

МИЕЛОПЕРОКСИДАЗА И ЛАКТОФЕРРИН В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ЛИКВОРЕ ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ МЕНИНГИТОМ

Ботерашвили Н.М., Алешина Г.М., Сорокина М.Н.^{*},
Иванова В.В.^{*}, Корнева Е. А.

Отдел общей патологии и патофизиологии ГУ «НИИ Экспериментальной медицины РАМН»,

^{*}Клиника нейроинфекций НИИ детских инфекций МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Исследовано содержание гранулярных белков нейтрофильных гранулоцитов миелопероксидазы (МПО) и лактоферрина (ЛФ) в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) у детей с серозной и гнойной формами менингита, а также ОРВИ методом иммуноферментного твердофазного анализа. Показано, что концентрация МПО и ЛФ в сыворотке крови у всех исследованных групп больных повышена по сравнению со здоровыми донорами, причем в случае гнойного менингита уровень МПО в сыворотке крови достоверно выше, чем у больных серозным менингитом. Содержание МПО и ЛФ в ЦСЖ также достоверно различаются у больных разными формами менингита. Концентрация МПО и ЛФ в ЦСЖ у больных гнойным менингитом составляет 703 ± 240 и 5384 ± 1453 нг/мл соответственно, в то время как для серозного менингита эти значения составляют 16 ± 5 и 138 ± 60 нг/мл. Полученные результаты указывают на то, что одновременное определение концентраций нейтрофильных гранулярных белков в сыворотке крови и ликворе больных может иметь значение для дифференциальной диагностики менингитов различной этиологии.

Ключевые слова: серозные, гнойные менингиты, миелопероксидаза, лактоферрин.

Boterashvili N.M., Aleshina G.M., Sorokina M.N., Ivanova V.V., Korneva E.A.

NEUTROPHIL PROTEINS IN THE SERUM AND THE CEREBROSPINAL FLUID OF CHILDREN WITH MENINGITIS

Abstract. We measured concentrations of myeloperoxidase (MPO) and lactoferrin (LF) in the serum and the cerebrospinal fluid (CSF) of children with meningitis, both bacterial (BM) and aseptic (AM) as well as with acute viral infections, using enzyme-linked immunosorbent assay. MPO and LF concentrations in the serum of all patient groups were significantly higher than those in healthy blood donors; furthermore MPO concentration in the serum of children with BM was significantly higher than that in children with aseptic meningitis AM. The concentrations of both MPO and LF in CSF were elevated significantly in children with BM compared with patients with AM. MPO and LF levels in the CSF of children with BM ranged from 26 to 3900 ng/mL with a mean of 703 ng/mL ($SE \pm 240$) and from 0 to 22000 ng/mL with a mean of 5384 ng/mL ($SE \pm 1453$), respectively, whereas MPO and LF levels in the CSF of children with AM ranged from 0 to 80 ng/mL with a mean of 16 ng/mL ($SE \pm 5$) and from 0 to 1000 ng/mL with a mean of 138 ng/mL ($SE \pm 60$), respectively. Therefore, based on our findings, we propose the usefulness of measuring myeloperoxidase and lactoferrin as a possible diagnostic tool and therapeutic monitor in the evaluation of children with meningitis. (*Med.Immunol.*, 2002, vol.4, N 4-5, pp 565-572)

Нейтрофильные гранулоциты являются одной из первых линий защиты организма от вторгающихся в его тело микроорганизмов. Практически любое воздействие на организм приводит к моби-

лизации и перераспределению популяций лейкоцитов, причем неотъемлемым компонентом этой ответной реакции является нейтрофилез. Нейтрофилы являются фагоцитами, т.е. способны поглощать (фагоцитировать) микроорганизмы и умерщвлять их с помощью микробоцидных веществ, содержащихся в гранулах. В их число входят миелопероксидаза, лактоферрин, дефенсины и другие белки и пептиды. В настоящее время показано, что при взаимодействии фагоцита с инфекционным агентом или в результате действия на организм

Адрес для переписки:

Алешина Галина Матвеевна
197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д.12,
ГУ «НИИ Экспериментальной медицины РАМН»
Тел.: (812) 234-07-64, факс (812) 234-94-93,
e-mail: aleshina@VK5270.spb.edu

различных по характеру воздействий (травмы, отравления химическими соединениями и др.) происходит выход содержимого гранул в межклеточное пространство и плазму крови, где оно может оказывать влияние на функционирование как защитных, так и регуляторных систем организма [11]. Таким образом, концентрация нейтрофильных гранулярных белков в биологических жидкостях может быть показателем активности нейтрофилов и иметь как диагностическое, так и прогностическое значение. В качестве таких маркеров активности нейтрофилов используют лактоферрин [1, 3-10, 12-15, 20, 23, 24], лизоцим [12, 24], миелопероксидазу [1, 3, 4, 7, 12, 18, 22, 24, 25], дефенсины [14, 16, 17, 21].

Неврологические расстройства – менингиты и менингоэнцефалиты – являются распространенными патологиями вирусной и бактериальной природы, заболеваемость которыми резко возросла в последние годы, особенно у детей дошкольного и младшего школьного возраста.

