

Маркеры нарушений нервной системы

Болезнь Альцгеймера 616 Инсульт и воспаление 619
Рассеянный склероз 623 Другие маркеры 626

МАРКЕРЫ, ОПИСАННЫЕ В ТОМЕ КАТАЛОГА

β-амилоид (Ab40, Ab42) / Антикохлеарные антитела (анти-68 kD, hsp-70) / Антинейрональные аутоантитела / Антитела к ганглиозидам (GanglioCombi) / Антитела к интерферону β (анти-IFNβ антитела) / Антитела к ламинину β / Антитела к миелон-ассоциированному гликопротеину (анти-MAG) / Антитела к рибосомальным белкам Р и РНК / Антитела к сфингомиелину (СМ) / Антитела к сульфатированному глюкуронам параглобозиду (SGPG) / Белок S-100 / Глиальный фибриллярный кислый протеин (GFAP) / Мелатонин и мелатонин сульфат / Нейронспецифическая енолаза (NSE) / Нейротропин-3 (NT3) и нейротропин-4/5 (NT4/5) / Нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) / Никастрин / Основной белок миелина (MBP) / Пигментный фактор эпителиального происхождения (PEDF) / Рецептор конечных продуктов гликозилирования (RAGE) / Серотонин / Фосфорилированный нейрофиламент Н (pNF-H) / Цилиарный нейротрофический фактор (CNTF)

сокращения раздела:

Аβ – β-амилоид

БА – болезнь Альцгеймера

ГЭБ – гематоэнцефалический барьер

ТИА – транзиторная ишемическая атака

СМЖ – спинномозговая жидкость

ЦНС – центральная нервная система

GM-CSF – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

IFN – интерферон

IL – интерлейкин

MMP – матриксная металлопротеаза

ТН – Т-хелпер

TNF – фактор некроза опухолей

Болезнь Альцгеймера

Болезнь Альцгеймера (БА) – наиболее распространенная форма деменции, неизлечимое дегенеративное заболевание. На ранней стадии БА характеризуется умеренными когнитивными нарушениями, которые могут быть выявлены и охарактеризованы психоневрологическими тестами. По мере развития заболевания наблюдается прогрессирующая деменция, афазия и т.д. Постепенная потеря функций организма ведет к смерти. В мозге больных БА присутствуют многочисленные внеклеточные бляшки (сенильные бляшки), со-

стоящие, в первую очередь, из β-амилоида (Аβ), а также из множества внутриклеточных нейрофибриллярных клубков, состоящих в основном из гиперфосфорилированного тау-белка. Эти образования приводят к активации астроцитов и микроглии. В областях мозга, поврежденных бляшками, наблюдается развитие воспалительного процесса, включающее повышение продукции цитокинов, простагландина E2, активности Cox-2, свободных радикалов, нарушение транспорта кальция.

Предложены три основных объяснения развития заболевания. Наиболее ранней является «холинергическая гипотеза», согласно которой БА

вызывается снижением синтеза нейромедиатора ацетилхолина. Однако лекарственные препараты, корректирующие дефицит ацетилхолина, малоэффективны при БА. Предполагаются и иные холинергические эффекты, ведущие к развитию генерализованного нейровоспалительного процесса.

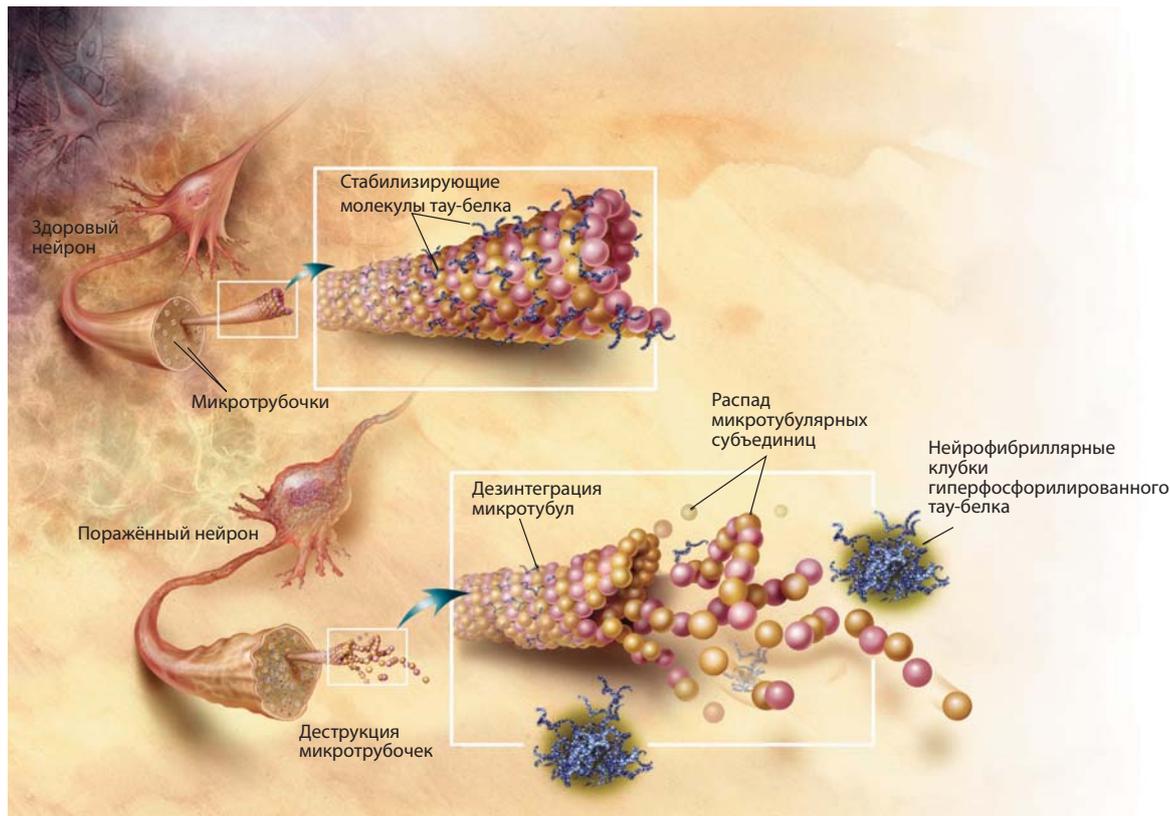
Позже была предложена «амилоидная гипотеза», согласно которой основной причиной заболевания являются отложения $A\beta$. Он является фрагментом более крупного белка-предшественника – APP. Это трансмембранный белок, играющий важную роль в росте и выживании нейронов и их восстановлении после повреждений. APP подвергается протеолизу. β -амилоидные нити слипаются в плотные образования – сенильные бляшки. Интересно, что ген APP расположен на 21 хромосоме, и почти у всех больных с синдромом Дауна, доживших до 40 лет, наблюдается Альцгеймер-подобная патология. Экспрессия изоформы 4 белка аполипопротеина E (apoE4) приводит к избыточному накоплению $A\beta$ в тканях мозга еще до появления симптомов заболевания и является генетическим фактором риска

