

ЗНАЧЕНИЕ БИОГЕННЫХ АМИНОВ, ИХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ И МЕТАБОЛИТОВ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ МЕНИНГЕАЛЬНОГО СИНДРОМА

Т.В. Ляпо, Е.М. Дорошенко

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

Цель: оптимизация методов дифференциальной диагностики менингеального синдрома (МС).

Исследовано содержание биогенных аминов, их предшественников и метаболитов в спинномозговой жидкости у пациентов с ОРВИ с МС, серозным и гнойным менингитом. Выявлены существенные изменения в показателях обмена серотонина и катехоламинов. Установлено, что при гнойном менингите уровень ароматических аминокислот значительно выше, чем при серозном менингите и ОРВИ с МС. Уровень серотонина у пациентов с менингитами (как гнойными, так и серозными) выше, чем у пациентов с ОРВИ с МС. Содержание DOPA при серозном менингите значительно ниже, чем при гнойном. Изменения концентраций биогенных аминов и родственных соединений в СМЖ могут быть использованы как дополнительные критерии для дифференциальной диагностики при МС.

Ключевые слова: биогенные амины, менингит, СМЖ, диагностика.

Введение. Нейроинфекции продолжают оставаться распространенными формами поражения ЦНС как у детей, так и у взрослых. Исходы данных заболеваний, частота неврологических последствий напрямую зависят от точности и скорости постановки диагноза. Несмотря на большое число работ, посвященных нейроинфекциям, проблема своевременной и точной диагностики менингеального синдрома (МС) полностью не решена. Это связано с многообразием этиологических и клинических форм нейроинфекций, изменением их течения на фоне ранней, часто нерациональной, антибактериальной терапии на догоспитальном этапе [1, 4].

Этиологический диагноз менингита устанавливают с помощью бактериоскопических, бактериологических, вирусологических, серологических, молекулярно-генетических и инструментальных методов исследования. Бактериоскопические методы диагностики, как известно, носят ориентировочный характер, и по данным литературы, дают положительные ответы в 30-65,7% всех этиологически расшифрованных случаев [5]. Широко используемые в диагностике инфекционных заболеваний серологические пробы имеют ограниченное применение, так как часто позволяют установить диагноз лишь ретроспективно [5,6]. Длительное время требуется и для культурального исследования. Бактериологические методы, по данным разных авторов, информативны в 13-68,6% случаев бактериального менингита [5]. Установлено, что прием антибиотиков в течение суток снижает частоту высева возбудителя более чем в 2 раза [1].

Исследование спинномозговой жидкости (СМЖ) является единственным методом, позволяющим быстро и объективно установить диагноз менингита. Однако таким образом сложно выявить ранние стадии менингита или менингит у больных, которые до исследования СМЖ получали антибиотики, или противовоспалительные средства, из-за чего количество клеток в 1 мкл в момент исследования может не отражать степень повреждения (воспаления) мозговых оболочек. Большое значение имеет определение характера плеоцитоза в СМЖ, который при гнойном поражении мозговых оболочек является, как правило, нейтрофильным. В то же время при менингококковом менингите, относящемся к гнойным, цитоз может быть серозным в начале заболевания, а при энтеровирусной инфекции нередко выявляется нейтрофильный характер СМЖ [2, 8, 9]. Следовательно, большое значение имеет расширение арсенала способов диагностики раз-

ных стадий и форм менингита (типичных, атипичных, начальных) обладающих высокой чувствительностью и эффективностью.

В развитии нейроинфекций происходят глубокие функциональные и морфологические изменения в оболочках и структурах мозга, обусловленные воздействием возбудителя и его токсинов, приводящих к активизации метаболизма серотонина, катехоламинов и изменению функциональной активности нейронов [7, 10]. Следовательно, одним из возможных способов поиска и оптимизации диагностических методов является определение в СМЖ биогенных аминов, их предшественников и метаболитов.

Цель исследования - оптимизация методов диагностики МС.

