септичного шоку, причому і в даному випадку концентрація S-100b протеїну одночасно була підвищена як у лікворі, так і у сироватці крові. Окрім того, у групі *RL* з підвищеним вмістом S-100b протеїну в лікворі, на відміну від хворих з групи *NL*, майже в 3,1 разу частіше розвивалася кома (48,1 проти 15,4 %;  $p < 0,045$ ), тривалість якої була на 1,2 доби довше ( $p < 0,041$ ). Але незважаючи на це, як показав короткостроковий катамнез (до 30 діб), летальних вислідів не було і всі хворі були переведені з відділення реанімації. Таким чином, визначення

рівня S-100b протеїну в лікворі, окрім диференційно-діагностичного з'ясування причин патології ЦНС, може застосовуватися як прогностичний маркер перебігу нейроінфекцій. Цей факт ще раз підкреслює дуалізм підвищення рівня S-100b протеїну, де, з одного боку, це є біохімічним маркером ушкодження структур ЦНС, а з іншого – компенсаторним механізмом, який в умовах помірних концентрацій має цитопротективний ефект [19].

Враховуючи вищезгадане, з точки зору клінічної діагностики, підвищення в лікворі та/або у сироватці крові вмісту S-100b протеїну слід розглядати як біохімічний маркер ушкодження гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ) [20]. Але слід звернути увагу на те, що у 5 (38,5 %) хворих із групи *NL* також мала місце енцефалопатія внаслідок септичного шоку, причому один молодий чоловік через декілька днів загинув від гострої ниркової недостатності, що виникла внаслідок токсичної нефропатії. Відсутність підвищення рівня S-100b протеїну в лікворі та/або у сироватці крові у хворих з явними ознаками енцефалопатії може бути пов'язана з динамікою його синтезу, яка має піковий характер, тобто максимальна концентрація протеїну виникає в перші три доби, а потім починає знижуватися [21]. В усіх п'яти вищезгаданих випадках дослідження було проведено після п'ятої доби від початку захворювання, а рівень S-100b протеїну міг бути «модифікований» попереднім лікуванням. Стосовно летального випадку пацієнта з токсичною нефропатією слід наголосити, що немає даних про діагностичну значущість і вплив гострої ниркової недостатності на рівень S-100b протеїну в лікворі та/або у сироватці крові.

У цілому, за даними нашого дослідження, метод діагностики інфекційного ураження ЦНС за підвищеним рівнем S-100b протеїну в лікворі та/або у сироватці крові має наступні показники діагностичної цінності: чутливість – 78,6 %, специфічність – 58,3 %, точність (безпомилковість) – 72,5 %.

Таким чином, незважаючи на те, що підвищення концентрації S-100b протеїну в лікворі або сироватці крові не є атрибутивною ознакою нейроінфекції, рівень цього білка слід розглядати як біохімічний індикатор ураження структур мозку та прогнозу перебігу ушкодження ЦНС, а також в якості загального лабораторного маркера ступеня тяжкості інфекційного процесу. У зв'язку з чим дослідження, що спрямоване на визначення кількісного рівня S-100b протеїну в крові та лікворі, в залежності від етіології нейроінфекції є одним із перспективних напрямків в ракурсі удос-

коналення лабораторної діагностики інфекційних захворювань нервової системи людини.

### Висновки

1. Концентрація S-100b протеїну в лікворі прямо корелює ( $r=0,43$ ,  $p<0,006$ ) з наявністю менінгоенцефаліту та коми.

2. Підвищений рівень S-100b протеїну в лікворі або у сироватці крові встановлено у всіх хворих з менінгоенцефалітом, «судинною катастрофою» або ознаками септичного шоку, що дозволяє розглядати цей білок як біохімічний маркер ураження речовини мозку та гематоенцефалічного бар'єру.

3. Підвищений рівень S-100b протеїну в лікворі або у сироватці крові без ознак органічного ураження ЦНС слід розглядати як загальний критерій тяжкості системного запального процесу.