БА. Однако не выявлено достоверной корреляции между накоплением бляшек и потерей нейронов. Неизвестно, как именно скопление β -амилоидных пептидов вызывает патологические отклонения при БА. Считается, что отложения нарушают гомеостаз ионов кальция в клетке и провоцируют апоптоз. Известно, что $A\beta$ ингибирует некоторые ферменты и влияет на метаболизм глюкозы.

Третьей является тау-гипотеза, согласно которой развитие патологии запускается изменениями в структуре тау-белка. Предполагают, что при гиперфосфорилировании тау-белка его нити начинают связываться друг с другом, слипаться в нейрофибриллярные клубки и разрушать транспортную систему нейрона, что приводит в итоге к дезинтеграции микротрубочек, нарушению биохимической передачи сигналов между клетками, а затем и к их гибели (см. рисунок).

Поскольку воспаление может развиваться при повреждении тканей при любом заболевании, то при БА оно также может играть вторичную роль по отношению к основной патологии.

Схема процесса дезинтеграции микротрубочек при болезни Альцгеймера



В диагностике БА широко используются нейropsychологические тесты. Однако, особенно на ранних стадиях заболевания, для получения надежных результатов требуется более широкий спектр диагностических процедур. Известно, что отложение в мозге таких белков, как Аβ и связанного с микротрубочками тау-белка коррелирует с нарушением работы синапсов и ухудшением памяти и мыслительных способностей. Эти белки также характерны для других нейродегенеративных заболеваний: болезни Паркинсона и Лу Герига. Показано, что определение содержания Аβ и/или тау-белка в спинномозговой жидкости (СМЖ) может служить объективным маркером заболевания.

Тау-белок

Тау-белок принадлежит к группе белков, ассоциированных с микротрубочками (MAP), и выявляется в основном в аксонах нейронов мозга позвоночных. У человека существует шесть различных изоформ тау-белка, образующихся в результате альтернативного сплайсинга общего транскрипта гена, расположенного на 17 хромосоме. Молекулярная масса изоформ тау-белка колеблется от 48 до 68 кДа. Тау-белок в норме прикреплен к микротрубочкам аксонов. Он стабилизирует микротрубочки и придает им жесткость. Тау-белок взаимодействует с актином цитоскелета отростков нейронов, закрепляя такие ферменты, как протеинкиназы и фосфатазы, и регулирует внутриклеточный транспорт везикул. Тау-белок фосфорилируется многими серин/треонинкиназами, включая GSK-3β, PKA, PKC, CDK5, MARK, JNK, p38MARK и казеинкиназу II. Фосфорилирование тау-белка регулирует и нормальные функции белка, и его патологические эффекты. Гиперфосфорилированные формы тау-белка являются основным компонентом нейрофибриллярных клубков при БА. Гиперфосфорилирование ухудшает способность тау-белка связываться с микротрубочками, что приводит к дестабилизации микротрубочек в мозге у больных БА, и, в конечном счете, к нейрональной дегенерации. Накопление волокон тау-белка вовлечено в развитие и других нейродегенеративных заболеваний, включая кортикобазальную дегенерацию, прогрессирующий супрануклеарный паралич, болезнь Ниманна-Пика

и некоторые формы болезни Паркинсона. Циркулирующий тау-белок может быть определен в СМЖ. Показано, что уровни тау-белка и фосфорилированного тау-белка значительно повышены у больных БА и другими нейродегенеративными заболеваниями.

Предлагаемый набор Human Tau (Total) ELISA является чувствительным и надежным методом количественного определения человеческого тау-белка (и фосфорилированной, и нефосфорилированной форм) в образцах СМЖ, буферных растворах и супернатантах клеточных культур. Данный метод распознает как нативный, так и рекомбинантный тау-белок.