Материал и методы. Всем пациентам с клиническими проявлениями МС, обследованным проспективно, был установлен окончательный этиологический диагноз, основанный на результатах комплексного исследования сыворотки крови и ликвора (вирусологическим, бактериологическим, бактериоскопическим, серологическим, ИФА, ПЦР) на возбудители или их маркеры. С учетом результатов этиотропной верификации и ликворологической диагностики пациенты были разделены на 3 группы: 1 группа (n=30) ОРВИ с явлениями менингизма, 2 группа (n=54) серозный менингит, 3 группа (n=29) гнойный менингит.

У всех пациентов в СМЖ определялось содержание предшественников тирозина Туг, диоксифенилаланина DOPA и метаболитов катехоламинов (диоксифенилуксусной кислоты DOPAC, гомованилиновой кислоты HVA), а также серотонина (5-HT), его предшественников триптофана (Trp), 5-окситриптофана (5-HTP) и метаболита 5-оксииндолуксусной кислоты (5-HIAA). Использовался метод ион-парной ВЭЖХ хлорнокислых безбелковых экстрактов СМЖ с детектированием по природной флуоресценции. Идентификация определяемых соединений и количественная обработка хроматограмм проводилась по методу внутреннего стандарта (ванилиновой кислоты) [3]. Статистическая обработка данных выполнялась с использованием прикладных программ Statistica 6.0. Для анализа различий в трех группах при распределении данных, отличным от нормального, использован тест Краскелла-Уоллиса. Данные представлены в виде Me (Q25/Q74), где Me медиана, (Q25/Q75) интерквартильный размах. Взаимосвязи между исследо-

ванными показателями оценивали по величинам коэффициентов ранговых корреляций Спирмана.

Результаты и обсуждение. При анализе показателей, характеризующих системы катехоламинов, установлено, что у пациентов с серозным менингитом, содержание ДОРА было значительно меньше, чем при ОРВИ с МС, возможно, из-за торможения гидроксирования тирозина (таблица 1).

Таблица 1 - Показатели систем обмена катехоламинов в СМЖ у пациентов с ОРВИ+МС и серозным менингитом

Группы	Тур, нмоль/мл	ДОРА, нмоль/л	ДОРАС, нмоль/л	НВА, нмоль/л
1 группа, n=30	8731 (6942/12421)	40,4* (29,0/49,6)	134* (115/186)	943* (684/1296)
2 группа, n=54	9909 (7631/12085)	20,9 (13,7/30,0)	87 (53/140)	477 (349/607)

Примечание: * достоверное различие со сравниваемой группой ($p < 0,05$)

Различие уровней ДОРА сопровождалось таким же изменением уровней дофамина и основных продуктов его метаболизма диоксифенилуксусной кислоты (ДОРАС) и гомованилиновой кислоты (НВА) в СМЖ. У пациентов с серозным менингитом выявлено статистически значимое снижение показателей метаболизма дофамина в СМЖ по сравнению с пациентами в группе ОРВИ+МС (ДОРАС, НВА) 87,0 (53,0/140,0) нмоль/л против 134,0 (115,0/186,0) нмоль/л и 477 (349,0/607,0) нмоль/л, $p < 0,05$, соответственно.

При гнойном процессе в мозговых оболочках различие в уровне ДОРА было незначительным по сравнению с группой ОРВИ с МСК из-за более высокого уровня тирозина у больных с гнойным менингитом (таблица 2).

У пациентов с гнойным менингитом уровень предшественника катехоламинов тирозина (Тур) был значительно выше в сравнении с пациентами с серозным менингитом и пациентами с ОРВИ+МС 19305,0 (12105/25893) нмоль/мл против 9909,0 (7631/12085) нмоль/мл и 8731 (6942/12421) нмоль/мл, соответственно ($p < 0,05$). Вероятно, это является результатом активного протеолиза и нарушения функционирования систем активного транспорта аминокислот из крови в мозг при гнойном процессе в мозговых оболочках, при котором выраженность этих процессов значительно больше, чем при серозном менингите.