Одним из актуальных вопросов в изучении механизмов иммунопатологических процессов при менингитах у детей является определение специфики развития серозной и гнойной форм этого заболевания, а также поиск чувствительных маркеров, позволяющих проводить раннюю дифференциальную диагностику вирусных и бактериальных менингитов. С этой целью нами было исследовано содержание гранулярных белков нейтрофильных гранулоцитов миелопероксидазы (МПО) и лактоферрина (ЛФ) в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости у детей с серозной и гнойной формами менингита методом иммуноферментного твердофазного анализа.

Материалы и методы

В работе использованы венозная кровь и цереброспинальная жидкость (ЦСЖ) 85 детей в возрасте 1 - 12 лет, больных серозной и гнойной формами менингита (24 и 16 детей соответственно), респираторными вирусными инфекциями (36 человек), а также кровь 9 здоровых детей. Все пациенты проходили обследование и лечение в Клинике нейроинфекций (руководитель - д.м.н., проф. М.Н.Сорокина) НИИ детских инфекций МЗ РФ (директор - член-корр. РАМН. В.В.Иванова).

Забор крови и ЦСЖ проводили дважды: первый раз - при поступлении больного в стационар в течение первых двух дней; второй раз - через две недели после госпитализации. Кровь собирали в пробирку без антикоагулянта, после формирования сгустка, эту пробирку и пробирку с ЦСЖ центрифугировали в течение 20 мин при 1500 g и 4°C. Полученную сыворотку и ЦСЖ замораживали и хранили при -20°C.

Выделение и очистка лактоферринов и миелопероксидаз из нейтрофилов

1. Получение лейкоцитарной массы, обогащенной нейтрофилами. Лейкоцитарную массу, обогащенную нейтрофилами человека, получали из цельной крови доноров. К крови добавляли 4 объема 0,83% раствора NH_4Cl для гемолиза эритроцитов. Общее время экспозиции клеток с NH_4Cl не превышало 15 минут. Клетки дважды промывали путем суспендирования в 0,85% растворе NaCl и центрифугировали при 100g в течение 5 минут.

2. Экстракция белков из целых лейкоцитарных клеток. Лейкоциты человека гомогенизировали в 0,3% растворе бромистого цетилтриметиламмония (ЦТАБ) в 0,02 М Na-ацетатном буфере pH 4,5 (на 1 г клеток 10мл раствора) в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком. Гомогенат суспендировали на магнитной мешалке в течение 18 часов, затем освобождались от нерастворенного материала центрифугированием в течение 60 минут при 25000 g. Для более полного извлечения белков экстракцию из осадка повторяли и супернатанты объединяли. Полученные экстракты (ЦТАБ-экстракты) использовали для выделения лактоферрина и миелопероксидазы.

3. Выделение миелопероксидазы и лактоферрина. Все операции по выделению белков проводили при 4°C. ЦТАБ-экстракт наносили на колонку КМ-целлюлозы CM-32 (Whatman, Англия), уравновешенную 0,02 М Na-ацетатным буфером pH 4,5. Связавшиеся белки элюировали сначала тем же буферным раствором с 0,1 М NaCl , потом снимали фракции, обогащенные лактоферрином при концентрации NaCl 0,2 М. Сконцентрированный полуочищенный препарат ЛФ фракционировали на колонке сефадекса G-100 (Pharmacia, Швеция) для получения чистого ЛФ.

Оставшиеся белки снимали с КМ-целлюлозы колонки 0,02 М Na-ацетатным буфером с линейно возрастающей концентрацией NaCl от 0,2 до 1,2 М. За ходом элюции следили спектрофотометрически, измеряя во фракциях поглощение гема - при длине волны 430 нм, белка при длине волны 280 нм (показатель чистоты МПО - $RZ = A_{430}/A_{280}$ для чистого фермента $RZ=0,75-0,8$) и пероксидазную активность. Фракции, содержащие пероксидазную активность, объединяли, диализовали против 0,2 М раствора NaCl в 0,05 М трис- HCl буфере pH 8,7 и хроматографировали на колонке КМ-целлюлозы CM-32 забуференной этим же раствором. Элюцию проводили раствором NaCl с линейно возрастающей концентрацией от 0,2 до 0,6 М в 0,05 М трис- HCl буфере pH 8,7. Фракции с пероксидазной активностью объединяли, и наносили на колонку сефадекса G-200. Фракции с $RZ = 0,75-0,8$ объединяли, диализовали против воды и лиофилизировали.