Белок-предшественник амилоида (APP)

Человеческий APP – это большой трансмембранный белок, кодируемый геном, локализованным на 21 хромосоме. APP синтезируется в виде незрелого предшественника, белка с м.м. 95 кДа, а посттрансляционная модификация приводит к образованию холопротеина APP с м.м. 100-120 кДа. APP присутствует в аппарате Гольджи, эндосомах и клеточной мембране. В аппарате Гольджи APP ориентирован так, что N-концевой участок находится в просвете, а C-концевой погружен в цитоплазму. APP клеточной мембраны со стороны N-конца содержит большой экзодомен, трансмембранный домен и короткий цитоплазматический хвост. APP протеолитически расщепляется под действием различных протеаз. β-секретаза расщепляет APP с образованием N-концевого (sAPPβ, м.м. 100 кДа) и C-концевого (C99, м.м. 12 кДа) фрагментов. Меньший фрагмент, C99, в дальнейшем может расщепляться под действием пресенилин-зависимой γ-секретазы с образованием нерастворимого Аβ, пептида с м.м. примерно 4 кДа, состоящего из 40-43 аминокислотных остатков. Кроме того, APP может расщепляться α-секретазой, что приводит к образованию большого растворимого фрагмента, известного как sAPPα, и небольшого мембраносвязанного фрагмента C83, состоящего из 83 аминокислотных остатков (м.м. 10 кДа). В свою очередь, при его расщеплении C83 γ-секретазой образуются малые фрагменты, известные как p3. Основным интересом представляет то, что под действием α-секретазы APP расщепляется с образованием Аβ.

Многие исследования посвящены изучению функций APP и роли различных его фрагментов, образующихся в результате протеолитического расщепления, в поведении, обучении и когнитивных нарушениях. Показано, что экспрессия APP повышается под действием фактора роста нервов, и APP может оказывать антиапоптотическое действие в его отсутствии. Секретируемый sAPP α обладает нейротропными и нейротропными свойствами, регулирует чувствительность клеток и эластичность синапсов.

Хотя APP и sAPP α оказывают защитное действие на нейроны, продукт расщепления APP, A β , обладает пагубным воздействием на функцию нейронов и когнитивные способности. Накопление A β во внутриклеточных нейрофибриллярных клубках и внеклеточных бляшках наблюдается в тканях мозга у больных БА, синдромом Дауна, при различных типах цереброваскулярной недостаточности.

Мутации APP могут усиливать накопление A β в лимбической системе, гипоталамусе, ассоциативной зоне коры головного мозга, а также при некоторых травмах головного мозга.

Агрегированный бета-амилоид (агA β)

Мономеры A β практически не оказывают влияния на культивируемые нейроны. Однако если стимулировать полимеризацию A β , то образовавшиеся структуры приобретает нейротоксические свойства. Многие исследования показали, что одной из важнейших нейротоксических форм A β являются его олигомеры, состоящие из приблизительно 12 субъединиц, с общей м.м. около 54 кДа. Эту олигомерную форму A β , также известную как диффундирующий лиганд амилоидного происхождения (ADDL), можно отделить от фибриллярных, протофибриллярных и других форм агрегированного A β (например, ультрацентрифугированием 1 час при 100 000 g). Воздействие агрегатов A β на нервные окончания стимулирует потерю синапсов, что может приводить к снижению долговременной потенциации в гиппокампе, процессу, лежащему в основе потери памяти при БА.

Гликогенсинтаза киназа 3-бета (GSK-3 β)

GSK-3 β является Ser/Thr киназой, которая инактивируется при фосфорилировании в ответ на связывание инсулина. PKB/AKT фосфорилирует

GSK-3 β по серину в положении 9, что блокирует ее активность. Нефосфорилированная GSK-3 β активна и способна участвовать в синтезе гликогена. GSK-3 β уникальна, т.к. для фосфорилирования она требует субстрата, уже фосфорилированного другой киназой. Такой механизм предварительного фосфорилирования объясняет, почему фосфорилирование серина в положении 9 инактивирует GSK-3 β : фосфорилированный серин связывается с сайтом предварительного фосфорилирования молекулы GSK-3 β и блокирует его связывание с субстратами. Кроме инсулинового сигналинга GSK-3 β участвует в сигнальном пути Wnt, где она образует комплекс с аксином, бета-катенином и APC-белком (белок аденоматозного полипоза толстой кишки). Существует значительный клинический интерес к ингибиторам GSK-3 β , т.к. они могут имитировать эффект инсулина или снижать гиперфосфорилирование тау-белка, наблюдаемое при БА.

Никастрин

Никастрин – трансмембранный белок, усиливающий продукцию A β и таким образом стимулирующий развитие БА. Кроме того, никастрин обеспечивает созревание и транспорт других белков γ -секретазного комплекса, в состав которого он входит. Его определение может быть использовано в диагностике нейродегенеративных заболеваний.

Инсульт и воспаление

Важной идеей, развивающейся в последнее десятилетие, является представление о существовании «нейроваскулярного звена», включающего кровеносные сосуды, нервные клетки и межклеточное вещество, которые функционируют совместно, используя различные биохимические сигналы. Недостаточностью его функционирования можно объяснить возникновение и развитие различных церебральных заболеваний, таких как инсульт, сосудистая деменция, рассеянный склероз и даже нормальное старение. Поскольку нейроваскулярные звенья являются уникальными для каждого человеческого организма, пути гибели клеток в этих участках также уникальны.