Таблица 2 - Показатели систем катехоламинов в СМЖ у пациентов с ОРВИ+МС и гнойным менингитом

Группы	Тур, нмоль/мл	ДОРА, нмоль/л	ДОРАС, нмоль/л	НВА, нмоль/л
1 группа, n=30	8731 (6942/12421)	40,4 (29,0/49,6)	134 (115/186)	943 (684/1296)
3 группа, n=29	19305* (12105/25893)	51,6 (30,5/78,1)	169 (126/186)	1755 (903/3063)

Примечание: * достоверное различие со сравниваемой группой ($p < 0,05$)

Можно предположить, что из-за нарушения кислородзависимых реакций превращений аминокислот при гнойном менингите (гидроксирование тирозина) повышение уровня ДОРА было не таким выраженным, как тирозина.

При гнойном менингите выявлено статистически значимое повышение уровня ДОРА 51,6 (30,5/78,1) нмоль/л, по сравнению с серозным 20,9 (13,7/30,0), $p < 0,05$ (табл.3).

Содержание метаболитов катехоламинов (ДОРАС,

Таблица 3 - Показатели систем катехоламинов в СМЖ у пациентов с серозным и гнойным менингитом

Группы	Тур, нмоль/мл	ДОРА, нмоль/л	ДОРАС, нмоль/л	НВА, нмоль/л
2 группа, n=54	9909 (7631 / 12085)	20,9 (13,7 / 30,0)	87 (53 / 140)	477 (349 / 607)
3 группа, n=29	19305* (12105 / 25893)	51,6* (30,5 / 78,1)	169* (126 / 186)	1755* (903 / 3063)

Примечание: * достоверное различие со сравниваемой группой ($p < 0,05$)

НВА) при гнойном менингите было существенно выше в сравнении с серозным 169,0 (126,0/186,0) нмоль/л против 87,0 (53,0/140,0) нмоль/л и 1755 (903,0/3063,0) нмоль/л против 477 (349,0/607,0) нмоль/л, соответственно, $p < 0,05$ (табл. 3).

Следует подчеркнуть, что при сравнительном анализе групп серозного и гнойного менингитов было выявлено достоверно более высокое содержание как предшественников (тирозина, ДОРА), так и исследованных метаболитов катехоламинов ДОРАС и НВА ($p < 0,05$) в последней группе.

В связи с выявленными различиями в показателях катехоламинового обмена у пациентов с менингитами различной этиологии нами разработан способ дифференциальной диагностики гнойного и серозного менингита (патент на изобретение №16775 от 29.10.2012 г.), основанный на определении в СМЖ ДОРА. При наличии у пациента с клинико-ликворологическими признаками менингита показателя ДОРА в ликворе более 50 нг/мл диагностируют гнойный менингит, в случае содержания ДОРА менее 50 нг/мл - серозный менингит.

Клиническая апробация способа дифференциальной диагностики гнойного и серозного менингитов дополнила набор методов диагностики нейроинфекций, оптимизировав их дифференциальную диагностику.

При анализе показателей, относящихся к обмену серотонина, в СМЖ выявлено, что содержание триптофана (Трп) у пациентов трех исследуемых групп изменялось так же, как и уровень тирозина. Имело место значительное (в среднем в 22,5 раза), статистически значимое повышение уровня триптофана у пациентов с гнойным менингитом по сравнению с серозным и ОРВИ+МС 2163,0 (1444,0/3168,0) нмоль/мл против 1081,0 (710,0/1601,0) нмоль/мл и 895,0 (729,0/1078,0) нмоль/мл, соответственно, $p < 0,05$ (таблицы 4, 5, 6).