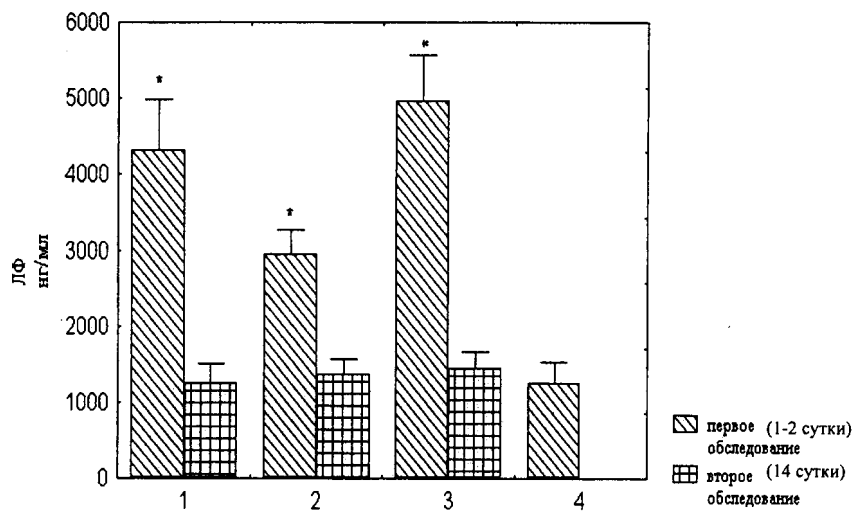


Рис.1. Содержание лактоферрина в сыворотке крови больных. 1 – ОРВИ, 2 – серозный менингит, 3 – гнойный менингит, 4 – контроль (здоровые дети).

*- $p < 0.05$ по сравнению с контрольной группой

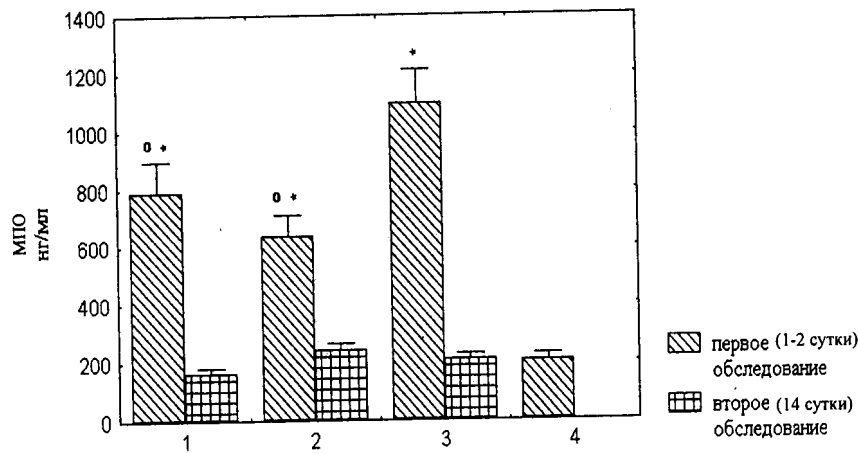


Рис.2. Содержание миелопероксидазы в сыворотке крови больных. 1 – ОРВИ, 2 – серозный менингит, 3 – гнойный менингит, 4 – контроль (здоровые дети).

*- $p < 0.05$ по сравнению с контрольной группой; o - $p < 0.05$ по сравнению с группой 3

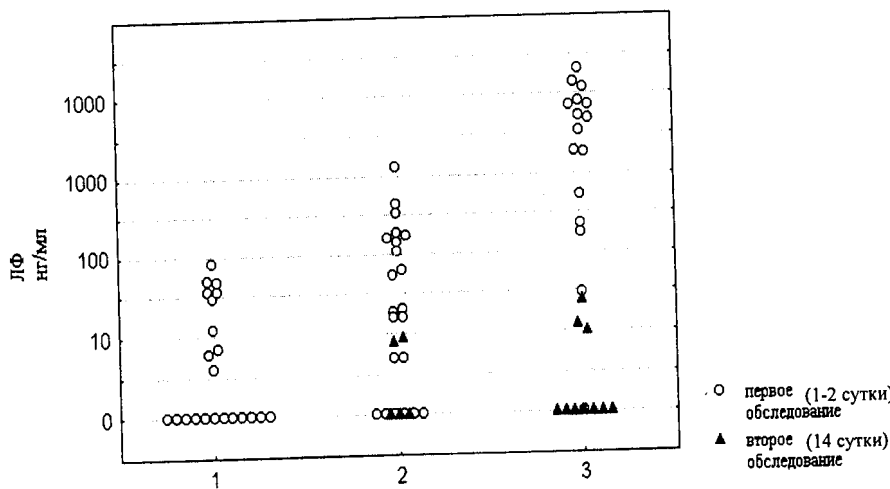


Рис.3. Содержание лактоферрина в ЦСЖ больных (индивидуально у каждого больного).