Снижение кровотока в тканях мозга приводит к недостатку кислорода, инициируя ишемический каскад, включающий приток кальция, гиперсти-

муляцию нейромедиаторов и усиленную продукцию свободных радикалов. Ишемия инициирует воспалительный ответ в тканях мозга, приводит к биохимическим нарушениям, проявляющимся в изменении уровня различных маркеров в кровотоке. В начальный этап развития воспаления вовлечены молекулы адгезии (селектины и молекулы адгезии эндотелия), которые экспрессируются эндотелиоцитами и связываются с гликопротеиновыми рецепторами на поверхности нейтрофилов. Активированные клетки микроглии, макрофаги и лейкоциты совместно с нейронами и астроцитами выделяют медиаторы воспаления, такие как синтаза оксида азота, циклооксигеназа-2, IL-1 и моноцитарный хемоаттрактантный белок-1. Вследствие двойственной природы продуктов активированной микроглии – деструктивной (свободные радикалы) и протективной (факторы роста) – роль микроглии в церебральной ишемии носит комплексный характер. Транзиторная активация генов, кодирующих факторы транскрипции (c-fos и c-jun), возникает в первые несколько минут от начала инсульта и запускает вторую волну экспрессии генов белков теплового шока Hsp70, нарастающую в первые 1-2 ч заболевания и снижающуюся за 1-2 дня. В течение 6-24 ч. от начала инсульта высвобождаются IL-1, -6, -8 и TNF- α . Возрастает уровень нейротрофического фактора мозга (BDNF) и цилиарного нейротрофического фактора (CNTF) из олигодендроцитов. Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) усиливает отек вещества мозга в острой фазе инсульта и отвечает за сосудистое ремоделирование в поздней стадии. Кроме локального дисбаланса иммунной системы инсульт поражает, прежде всего, нейроваскулярное звено. Очень важным фактором является разрушение базальных мембран, поддерживающих нейроваскулярный гомеостаз. Основными их компонентами являются коллаген IV типа, гепаринсульфат, протеогликан, ламинин и фибронектин. Перечисленные продукты деградации мембран высвобождаются под действием многих протеаз, включая активатор плазминогена (t-PA) и матриксные металлопротеазы (MMP), в первую очередь, MMP-9, вовлеченную в развитие первичных церебральных геморрагий, постишемических реперфузионных геморрагий, нарушение гематоэнцефалического барьера (ГЭБ).

Активность каспаз играет важную роль в гибели клеток после инсульта, это подтверждает гипотезу об апоптотической смерти нейронов, пострадавших от инсульта. В экспериментах на мышах было показано, что ингибирование каспазы-1 уменьшало объем пораженного при инсульте участка на 40-50%.

Маркеры, связанные с ишемическим каскадом и последующим воспалительным ответом, являются сильными прогностическими факторами исхода до, во время и после инсульта. Эти маркеры ассоциированы с признаками ранних неврологических нарушений, объемом повреждений, ранним и поздним клиническим исходом, ранними клиническими ухудшениями и т.д.

Хотя определение отдельного маркера может не обладать достаточной предсказательной значимостью, необходимой для точной дифференциальной диагностики ишемического инсульта, подтверждено, что сочетанное измерение нескольких маркеров является диагностически значимым. Предложено несколько таких комбинаций. Так, сочетанное определение MMP-9, VCAM-1 и фактора Виллебранда (vWF) обладает чувствительностью и специфичностью более 90%, прогностической ценностью положительного результата 63%, прогностической ценностью отрицательного результата 99%. Более поздние исследования показали целесообразность добавления S100 B к этой комбинации, что привело к повышению предсказательной диагностической ценности более чем до 90% (неврологические симптомы продолжают более 24 ч).

Не так давно опубликованы результаты исследования липопротеин-ассоциированной фосфолипазы A2 и CRP как факторов риска для выявления людей среднего возраста с повышенным риском ишемического инсульта. Увеличенный риск развития инсульта наблюдается у пациентов с повышенной концентрацией растворимых молекул адгезии.

Сывороточные маркеры церебральной ишемии и последующего воспалительного ответа представляют собой перспективный метод диагностики и прогноза при остром ишемическом инсульте. Определение маркеров может повысить клинические возможности: от диагностики ишемического инсульта до прогноза функционального исхода через 3 месяца после инсульта.

C-реактивный белок (CRP)

CRP активирует систему комплемента, играющую основную роль в развитии воспаления. Показано, что уровень CRP коррелирует с повышенной частотой возникновения инсульта и является независимым фактором риска смерти в течение года после его развития. Повышенный уровень CRP отмечается у пациентов с мерцательной аритмией, являющейся фактором риска инсульта. К сожалению, CRP – неспецифический маркер, и его повышенный уровень может быть обусловлен инфекцией, острым инфарктом миокарда и другими заболеваниями.

Фактор некроза опухоли α (TNF-α)

TNF-α – это цитокин с разнообразными противовоспалительными функциями. Уровень TNF-α повышается в течение 6 ч после наступления инсульта. Наблюдаемая при магнитно-резонансном исследовании недостаточная перфузия ассоциирована с повышенным уровнем TNF-α. Показано, что измерение TNF-α в ранний период после инсульта может быть использовано для прогноза конечного размера повреждения мозга на 4-7 день после наступления инсульта. Кроме того, уровень TNF-α можно использовать для прогноза эффективности тромболитической терапии, риска развития геморрагических осложнений.

Интерлейкин-6 (IL-6)

Концентрация IL-6 повышена в острой фазе инсульта, обычно в пределах 6 ч. после наступления инсульта. Кроме того, повышенный уровень IL-6 выявлен у пациентов с мерцательной аритмией. Уровень IL-6 коррелирует с размером повреждения мозга по данным компьютерной томографии и оценкой по модифицированной шкале степени инвалидности Рэнкина через 3 месяца после инсульта. Его определение может помочь в прогнозе эффективности тромболитической терапии.