### Література

1. Бактеріальний менінгіт: як не пропустити цей діагноз? // Медицина світу, режим доступу: [http://msvitu.com/files/journal-pdf/11\\_6/309\\_318.pdf](http://msvitu.com/files/journal-pdf/11_6/309_318.pdf);
2. Assessment: prevention of post-lumbar puncture headaches, режим доступу: <http://www.guideline.gov/content.aspx?id=8102>;
3. Лонгмор М. Оксфордский справочник по клинической медицине / М. Лонгмор, Я. Уилкинсон, С. Раджагопалан: пер. с англ. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. – 855 с.
4. Levine J.N. Нейровизуализация / J.N. Levine // Ролак Л.А. Секреты неврологии: пер. с англ.; под ред. проф. О.С. Левина. – М.: БИНОМ, 2008. – С. 545-549.
5. Фаллер Д.М. Молекулярная биология клетки: руководство для врачей: пер. с англ. / Д.М. Фаллер, Д. Шилдс. – М.: БИНОМ, 2006. – 256 с.
6. Mosier D.R. Клиническая нейробиология / D.R. Mosier // Ролак Л.А. Секреты неврологии: пер. с англ.; под ред. проф. О.С. Левина. – М.: БИНОМ, 2008. – С. 17-33.
7. Фоменко О.З. Протеїни астроглії у мозку щурів в умовах експериментального хронічного гепатиту та дії 2-оксоглутарата / О.З. Фоменко, Г.О. Ушакова, С.Г. П'єржиновський // Укр. біохім. журн. – 2011. – Т. 83, № 1. – С. 69-75.
8. Donato R. Functional roles of S100 proteins, calcium-binding proteins of the EF-hand type / R. Donato // Biochim., Biophys. Acta. – 1999. – Vol. 1450, N 3. – P. 191-231.
9. Траилин А.В. Белок S100B: нейробиология, значение при неврологической и психиатрической патологии / А.В. Траилин, О.А. Левада // Междунар. неврол. журнал. – 2009. – Научный обзор, режим доступу: <http://neurology.mif-ua.com/archive/issue-8053/article-8197/print.html>;
10. Association Study of Astrocyte-Derived Protein S100B Gene Polymorphisms With Major Depressive Disorder in Chinese People / [Kun Yang, Guang-Rong Xie, Yi-Qiu Hu et al.] // Canadian J. Psychiatry. – 2009. – Vol. 54, N 5. – P. 312-319.
11. S-100B Protein, serum for prognosis and treatment monitoring of patients with malignant melanoma // Arup laboratories. June, 2009; режим доступу: [http://www.aruplab.com/Testing-Information/resources/Technical-Bulletins/S-100B,%20Serum%20\(for%20Melanoma\).pdf](http://www.aruplab.com/Testing-Information/resources/Technical-Bulletins/S-100B,%20Serum%20(for%20Melanoma).pdf).

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

12. The neuroprotective effect of 2-oxoglutarate in the experimental ischemia of hippocampus / [T.N. Kovalenko, G.A. Ushakova, I. Osadchenko et al.] // J. Physiol. Pharmacol. – 2011. – Vol. 62, N 2. – P. 329-246.

13. Dynamics of S100B release into serum and cerebrospinal fluid following acute brain injury / [A. Kleindienst, S. Meissner, I.Y. Eyupoglu et al.] // Acta Neurochir. Suppl. – 2010. – N 106. – P. 247-250.

14. Боровиков В.П. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере / В.П. Боровиков. – СПб: Питер, 2003. – 688 с.

15. The Use of S100b and Tau Protein Concentrations in the Cerebrospinal Fluid for the Differential Diagnosis of Bacterial Meningitis: A Retrospective Analysis / [K. Jung, Ch. Goerdts, P. Lange et al.] // Eur. Neurol. – 2011. – N 66. – P. 128-132.

16. Дудукина С.О. S-100b як маркер пошкодження головного мозку / С.О. Дудукина, Ю.Ю. Кобеляцький // Укр. нейрохірург. журн. – 2010. – № 1. – С. 12-15.

17. Галиева Г.Ю. Диагностическое и прогностическое значение нейроспецифической енолазы и белка S100 при клещевых нейроинфекциях у детей / Г.Ю. Галиева, Т.В. Попонникова, И.Ф. Федосеева // Бюл. сиб. мед. – 2008. – Приложение 1. Актуальные вопросы неврологии, г. Томск, 4-5 июня 2008 г. – С. 204-207; режим доступу: <http://www.ssmu.ru/bull/08/p1/11t.pdf> ;

18. Reiber H. Proteins in cerebrospinal fluid and blood: Barriers, CSF flow rate and source-related Dynamics / H. Reiber // Restorative Neurology and Neuroscience. – 2003. – N 21. – P. 79-96.

19. S100b concentration in colostrums of Burkinabe and Sicilian women / [M. Musumeci, P. Betta, E. Magro et al.] // Nutrition & Metabolism. – 2008. – N 5. – P. 1-15; режим доступу: [www.nutritionandmetabolism.com/content/5/1/15](http://www.nutritionandmetabolism.com/content/5/1/15) ;

20. Нейронспецифические белки — маркеры энцефалопатии при тяжелой сочетанной травме / [Е.В. Григорьев, Г.В. Вавин, Т.Г. Гришанова и др.] // Медицина неотложных состояний. – 2010. – № 2 (27); режим доступу: <http://urgent.mif-ua.com/archive/issue-12820/article-12868/>

21. Palmio J. Seizure-related neuronal injury A study of neuron-specific enolase, S-100b protein and tau protein / J. Palmio. – Tampere University Press, Finland, 2009; режим доступу: <http://acta.uta.fi/english/teos.php?id=11204> ;

### CLINICAL SIGNIFICANCE OF S100B PROTEIN LEVEL EVALUATION IN BLOOD SERUM AND CEREBROSPINAL FLUID

V.V. Mavrutenkov, H.O. Ushakova, V.D. Tkachenko

**SUMMARY.** *The investigation of the level of S-100b protein in blood serum was performed by ELISA method in 40 patients of 17-85 years of age with clinical signs of acute CNS pathology. Among them, in 24 (60 %) patients this level was simultaneously evaluated in blood serum and cerebrospinal fluid (CSF). According to the results of the study, increased level of S-100b protein in CSF was found in 25 (62,5%) patients, whereas the increased level of S-100b protein in blood serum was observed in only 29,2% patients with clinical signs of acute CNS pathology. So, the increased concentration of S-100b protein in CSF or blood serum should be considered as a biochemical indicator of CNS damage, of the course and outcome of the disease, as well as the marker of severe infectious pathology.*

**Key words:** *diagnosis of CNS infections, CNS specific proteins, protein S-100b level in blood and CSF.*

Отримано 28.02.2012 р.