1 – ОРВИ, 2 – серозный менингит, 3 – гнойный менингит

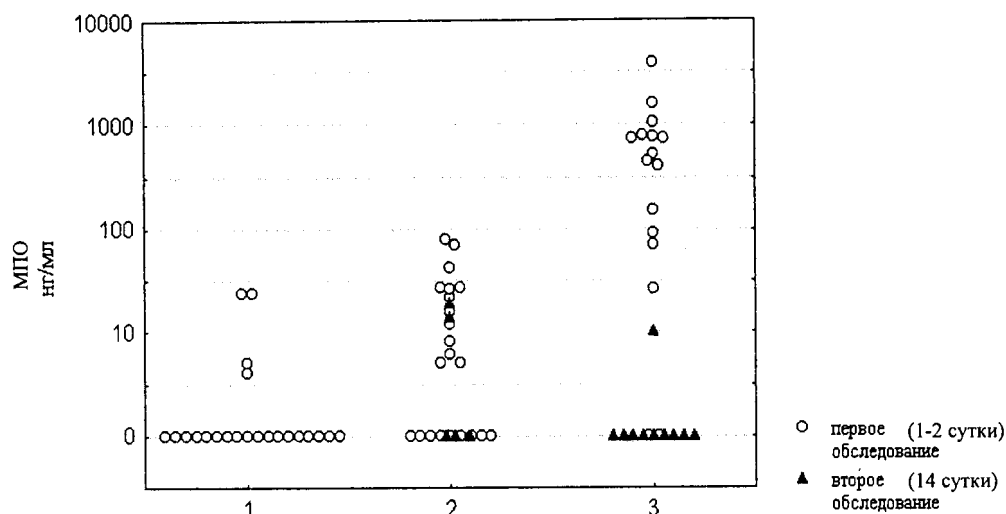


Рис.4. Содержание миелопероксидазы в ЦСЖ больных (индивидуально у каждого больного).

1 – ОРВИ, 2 – серозный менингит, 3 – гнойный менингит

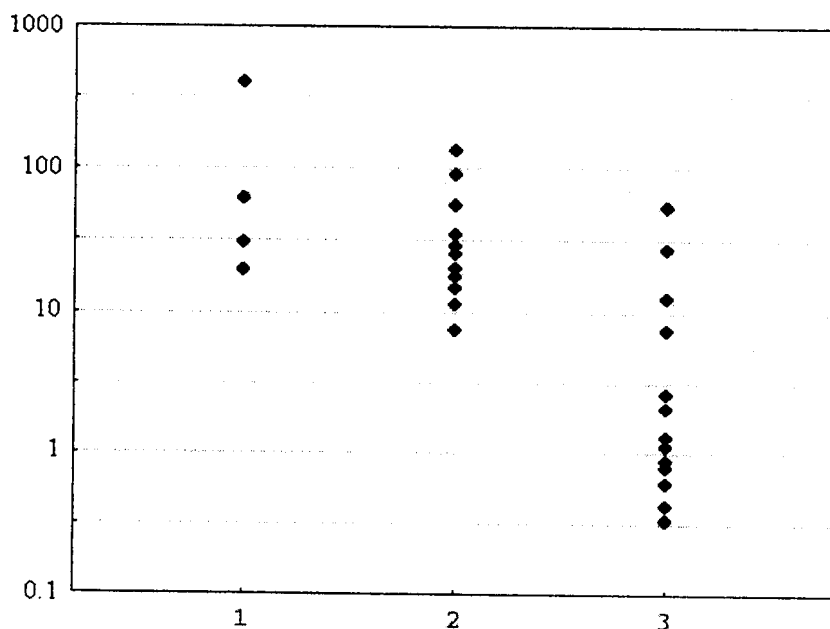


Рис.5. Отношение концентрации миелопероксидазы в сыворотке крови больных к ее концентрации в ЦСЖ.

1 – ОРВИ, 2 – серозный менингит, 3 – гнойный менингит

Получение антисывороток к белкам. Для получения иммунных сывороток к лактоферрину и миелопероксидазе использовали следующую схему [24]: кроликам трижды в течение недели вводили внутривенно в область спины по 100 мкг препаратов белка в 0,2 мл 85%-ного раствора NaCl в смеси с равным объемом полного адьюванта Фрейнда. Через три недели кроликов реиммунизировали тем же количеством антигена в неполном адьюванте Фрейнда. Через 7-10 дней после реиммунизации из краевой вены уха кролика собирали кровь в стеклянные пробирки, выдерживали ее сначала в течение 60 минут

при температуре 37°C, а затем несколько часов при 4°C. После образования фибринового сгустка сыворотки центрифугировали в течение 10 минут при 500 g и отсасывали. Антисыворотки хранили в лиофилизированном состоянии или при 4°C, добавив в качестве антимикробного агента мертиолат (тимерозал) до конечной концентрации 0,01%.

Получение моноспецифических иммуноглобулинов. Фракцию гаммаглобулинов из иммунной сыворотки получали высаливанием насыщенным раствором $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. К 10 мл сыворотки добавляли 5 мл 4M раствора $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, осадок отделяли центрифуги-

гированием, перерастворяли в воде и повторяли процедуру высаливания. Полученную фракцию гаммаглобулинов диализовали против 0,01 М Na-фосфатного буфера pH 8,0 и наносили на колонку ДЭАЭ-целлюлозы, уравновешенной 0,01 М Na-фосфатным буфером pH 8,0. Фракции, не связавшиеся с ДЭАЭ-целлюлозой, использовали для дальнейшей аффинной очистки на колонке Сефарозы с пришитой миелопероксидазой (МПО-Сефароза) или лактоферрином (ЛФ-Сефароза). Гаммаглобулины, отдиализованные против 0,01 М Na-фосфатного буфера, 0,15 М NaCl, pH 7,4 наносили на колонку МПО(ЛФ)-Сефарозы, уравновешенной тем же буфером, отмывали от несвязавшихся белков и элюировали антитела к МПО (анти-МПО) или ЛФ (анти-ЛФ) 0,1 М раствором глицин-HCl, 0,1 М NaCl, pH 3,0. Полученные анти-МПО (анти-ЛФ) диализовали против 0,01 М Na-фосфатного буфера, 0,15 М NaCl, pH 7,4, добавляли тимерозал до конечной концентрации 0,01% и хранили при -20°C. Эти антитела использовали в качестве первичных антител в твердофазном иммуноферментном анализе (ИФА) и для получения конъюгатов анти-МПО (анти-ЛФ) и пероксидазы хрена (ПХ).