S100

Концентрация глиального белка S100 повышается в течение 6 ч после наступления инсульта и затем монотонно возрастает, хотя может быть и незначительно. Исследования показали, что S100 является чувствительным и прогностически значи-

мым маркером, коррелирует с тяжестью неврологических расстройств и функциональным исходом острого ишемического инсульта. Эту взаимосвязь отражает повышенный уровень S100, начиная с 6-го ч. после наступления инсульта, и его повышение до концентрации >0.2 мкг/л через 48 ч.

Уровень S100 также коррелирует с размером повреждения мозга. Эта корреляция наблюдается и у пациентов, перенесших инсульт после операции на сердце.

Матриксная металлопротеиназа 9 (MMP-9)

MMP-9 – это протеолитический фермент, активируемый IL-6 и TNF-α; является маркером прогноза при тромболитической терапии и развития геморрагических осложнений. Показано, что MMP-9 может предсказывать размер повреждения ($p < 0,05$). В исследованиях на животных, получающих тромболитическую терапию, при использовании лекарственных препаратов, ингибирующих MMP-9, частота возникновения геморрагии снижалась ($p < 0,05$).

Прогностическая ценность некоторых маркеров

Показатели	Маркеры
Высокий риск инсульта	CRP
Недостаточная перфузия, наблюдаемая на КТ	IL-6, TNF-α
Эффективность тромболитической терапии	IL-6, TNF, MMP-9
Ранние неврологические осложнения	S100B, IL-6
Размер инфаркта	S100B, TNF, IL-6, MMP-9
Злокачественный синдром	S100B
Функциональный исход через 3 месяца	S100B, IL-6
Смертность в течение 1 года	CRP
Мерцательная аритмия	CRP, IL-6

Gold Dot (определение антител к NR2)

Тромботические или эмболические процессы ограничивают поступление глюкозы и кислорода к клеткам мозга, приводя к церебральной ишемии. Избыточная секреция глутамата, вызванная церебральной ишемией, приводит к гиперактивации рецепторов NMDA (N-метил-D-аспартат).

Эти основные нейрорецепторы регулируют нейрональные электрические сигналы и функцию микрососудов. Избыточные количества рецепторов NMDA (в особенности субъединицы NR2) отщепляются сериновыми протеазами, что приводит к образованию пептидных фрагментов NR2. Эти фрагменты проходят сквозь нарушенный ГЭБ и попадают в кровоток, активируют иммунную систему и вызывают образование антител. Антитела к NR2 определяются через 3-6 месяцев после предшествующего изолированного или множественного ишемического инсульта, и их присутствие предсказывает повышенный риск транзиторной ишемической атаки (ТИА) и ишемического инсульта в близком будущем. Мониторинг образцов крови в течение 3-8 ч после наступления ТИА/инсульта может помочь дифференцировать ишемические цереброваскулярные события от геморрагических или неинсультных состояний.

В недавних исследованиях была описана связь между нейротоксичностью и церебральной ишемией. Концентрация антител к NR2 у здоровых взрослых людей составила < 1,7 нг/мл. Повышенная концентрация антител NR2 (> 2,0 нг/мл) коррелирует с наличием предшествующей изолированной или множественной церебральной ишемии и повышенным риском ишемического инсульта в ближайшем будущем. Результаты многих исследований показали, что антитела к NR2 являются строгим предиктором ТИА/инсульта.

Оценка ТИА и ишемического инсульта в реанимационных отделениях. При сравнении концентрации антител к NR2 у пациентов с историей ТИА или диагнозом «инсульт» (различный объем повреждений, от 2 сс до >70 сс) и в контрольной группе (здоровые люди и пациенты с контролируемой гипертензией и сахарным диабетом) было показано, что при уровне cut-off = 2,0 нг/мл чувствительность составляет 95,9%, а максимальное отношение риска (3,45) наблюдается при уровне cut-off = 1,6 нг/мл.

Прогноз неврологических осложнений перед операциями на сердце. Для определения эффективности метода Gold Dot NR2 Antibody как предиктора риска ТИА/инсульта, уровень антител к NR2 был измерен в >1000 образцов сыворотки из банка крови в ретроспективном слепом многоцентровом контролируемом исследовании

при участии 33 центров в США. Критерии отбора включали взрослых больных групп высокого риска (старше 18 лет), перенесших операции на сердце (с использованием систем искусственного кровообращения, СРВ), например, комбинированное аортокоронарное шунтирование (CABG), операцию на клапане или неотложное CABG, или операцию на клапане сердца. В группу больных с неврологическими послеоперационными осложнениями включали пациентов с дезориентацией, ТИА и инсультом (9 баллов). Пациенты, у которых не было неврологических осложнений, были отнесены в группу «Без неврологических осложнений». Тревожность (1 балл) была отнесена в группу «Без осложнений».

Оказалось, что не менее чем у 30% пациентов, перенесших операции на сердце, наблюдается нейрокогнитивный дефицит после операции. Концентрация антител к NR2 до операции >2,0 нг/мл прогнозирует 89% послеоперационных неврологических осложнений (см. таблицу).