Таблица 4 - Показатели обмена серотонина в СМЖ у пациентов с ОРВИ+МС и серозным менингитом

Группы	Трп, нмоль/мл	5-НТР, нмоль/л	5-НТ, нмоль/л	5-Н1АА, нмоль/л
1 группа, n=30	895 (729 / 1078)	45,6 (36,8 / 60,3)	9,50 (6,20 / 12,12)	31,1 (21,7 / 42,8)
2 группа, n=54	1081 (710 / 1601)	68,1* (51,5 / 95,7)	18,8* (10,6 / 29,6)	58,4* (33,6 / 117,0)

Примечание: * достоверное различие со сравниваемой группой ($p < 0,05$)

Уровень конечного метаболита серотонина 5-Н1АА при серозном менингите повышался синхронно с уровнем серотонина и составил 58,4(33,6/117,0) нмоль/л против 31,1 (21,7/42,8) нмоль/л в группе ОРВИ с МСК, $p < 0,05$ (таблица 4). Можно предположить, что это было связано с повышенным распадом тканевых белков, лейкоцитов и нарушением системы активного транспорта ароматических аминокислот (триптофана) из крови. Гидроксирование триптофана, в отличие от тирозина, при серозном

менингите, вероятно, не тормозится. Следовательно, у пациентов с серозным менингитом имеется более высокий уровень предшественника серотонина 5-окситриптофана, чем в группе с ОРВИ+МС 68,1 (51,5/95,7) нмоль/л против 45,6 (36,8/60,3) нмоль/л ($p<0,05$), который обычно рассматривается как показатель скорости синтеза серотонина (гидроксилазного пути превращений триптофана). Однако это справедливо только при отсутствии торможения конечной реакции синтеза серотонина декарбоксилирования ароматических L-аминокислот. Уровень серотонина у пациентов с менингитом, независимо от характера плеоцитоза, был статистически значимо выше, чем у пациентов с ОРВИ с МС ($p<0,05$).

При гнойном менингите содержание 5-окситриптофана также повышалось, однако это увеличение было менее выражено по отношению к степени повышения в той же группе уровня предшественника триптофана. Было выявлено статистически значимое повышение содержания серотонина в СМЖ у пациентов как с гнойным менингитом, так и с серозным по сравнению с группой ОРВИ+МС 18,4 (12,3/28,0) нмоль/л и 18,8 (10,6/29,6) нмоль/л, соответственно, против 9,5 (6,2/12,1) нмоль/л, $p<0,05$ (таблица 5).

Таблица 5 - Показатели обмена серотонина в СМЖ у пациентов с ОРВИ+МС и гнойным менингитом

Группы	Тгр, нмоль/мл	5-НТР, нмоль/л	5-НТ, нмоль/л	5-Н1АА, нмоль/л
1 группа, n=30	895 (729 / 1078)	45,6 (36,8 / 60,3)	9,50 (6,20 / 12,12)	31,1 (21,7 / 42,8)
3 группа, n=29	2163* (1444 / 3168)	92* (56 / 145)	18,4* (12,3 / 28,0)	37,7 (21,6 / 61,4)

Примечание: * достоверное различие со сравниваемой группой ($p<0,05$)

Учитывая полученные результаты в сравниваемых группах пациентов с менингитом при ОРВИ и менингитами различной этиологии, нами предложен новый способ диагностики менингита на ранней стадии (патент на изобретение №14541 от 23.03.2011 г.). Способ заключается в исследовании уровня серотонина в СМЖ при поступлении пациентов в стационар с клиническими признаками МС. При наличии в СМЖ уровня серотонина 15 нг/мл или выше диагностируют менингит.

Преимуществами разработанного способа диагностики менингита на ранней стадии является большая чувствительность и точность, которая в клинических условиях позволила диагностировать менингит у пациентов с клиническими признаками МС и предварительным диагнозом ОРВИ с менингитом, у которых были нормальные показатели плеоцитоза в СМЖ.

Таким образом, предложенный способ диагностики ранней стадии менингита позволяет ускорить постановку диагноза менингита, применить адекватную терапию и избежать осложнений, связанных с ошибками в диагностике нейроинфекций.

При гнойном менингите содержание 5-Н1АА значительно снижалось 37,7 (21,6/61,4) нмоль/л по сравнению с серозным 58,4 (33,6/117,0) нмоль/л, $p<0,05$ (таблица 6).

Это позволяет предположить нарушение серотонинергических функций выброса, обратного захвата и дегградации медиатора при гнойном процессе в мозговых оболочках.