Получение конъюгатов антител и пероксидазы хрена. Конъюгаты получали периодатным методом [2]. 4-8 мг ПХ растворяли в 1 мл H₂O, добавляли к нему 2 мл свежеприготовленного водного 0,1 М раствора периодата натрия (NaJO₄) и перемешивали в стеклянном флаконе в течение 20 минут. Затем смесь диализовали в течение 18 часов при 4°C против 1 мМ Na-ацетатного буфера pH 4,4. После диализа доводили pH смеси до 9,0-9,5 0,2 М раствором Na₂CO₃ (20 мкл) и сразу добавляли 1 мл раствора иммуноглобулинов (10 мг/мл), предварительно отдиализованного против 0,05 карбонат-бикарбонатного буфера pH 9,5. Смесь перемешивали 2 часа при комнатной температуре, добавляли к смеси 100 мкл свежеприготовленного раствора (4 мг/мл) боргидрида натрия (NaBH₄), инкубировали 2 часа при 4°C и диализовали против 0,1 М боратного буфера pH 7,4. Отдиализованную смесь наносили на колонку Сефадекса G-200, уравновешенную боратным буфером. Конъюгат выходит в первом пике, обладающем как антительной, так и ферментативной активностью. Полученный конъюгат анти-МПО-ПХ стабилизировали добавлением бычьего сывороточного альбумина до конечной концентрации 8 мг/мл, добавляли мертиолат до конечной концентрации 0,01% и хранили при -20°C.

Процедура иммуноферментного определения МПО и ЛФ в сыворотке крови и ЦСЖ. Концентрацию МПО и ЛФ в биологических жидкостях определяли твердофазным иммуноферментным анализом (ИФА), методом «сэндвича». В лунки планшета для ИФА (Falcon 3912 Microtest III Flexible Assay Plate) вносили по 100 мкл раствора анти-МПО (анти-ЛФ) в концентрации 10 мкг/мл в 0,1 М карбонат-бикарбонатном буфере pH 9,5 и инкубировали в течение

ночи при комнатной температуре. Затем планшеты не менее 4-х раз отмывали буфер для промывки (0,01 М Na-фосфатный буфер pH 7,2, содержащий 0,15 М NaCl и 0,05% Tween-20). В промытые лунки вносили исследуемые образцы (сыворотки крови, ЦСЖ.) в объеме 100 мкл, разведенные до рабочих концентраций буфером для промывки с 0,1% бычьим сывороточным альбумином (БСА). Этим же буфером делали последовательные разведения стандартного раствора МПО (ЛФ) для получения следующих концентраций: 80, 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25 нг/мл. Планшеты инкубировали в течение ночи при 4°C. После инкубации планшеты промывали буфером для промывки, вносили по 100 мкл конъюгатов анти-МПО-ПХ (анти-ЛФ-ПХ) в разведении 1:2000 (разводили буфером, содержащим 0,1% БСА) и инкубировали в течение ночи при 4°C. Затем планшеты особенно тщательно промывали и вносили по 100 мкл раствора субстрата для ПХ (0,2 мг/мл о-фенилендиамина в 20 мМ цитратном буфере pH 5,0, содержащем 0,5 мкл/мл 30% H₂O₂), реакцию останавливали добавлением 50 мкл 2,5 М H₂SO₄ и измеряли экстинкцию при длине волны 492 нм на ридере Multiscan. На основании стандартных разведений МПО и ЛФ строили калибровочную кривую и по ней определяли содержание МПО и ЛФ в исследуемых образцах.

Результаты

1. Содержание ЛФ и МПО в крови больных.

Концентрация ЛФ в сыворотке крови контрольной группы здоровых детей составляла 1257±287 нг/мл (средняя стандартная ошибка), медиана - 1047 нг/мл, стандартное отклонение - 860 нг/мл (Рис.1). Во всех исследуемых группах больных в первые 1-2 дня заболевания концентрация ЛФ в сыворотке крови была достоверно выше, чем в контрольной группе и составляла для больных ОРВИ - 4300±738 нг/мл (медиана - 2868 нг/мл, стандартное отклонение - 4426 нг/мл), серозным менингитом 2945±364 нг/мл (медиана - 2540 нг/мл, стандартное отклонение - 1786 нг/мл) и гнойным менингитом - 4955±830 нг/мл (медиана - 4914 нг/мл, стандартное отклонение - 3322 нг/мл). Через две недели лечения концентрация ЛФ в сыворотке крови снижалась до нормы (Рис.1).