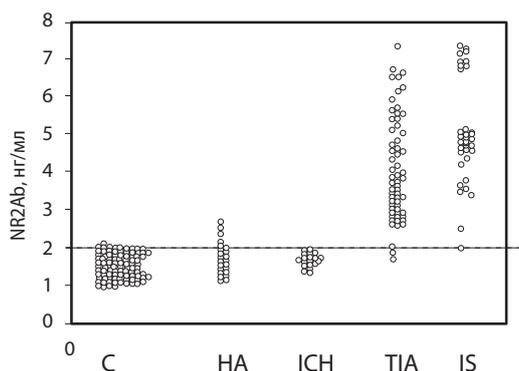
Неврологические осложнения (дезориентация, ТИА/инсульт) до операции или в течение 48 ч после операции против уровня антител к NR2 до операции

Уровень антител к NR2 до операции, нг/мл	Неврологические осложнения, n/N (%)	Без неврологических осложнений, n/N (%)
<1,5	7/213 (3,3%)	206/213 (96,7%)
от 1,5 до < 2,0	12/159(7,6%)	147/159(92,5%)
>2,0	25/26 (96,2%)	1/26 (3,9%)

Дифференциальная диагностика ишемического инсульта, геморрагического инсульта и инсультоподобных состояний. При сравнении концентрации антител к NR2 у пациентов с историей ТИА или диагнозом «инсульт» (различный объем повреждений, от 2 сс до >70 сс) и в контрольных группах (здоровые люди и пациенты с контролируемой гипертензией/атеросклерозом и сахарным диабетом) было показано, что наблюдается значительная разница в уровне антител к NR2 у пациентов с церебральной ишемией (ТИА/IS) по сравнению с контрольными группами. На рисунке приведено распределение концентраций антител к NR2 в сыворотке у людей контрольной группы (группа С) и группах с цереброваскуляр-

ными заболеваниями: гипертензия/атеросклероз (группа HA), внутричерепной геморагический инсульт (ICH), транзиторная ишемическая атака (TIA, IS).

Распределение концентраций антител к NR2



Пунктиром обозначена линия cut-off.

Уровень антител к NR2 является независимым и чувствительным серологическим маркером, способным выявлять TIA с высокой вероятностью, и, в совокупности с неврологическими наблюдениями и методами нейровизуализации, исключать внутричерепной геморагический инсульт.

Эффективность определения антител к NR2:

- Уровень антител к NR2 является независимым сывороточным маркером, определяющим церебральное ишемическое событие и исключая геморагический инсульт
- Антитела к NR2 являются маркером нейротоксичности и циркулируют в кровотоке в течение 3-6 месяцев после предшествующего ишемического инсульта с очаговой или общемозговой неврологической симптоматикой
- Повышение уровня антител к NR2 соответствует повышению риска ишемического инсульта в ближайшем будущем и является строгим предиктором риска TIA
- Антитела к NR2 указывают на старые ишемические повреждения
- Мониторинг уровня антител к NR2 позволяет контролировать состояние пациента после лечения
- Концентрация антител к NR2 коррелирует с размером предшествующего изолированного или множественного кортикального ишемического инсульта (для инсультов с областью повреждений от 3 cc до приблизительно 30 cc)

Ограничение использования определения антител к NR2. Определение антител к NR2 обладает низкой чувствительностью при небольших повреждениях (<3 cc) и/или при инсультах белого вещества мозга.

Предлагаемый набор Gold Dot NR2 Antibody основан на серологическом иммуноферментном методе (ELISA) и предназначен для количественного определения антител к NR2 субъединице рецептора NMDA в сыворотке. Тест может быть использован совместно с клиническими данными и результатами радиологических исследований для дифференциальной диагностики TIA и ишемического инсульта и инсультоподобных состояний. Gold Dot NR2 Antibody позволяет предсказать изолированный и множественный ишемический инсульт и повышенный риск возникновения церебральных ишемических событий у пациентов с сопутствующими заболеваниями (диабет, гипертензия, атеросклероз, употребление алкоголя и курение, сердечно-сосудистые заболевания). Тест позволяет дифференцировать ишемический и геморагический инсульты.

Рассеянный склероз

Рассеянный склероз (РС) – это хроническое заболевание центральной нервной системы (ЦНС), характеризующееся деструкцией миелиновых оболочек и аксонов. Это заболевание имеет признаки аутоиммунного процесса, включая воспаление с инфильтрацией лейкоцитов в нервную систему. Этот процесс сопровождается различными изменениями эндотелия кровеносных сосудов, резидентных клеток ЦНС и клеток иммунной системы. Так, активированные клетки сосудистого эндотелия и иммунные клетки секретируют большое количество молекул адгезии, необходимых для экстравазации. Экспрессирующиеся хемокины способствуют адгезии клеток или действуют как хемоаттрактанты в очагах демиелинизации. Кроме того, разрушение протеазами компонентов ГЭБ также обеспечивает путь миграции лейкоцитов в паренхиму ЦНС. Последние годы многие исследования посвящены изучению активности и уровня различных молекул, вовлеченных в развитие РС.

К признакам воспалительного аутоиммунного заболевания относятся нарушение ГЭБ и рекрутинг лимфоцитов, клеток микроглии и макрофагов в очаги поражения. Накапливающиеся цитотоксические факторы, такие, как провоспалительные цитокины, протеазы, активные формы кислорода (ROS), могут вносить вклад в процесс демиелинизации. Хотя у отдельных больных наблюдается значительная вариабельность, были описаны несколько потенциальных аутоантигенов. Часть из них ассоциирована с миелином ЦНС: основной белок миелина, протеолипидный протеин и миелиновый олигодендроцитный гликопротеин.