Выявив различия в сравниваемых показателях биогенных аминов, важно было оценить наличие и степень корреляции между общепринятыми лабораторными показателями гемограммы, плеоцитоза и специальными тестами в СМЖ. Результаты проведенного корреля-

Таблица 6 - Показатели обмена серотонина в СМЖ у пациентов с гнойным и серозным менингитом

Группы	Тгр, нмоль/мл	5-НТР, нмоль/л	5-НТ, нмоль/л	5-Н1АА, нмоль/л
2 группа, n=54	1081 (710 / 1601)	68,1 (51,5 / 95,7)	18,8 (10,6 / 29,6)	58,4 (33,6 / 117,0)
3 группа, n=29	2163* (1444 / 3168)	92 (56 / 145)	18,4 (12,3 / 28,0)	37,7* (21,6 / 61,4)

Примечание: * достоверное различие со сравниваемой группой ($p<0,05$)

ционного анализа выявили взаимосвязь между показателями катехоламинового и серотонинового обмена и данными общеклинических лабораторных исследований ликвора и крови.

В частности, выявлена положительная корреляционная зависимость между уровнем плеоцитоза СМЖ и Тгр ($r=0,45$, $p<0,05$). Между DOPA и плеоцитозом не было выявлено достоверной корреляционной зависимости, вероятно, вследствие торможения гидроксилирования тирозина. Учитывая, что такое торможение не зафиксировано для серотониновой системы, большинство показателей серотонинового обмена положительно коррелировали с уровнем цитоза: Тгр ($r=0,40$, $p<0,05$); 5-НТР ($r=0,45$, $p<0,05$); 5-НТ ($r=0,46$, $p<0,05$).

Кроме того, выявлена положительная корреляционная взаимосвязь между степенью нейтрофильного плеоцитоза и содержанием ароматических аминокислот: Тгр ($r=0,40$, $p<0,05$) и Тгр ($r=0,39$, $p<0,05$), соответственно. Это подтверждает вывод о зависимости между уровнем ароматических аминокислот и выраженностью гнойного повреждения мозговых оболочек.

Также определена положительная корреляционная взаимосвязь между содержанием белка в СМЖ и показателями в ликворе Тгр ($r=0,51$, $p<0,05$) и Тгр ($r=0,43$, $p<0,05$), соответственно.

Положительная корреляционная взаимосвязь выявлена между уровнем лейкоцитов крови, СОЭ и ароматическими аминокислотами в СМЖ (таблица 7).

Таблица 7 - Коэффициенты корреляции Спирмана между общеклиническими показателями и содержанием ароматических аминокислот в СМЖ ($p<0,05$).

Показатели	Тгр	Тгр
Лейкоцитоз крови	0,27	0,31
СОЭ	0,25	0,22
Уровень плеоцитоза СМЖ	0,45	0,40
% нейтрофилов в СМЖ	0,40	0,39
Содержание протеина в СМЖ	0,51	0,43

Заключение. При вирусных и бактериальных поражениях мозговых оболочек (серозных и гнойных менингитах) в СМЖ имеют место односторонние сдвиги в показателях катехоламинового и серотонинового обмена (уровни предшественников, метаболитов), более выраженные при менингитах бактериальной этиологии. Аналогичные изменения происходят и при ОРВИ с признаками менингизма (МС), но, вероятно, в значительной степени менее выраженные. Изменения показателей катехоламинового и серотонинового обмена, фиксируемые в СМЖ при менингитах, не исключают вовлечение в патологический процесс соответствующих структур головного мозга, в которых наиболее активен синтез и катаболизм биогенных аминов и превращения их предшественников. Таким образом, при менингитах вирусного и бактериального генеза имеют место метаболические нарушения, у части пациентов, вероятно, соот-

ветствующие субклиническим (атипичным) признакам энцефалита, регистрация которых возможна по показателям, связанным с системами биогенных моноаминов, в том числе уровням их предшественников и метаболитов. Наиболее информативными диагностическими показателями из исследованных нами являются уровни следующих соединений в СМЖ: повышение уровня ароматических аминокислот (триптофана и тирозина), характеризующие гнойный характер поражения мозговых оболочек; повышение содержания серотонина при менингитах, изменение которого позволяет установить воспалительный процесс и диагностировать менингит на ранней стадии, включая менингизм. Для дифференциальной диагностики наиболее информативным является использование уровней DOPA, а также метаболитов дофамина (DOPAC, HVA). Полагаем, что применение рекомендованных дополнительных тестов оценки степени повреждения позволит повысить качество диагностики МС различной этиологии.