Аналогичная картина наблюдалась и для уровня МПО в сыворотке крови. Содержание МПО в сыворотке крови больных ОРВИ в первые 1-2 дня заболевания составляло 790±118 нг/мл (медиана - 423 нг/мл, стандартное отклонение - 712 нг/мл), серозным менингитом - 638±83 нг/мл (медиана - 466 нг/мл, стандартное отклонение - 405 нг/мл), гнойным менингитом - 1100±153 нг/мл (медиана - 1022 нг/мл, стандартное отклонение - 611 нг/мл), что достоверно выше, чем в контрольной группе здоровых детей - 203±27 нг/мл (медиана - 177 нг/мл, стандарт-

ное отклонение - 81 нг/мл) (Рис. 2). Необходимо отметить, что концентрация МПО в сыворотке крови у больных гнойным менингитом достоверно выше, чем у больных серозным менингитом и ОРВИ. В ходе лечения через две недели после госпитализации концентрация МПО в сыворотке крови снижалась до нормы.

2. Содержание ЛФ и МПО в ЦСЖ больных. ЛФ не выявлен у 12 из 22 пациентов (55%) больных ОРВИ, у остальных 10 детей концентрация ЛФ в ЦСЖ была в пределах 4 - 81 нг/мл (Рис. 3). Средняя величина по всей группе - $14,0 \pm 4,8$ (медиана - 0 нг/мл, стандартное отклонение - 22,4 нг/мл). В группе больных серозным менингитом ЛФ не выявлен в ЦСЖ 6 из 22 больных (27%). У остальных 16 человек концентрация ЛФ в ЦСЖ составила от 5 до 1300 нг/мл (Рис. 3). Средняя концентрация ЛФ в группе $137,6 \pm 60,4$ нг/мл (медиана - 19,5 нг/мл, стандартное отклонение - 284,6 нг/мл). В группе больных гнойным менингитом ликвор только одного больного из 16 не содержал ЛФ. У остальных концентрация находилась в пределах 30 - 22000 нг/мл. Среднее значение в группе - 5384 ± 1453 нг/мл (медиана - 4163 нг/мл, стандартное отклонение - 3813 нг/мл).

МПО не выявлена у 18 из 22 пациентов (82%) больных ОРВИ, у остальных концентрация МПО в ЦСЖ составила от 4 до 24 нг/мл (Рис. 4). Среднее значение по всей группе - $2,6 \pm 1,5$ нг/мл (медиана - 0 нг/мл, стандартное отклонение - 7,1 нг/мл). В группе больных серозным менингитом ликвор 9 пациентов (41%) не содержал МПО, у остальных 13 больных (59%) концентрация МПО в ЦСЖ составила от 5 до 80 нг/мл. Среднее значение в группе $15,7 \pm 4,8$ нг/мл (медиана - 5,5 нг/мл, стандартное отклонение - 22,7 нг/мл). В группе больных гнойным менингитом только у двух пациентов из 16 не была выявлена МПО в ЦСЖ, еще у 2-х концентрация МПО составила 26 и 70 нг/мл, и у 12 человек (75%) концентрация МПО в ЦСЖ была в пределах от 92 до 3900 нг/мл (Рис. 4). Среднее значение в группе - 703 ± 240 нг/мл (медиана - 486 нг/мл, стандартное отклонение - 960 нг/мл).

Обсуждение

В работах, посвященных выявлению нейтрофильных гранулярных белков в биологических жидкостях, показано, что инфекционный процесс приводит к повышению уровня этих белков в сыворотке и плазме крови [1, 4-6, 12, 15, 17, 18, 20-22]. Резкое возрастание концентрации нейтрофильных белков в сыворотке и (или) плазме крови особенно характерно для бактериальных инфекций: сепсисе [15, 18], муковисцидозе, бактериальной инфекции нижних дыхательных путей [22], пневмонии [5]. В работах отдела Общей патологии и патофизиологии ГУ «НИИЭМ РАМН» также продемонстрировано резкое возрастание кон-

центрации миелопероксидазы (МПО) и лактоферрина (ЛФ) в сыворотке крови больных перитонитом [3], а также при туберкулезе [7].

Несколько иная картина имеет место при вирусных инфекциях. Показано, что при некоторых острых вирусных инфекциях содержание ЛФ в нейтрофилах и плазме крови снижалась [8], ВИЧ-инфицированные пациенты имеют уровень ЛФ в плазме крови значительно ниже нормы [10]. Нами было показано, что в ходе обострения хронической герпетической инфекции уровень ЛФ в сыворотке крови не превышает норму, но возрастает по мере развития ремиссии, в то время как уровень МПО остается выше нормы на всем протяжении заболевания, как при обострении, так и при ремиссии [1].

Такое опасное заболевание как менингит может быть вызвано инфекционными агентами как бактериальной, так и вирусной природы. Обе формы имеют сходную клиническую картину, но требуют различных подходов в лечении.

Одно из первых исследований по определению уровня гранулярных белков в плазме крови проводилось на больных (8 пациентов) гнойным менингитом [12]. Методом радиоиммунного анализа было показано, что в первые дни заболевания уровень ЛФ и МПО (но не лизоцима) резко повышался и затем снижался до нормы в ходе лечения. Аналогичные результаты были недавно получены для дефенсина [17].

В настоящей работе впервые проведено сравнительное исследование содержания МПО (маркера азурофильных гранул НГ) и ЛФ (маркера специфических гранул НГ) в сыворотке крови и ЦСЖ больных различными формами менингита и ОРВИ.