Широко распространена гипотеза о том, что РС является CD4⁺ Th1-опосредованным аутоиммунным заболеванием. В пользу этого говорит тот факт, что, как и другие аутоиммунные патологии, опосредованные CD4⁺ Т-клетками, генетическая предрасположенность к РС сопряжена с генами HLA II класса. Миелин-специфические клоны Т-клеток и провоспалительные Th1-цитокны, включая IL-2, IFN- γ и TNF- α выявляются в очагах демиелинизации. Th1 могут стимулировать макрофаги и клетки микроглии, повышая секрецию этими клетками провоспалительных цитокинов, протеаз, нейротрансмиттеров и ROS. Показано, что введение миелин-специфичных CD4⁺ Т-клеток интактным животным индуцировало развитие экспериментальной аутоиммунной энцефалопатии (ЭАЭ).

Участие аутоиммунных клеток в развитие ЭАЭ может быть связано с их способностью к поляризации либо в Th1, продуцирующие IFN- γ и индуцирующие ЭАЭ, либо в Th2, которые обладают антиэнцефалитной активностью. Развитие ЭАЭ ассоциировано с иммунным воспалением, опосредованным цитокинами, продуцируемыми Th1 (IFN- γ , TNF- α , GM-CSF, IL-17) и антигенпредставляющими клетками (IL-1, -6, -12 и -23), которое приводит к демиелинизации и дегенерации аксонов и значительным потерям числа нервных клеток в результате апоптоза.

Однако существует много данных, не укладывающихся в эту гипотезу. Например, доминантным типом Т-клеток, выявляемых в бляшках РС, являются CD8⁺, и их цитотоксическая активность ассоциирована с более агрессивными форма-

ми заболевания. В некоторых исследованиях было показано, что блокировка Th1-цитокнов усиливала тяжесть заболевания и что нейродегенерация, ассоциированная с РС, может предшествовать воспалению. В очагах демиелинизации выявляются В- и плазматические клетки, Ig и молекулы системы комплемента. Миелин-ассоциированные белки и антитела к ним могут выявляться как в очагах поражения, так и в СМЖ. Показано, что активность инфильтрирующих клеток иммунной системы способствует демиелинизации и дегенерации аксонов, сопровождающих прогрессию заболевания.

ГЭБ является основной защитой ЦНС, он ограничивает доступ циркулирующих в кровотоке компонентов, макромолекул и клеток, которые могут отрицательно воздействовать на активность нервной системы. Хотя в норме небольшие количества лейкоцитов присутствуют в ЦНС, при различных патологических состояниях их поступление в нервную систему значительно возрастает. Соответственно, многие исследования посвящены лежащему в основе нарушению ГЭБ и инфильтрации клеток иммунной системы в ЦНС.

Среди маркеров, наиболее значимых для патогенеза РС, можно выделить:

- **Молекулы адгезии (ICAM-1, VCAM-1, селектины, белки плотных контактов).** В ряде исследований подтверждена роль молекул адгезии в патогенезе РС, в частности установлено значительное повышение экспрессии ICAM-1, PECAM-1, VCAM-1 в дебюте и при обострениях РС. Установлена взаимосвязь молекул адгезии с повышением проницаемости ГЭБ.
- **Матриксные металлопротеиназы (ММР9).** ММР могут оказывать многостороннее влияние на развитие РС, включая участие в разрушении ГЭБ, активацию проформ цитотоксических молекул, прямое разрушение миелина и образование продуктов расщепления, способных вызывать аутоиммунный ответ. Так, базальная мембрана ЦНС содержит ламинин, фибронектин и коллаген IV типа. Все эти белки могут подвергаться протеолизу под действием ММР, активность которых способствует повышению проницаемости ГЭБ.
- **Цитокины (IL-12, -17, -18, -23, IFN- γ)**

ICAM-1

ICAM-1 (CD54) хорошо известен своей способностью опосредовать адгезию лейкоцитов при взаимодействии с $\alpha\text{L}\beta\text{2/LFA-1}$, экспрессирующимся на лейкоцитах. Экспрессия ICAM-1 повышается на эндотелиальных клетках мозга под действием провоспалительных цитокинов, таких как TNF- α , IL-1 и IFN- γ , а также бактериального липополисахарида (LPS) – медиатора воспаления. Показано, что экспрессия ICAM-1 повышена в эндотелии капилляров у больных с РС и при ЭАЭ, и снижается в ответ на терапию IFN- β . В некоторых исследованиях показан протективный эффект блокирования активности ICAM-1 на развитие ЭАЭ.

VCAM-1

Исследования показали, что экспрессия VCAM-1 (CD106) повышается в ответ на воздействие различных цитокинов, включая TNF- α , IL-1, -4 и -13, и это имеет важное значение для взаимодействия лейкоцитов с эндотелием сосудов. Показано повышение VCAM-1 при ЭАЭ, а его блокировка нейтрализующими антителами подавляет адгезию лимфоцитов к эндотелию сосудов. Терапия метилпреднизолоном, направленная на подавление экспрессии VCAM-1, считается перспективной для лечения РС. Показано, что VCAM-1 продуцируется микроглией/макрофагами.

Селектины

Селектины представляют собой семейство Ca^{2+} -зависимых белков, экспрессирующихся на эндотелиальных клетках (E-селектин), лейкоцитах (L-селектин) и тромбоцитах (P-селектин). E- и P-селектины экспрессируются в ответ на воспалительные стимулы. Они опосредуют первоначальные слабые взаимодействия и способствуют прохождению лейкоцитов через эндотелий.