Литература

1. Венгеров, Ю.Я. Ликворологические исследования при нейроинфекциях / Ю.Я. Венгеров [и др.] // Международный Евро-Азиатский конгресс по инфекционным болезням.- 2008. - С. 178-179.
2. Деконенко, Е.П. «Нормальный» состав цереброспинальной жидкости при бактериальном менингите / Е.П. Деконенко [и др.] // Вестник практической неврологии.- 1999. - №5. - С. 47-48
3. Дорошенко, Е.М. Применение ион-парной ВЭЖХ с детек-

тированием по природной флуоресценции для определения биогенных аминов и их предшественников в тимусе и селезенке крыс / Е.М. Дорошенко [и др.] // Сборник тезисов Республиканской научной конференции по аналитической химии с международным участием «Аналитика РБ-2010», - Минск, - 2010. - С. 137.

4. Карпов, И.А. Обзор практических рекомендаций по ведению пациентов с бактериальным менингитом Американского общества инфекционных болезней / И.А. Карпов [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - 2006. - Т. 8, №3. - С. 217-242.
5. Королева, И.С. Этиология и лабораторная диагностика гнойных бактериальных менингитов / И. С. Королева [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2005. - № 3. - С.5-8.
6. Рогачева, Т.А. Современный подход к лабораторной диагностике менингитов / Т.А. Рогачева // Международный Евро-Азиатский конгресс по инфекционным болезням. - 2008. - С. 191.
7. Сирина, Л.К. Состояние обмена серотонина в ЦНС при гнойных менингитах и менингоэнцефалитах / Л.К. Сирина, В.К. Смирнова, А.П. Куцемилова // Журн. невр. и психиатрии. - 1984; 84. - С. 209-211.
8. Graham, A.K. Association between cerebrospinal fluid pleocytosis and enteroviral meningitis / A.K. Graham, D.R. Murdoch // J. Clin. Microbiol. - 2005. -V.43, №3. -P.1491.
9. Greenlee, J.E. Cerebrospinal fluid in central nervous system infections / J.E. Greenlee, K. Carroll / Chapter 2 In: Scheld WM, Whitley RJ, Durack DT (eds) Infections of the Central Nervous System. - 3rd Edition. - Raven Press, New York. 2004. P. 5-30.
10. Peaston, RT, Weinkove C. Measurement of catecholamines and their metabolites / R.T. Peaston, C.Weinkove // Ann. Clin. Biochem. 2004. - Vol. 41, Pt. 1. - P.17-38.

SIGNIFICANCE OF THE LEVELS OF BIOGENIC AMINES, THEIR PRECURSORS AND METABOLITES IN THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF MENINGEAL SYNDROME

T.V. Liopo, Ye.M. Doroshenko

Educational Establishment "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus

Aim of study: optimization of differential diagnosis of meningeal syndrome (MS).

The levels of biogenic amines, their precursors and metabolites in the cerebrospinal fluid of patients with acute respiratory viral infections with MS, serous and purulent meningitis were investigated. Purulent meningitis was found to be characterized by an increase of CSF levels of aromatic amino acids. The CSF level of serotonin in patients with meningitis (both purulent and serous) was higher than in patients with acute respiratory viral infections and MS. The content of DOPA in patients with serous meningitis was significantly lower than in patients with purulent meningitis. Shifts in the CSF concentrations of biogenic amines and related compounds were found to be useful as additional criteria for the differential diagnosis of MS.

Key words: *biogenic amines, meningitis, CSF, diagnosis.*

Адрес для корреспонденции: e-mail:liopot@mail.ru

Поступила 20.05.2013