Полученные данные по определению ЛФ в сыворотке и ЦСЖ больных менингитом хорошо коррелируют с результатами работ других авторов [12, 14]. В первые дни заболевания концентрация ЛФ в сыворотке крови больных как серозным, так и гнойным менингитом резко возрастает, затем в ходе лечения снижается до нормы (Рис.1). Среднее значение содержания ЛФ в сыворотке у больных серозным менингитом меньше, чем в случае гнойного менингита, но большой разброс значений не позволяет говорить о достоверности различия между этими величинами. Определение ЛФ в ЦСЖ больных выявило существенную разницу между содержанием ЛФ в ЦСЖ у больных гнойным и серозным менингитом (Рис. 3). Значения концентрации ЛФ у больных серозным менингитом варьировали в пределах 0 - 1300 нг/мл (среднее - 138 нг/мл, медиана - 19,5 нг/мл), а у больных гнойным менингитом 0 - 22000 нг/мл (среднее - 5385 нг/мл, медиана - 4163 нг/мл). Аналогичное исследование по определению содержания ЛФ иммуноферментным методом в ЦСЖ детей больных менингитом провели американские исследователи [14]. По их данным концентрация ЛФ в ЦСЖ больных серозным менингитом варьирует в

пределах 0 - 2715 нг/мл (среднее - 1042, SD +/- 878, медиана - 852 нг/мл), а больных гнойным менингитом 184 - 31412 нг/мл (среднее 13209 нг/мл, SD +/- 9644, медиана - 10382 нг/мл).

Определение МПО иммуноферментным методом в сыворотке и ЦСЖ больных менингитом было проведено впервые.

Показано, что уровень МПО в сыворотке крови резко возрастает в первые дни заболевания менингитом, причем для гнойного менингита эти значения достоверно выше, чем для серозного (Рис. 2).

Определение МПО в ЦСЖ выявило более существенные различия этого показателя у больных различными формами менингита и ОРВИ, чем при определении ЛФ (Рис. 4). Показано, что 82% больных ОРВИ не содержат МПО в ЦСЖ (18% - от 4 до 24 нг/мл), у 59% детей с серозным менингитом концентрация МПО в ЦСЖ была в пределах 5 - 80 нг/мл (ликвор 41% больных серозным менингитом не содержал МПО), концентрация МПО в ЦСЖ 75% детей больных гнойным менингитом составила от 92 до 3900 нг/мл (у 25% детей этой группы содержание МПО в ЦСЖ было меньше 92 нг/мл).

Необходимо особо подчеркнуть, что ЦСЖ 82% больных серозным менингитом и 94% больных гнойным менингитом содержала или МПО, или ЛФ, или оба эти белка, в то время как ликвор 82% больных ОРВИ не содержал ни МПО, ни ЛФ.

Особый интерес для дифференциальной диагностики серозного и гнойного менингита может представлять отношение концентраций нейтрофильных белков и особенно МПО в сыворотке и ЦСЖ (Рис.5). У всех исследованных больных с серозным менингитом отношение концентрации МПО в сыворотке крови и ЦСЖ было не ниже 7,43, в то время как у 72% больных гнойным менингитом это значение было от 2,63 и ниже.

Полученные результаты указывают на то, что одновременное определение концентраций нейтрофильных гранулярных белков в сыворотке крови и ЦСЖ больных может иметь значение для дифференциальной диагностики менингитов различной этиологии и ОРВИ с менингеальными явлениями.

Список литературы

1. Брызжикова Т.С., Алешина Г.М., Исаков В.А., Мазинг Ю.А. Функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов у больных рецидивирующим герпесом // Бюлл. эксперим. биол. и мед.-1995.- Т.120.- №9.- С.329-331.
2. Кэтти Д., Райкундалиа Ч. Иммуноферментный анализ (пер. с англ.) // Антитела. Методы.- М.: Мир, 1991.- Кн.2.- С.152-238.
3. Мельникова В.Н., Волкова С.Д., Мирошниченко А.Г., Гончар В.А., Кайтанджан Е.И., Ларин Д.Г., Алешина Г.М. Лечебный плазмалейкоцитаферез как

метод детоксикации и аутоиммунокоррекции при перитоните // Материалы научн.-практ. конф. "Лечебный плазмаферез", С.-Петербург, 1997.- С.33-35.

4. Осидак Л.В., Румель Н.Б., Милькинт К.К., Данини Г.В., Коренько И.Е., Акимова С.Л., Алешина Г.М., Доценко Е.К. Госпитальные респираторные инфекции у детей // Вестник Российской академии медицинских наук.- 1994.- № 9.- С.10-15.

5. Трубников Г.А., Сухарев А.Е., Уклистая Т.А., Орлова Е.А. Клинико-диагностическое значение исследований ферритина и лактоферрина при доброкачественных и злокачественных поражениях легких и плевры // Клиническая медицина.-1998.- № 3.- С. 21-26.

6. Adeyemi E.O., D'Anastasio C., Impallomeni M.G., Hodson H.J. Plasma lactoferrin as a marker of infection in elderly individuals // Aging (Milano).- 1992.- Vol.4.- №2.- P.135-137.

7. Aleshina G.M., Novikova N.S., Tyrnova E.V., Shenderova R.I., Yakunova O.A., Kokryakov V.N. Innate immunity alteration in patients with pulmonary tuberculosis // Pathophysiology.- 1998.- Vol.5.- Suppl.1.- P.146.

8. Baynes R.D., Bezwoda W.R., Mansoor N. Neutrophil lactoferrin content in viral infections // Am. J. Clin. Pathol.- 1988.- Vol.89.- №2.- P.225-228.

9. Bennett R.M., Mohla C.H. A solid-phase radioimmunoassay for the measurement of lactoferrin in human plasma: variation with age, sex, and disease // J. Lab. Clin. Med.- 1976.- Vol.88.- P.156-166.

10. Defer M.C., Dugas B., Picard O., Damais C. Impairment of circulating lactoferrin in HIV-1 infection // Cell Mol. Biol. (Noisy-le-grand).- 1995.- Vol.41.- №3.- P.417-421.

11. Ganz T. Extracellular release of antimicrobial defensins by human polymorphonuclear leukocytes // Infect. Immun.- 1987.- Vol.55.- P.568-571.

12. Hansen N.E., Karle H., Andersen V., Malmquist J., Hoff G.E. Neutrophilic granulocytes in acute bacterial infection. Sequential studies on lysozyme, myeloperoxidase and lactoferrin // Clin. Exp. Immunol.- 1976.- Vol.26.- P.463-468.

13. Hetherington S.V., Spitznagel J.K., Quie P. An enzyme-linked immunoassay (ELISA) for measurement of lactoferrin // J. Immunol. Methods.- 1983.- Vol.65.- P.183-190.

14. Maffei F.A., Heine R.P., Whalen M.J., Mortimer L.F., Carcillo J.A. Levels of antimicrobial molecules defensin and lactoferrin are elevated in the cerebrospinal fluid of children with meningitis // Pediatrics.- 1999.- Vol.103.- №5.- P.987-992.

15. Nuijens J.H., Abbink J.J., Wachtfogel Y.T., Colman R.W., Eerenberg A.J., Dors D., Kamp A.J., Strack van Schijndel R.J., Thijs L.G., Hack C.E. Plasma elastase, 61-antitrypsin and lactoferrin in sepsis: evidence for neutrophils as mediators in fatal sepsis // J. Lab. Clin. Med.- 1992.- Vol.119.- P.159-168.

16. Panyutich A.V., Voitenok N.N., Lehrer R.I., Ganz T. An enzyme immunoassay for human defensins // J. Immunol. Methods.- 1991.- Vol.141.- P.149-155.
17. Panyutich A.V., Panyutich E.A., Krapivin V.A., Baturevich E.A., Ganz T. Plasma defensin concentrations are elevated in patients with septicemia or bacterial meningitis // J. Lab. Clin. Med.- 1993.- Vol.122.- №2.- P.202-207.
18. Pincemail J., Deby-Dupont G., Deby C., Thirion A., Torpier G., Faymonville M.E., Damas P., Tomassini M., Lamy M., Franchimont P. Fast double antibody radioimmunoassay of human granulocyte myeloperoxidase and its application to plasma // J. Immunol. Methods. - 1991. - Vol.137. - P.181-191.
19. Pryzwansky K.B., Martin L.E., Spitznagel J.K. Immunocytochemical localization of myeloperoxidase, lactoferrin, lysozyme and neutral proteases in human monocytes and neutrophilic granulocytes // J. Reticuloendothel.Soc.- 1978.- Vol.24.- P.295-310.
20. Scott P.H. Plasma lactoferrin levels in newborn preterm infants: effect of infection // Ann. Clin. Biochem.- 1989.- Vol.26.- P.412-415.
21. Shiomi K., Nakazato M., Ihi T., Kangawa K., Matsuo H., Matsukura S. Establishment of radioimmunoassay for human neutrophil peptides and their increases in plasma and neutrophil in infection // Biochem. Biophys. Res. Commun.- 1993.- Vol.195.- №3.- P.1336-1344.
22. Tauber E., Herouy Y., Goetz M., Urbanek R., Hagel E., Koller D.Y. Assessment of serum myeloperoxidase in children with bronchial asthma // Allergy.- 1999.- Vol.54.- №2.- P.177-182.
23. Van der Strate B.W., Harmsen M.C., The T.H., Sprenger H.G., de Vries H., Eikelboom M.C., Kuipers M.E., Meijer D.K., Swart P.J. Plasma lactoferrin levels are decreased in end-stage AIDS patients // Viral Immunol.- 1999- Vol.12.- №3.- P.197-203.
24. Venge P., Foucard T., Henrikson J., Hokassen L., Kreuger A. Serum-levels of lactoferrin, lysozyme and myeloperoxidase in normal, infection-prone and leukemic children // Clin. Chim. Acta.- 1984.- Vol.136.- №2.- P.121-130.
25. Vilja P., Lumikari M., Tenovu J., Sievers G., Tuohimaa P. Sensitive immunometric assays for secretory peroxidase and myeloperoxidase in human saliva // J. Immunol. Methods.- 1991. - Vol.141. - P.277-284.

поступила в редакцию 10.11.2001
принята к печати 04.12.01