Исследования показали повышение уровня растворимых форм L-, P- и E-селектинов в кровотоке и СМЖ у больных РС. Однако наблюдались различия в зависимости от формы заболевания. С помощью МРТ было показано, что повышенный уровень sL-селектина коррелирует с размером выявляемых поражений, а лечение больных РС метилпреднизолоном нацелено на снижение sE-селектина. У больных РС повышена экспрессия

CD8⁺ Т-клетками лиганда Р-селектина – PSGL-1 (муциноподобный гликопротеиновый лиганд-1), что говорит о значительной роли Р-селектина в инфильтрации лейкоцитов.

Белки плотных контактов

Белки плотных контактов представляют собой семейство трансмембранных молекул адгезии, включая кадгерин, JAM, клаулины и др. Взаимодействия между белками плотных контактов соседних клеток и факторами, регулирующими их активность, имеют решающее значение в поддержании целостности ГЭБ. Хотя лейкоциты и могут мигрировать через ГЭБ без видимых изменений плотных контактов, большое количество исследований подтверждает, что изменение целостности плотных контактов облегчает проникновение клеток через ГЭБ. Нарушение плотных контактов наблюдается в тканях при активном РС. Эффект провоспалительных цитокинов на белки тесных контактов блокируется IFN- β , который довольно успешно используется в терапевтических целях при РС.

MMP-9

MMP-9 (желатиназа В) отсутствует в СМЖ в норме, но выявляется у больных РС. Уровни MMP-9 и/или соотношение MMP-9 и ее ингибитора, TIMP-1, повышены также в кровотоке у больных с ремиттирующим РС и вторично прогрессирующим РС, и коррелируют с результатами выявления повреждений с помощью МРТ. Источником MMP-9 могут являться клетки различных типов – макрофаги, микроглия, астроциты, эндотелиальные клетки, инфильтрирующие лимфоциты в области демиелинизации. Во многих исследованиях показана корреляция между проводимой терапией при РС и изменениями уровня MMP-9 или его ингибиторов. Например, использование IFN- β приводит к значительному снижению уровня MMP-9 и/или соотношения MMP-9/TIMP-1. Лечение высокими дозами метилпреднизолона, приводящее к уменьшению объема выявляемых на МРТ поражений, также снижает и уровень MMP-9 в СМЖ.

Многочисленные исследования ЭАЭ подтверждают ведущую роль MMP-9 в патогенезе РС. Деструкция ГЭБ и соответствующие симптомы подавляются при лечении ингибиторами MMP.

Цитокины

Известно, что моноциты периферической крови пациентов с РС продуцируют повышенные количества IL-12, который, в свою очередь, индуцирует продукцию INF- γ в T- и NK-клетках и направляет ответ по Th1-типу. Показано, что количество мРНК IL-12 значительно возрастает перед обострением РС. Повышенный уровень IL-12 выявляется в образцах сыворотки крови пациентов с прогрессирующим (прогрессирующим) РС. Степень повышения уровня IL-12p40 в ЦСЖ и сыворотке крови пациентов с РС коррелирует с активностью воспаления в мозге и степенью демиелинизации. Показано, что причиной нарушенной регуляции INF- γ и IL-12 при прогрессирующем РС является эндогенный IL-10.

IL-23, продуцируемый дендритными клетками (DC), также важен для патогенеза РС. DC пациентов с РС продуцируют значительно большие количества IL-23, чем дендритные клетки здоровых людей. Кроме этого, лимфоциты, полученные из крови пациентов с РС, продуцируют повышенные количества IL-17. Эти данные подтверждают выводы, сделанные при изучении ЭАЭ у мышей: IL-23, а не IL-12, активирует Th17 к продукции IL-17, который обладает провоспалительной активностью и является одним из факторов, способствующих развитию аутоиммунных заболеваний.

У пациентов с ремиттирующим РС во время обострения, по сравнению с ремиссией или по сравнению с пациентами, страдающими невоспалительными заболеваниями ЦНС, клетки периферической крови продуцируют достоверно большие количества IL-18, который играет важную роль в Th1 иммунном ответе, т.к. способен индуцировать продукцию INF- γ в NK-клетках. Антитела, нейтрализующие IL-18, предотвращают развитие ЭАЭ. Тем не менее, это не означает, что эффекты IL-18 опосредованы исключительно INF- γ . IL-18 может индуцировать хроническое воспаление не только через индукцию INF- γ , но и через активацию NF- κ B. Блокирование каспазы-1 приводит к прекращению продукции IL-18 и воспаления. IL-18 усиливает эффекты других провоспалительных цитокинов, включая GM-CSF и IL-1. Вот почему доминирующим является представление о том, что IL-18 осложняет развитие и течение ЭАЭ.

Исследования ЭАЭ показали важную роль хемокинов в прогрессии заболевания. Нейтрализация CCL2, CCL3, CCL20 или CXCL10 введением блокирующих антител подавляла развитие или рецидивы ЭАЭ. *In vivo* продемонстрировано, что антитела к CCL2 или CCL5 ингибируют адгезию лейкоцитов к эндотелию.

Другие маркеры

Галанин

Галанин – это нейропептид, может быть использован как маркер функции нервной ткани. Галанин синтезируется в центральной и периферической нервной системе, ингибирует секрецию трансмиттеров из нейронов, влияет на сокращение гладких мышц в ЖКТ и мочеполовой системе, контролирует функции оси гипоталамус-передний гипофиз, поджелудочной железы и желудка. Играет трофическую роль в нервной системе, повышая выживание нейронов после повреждения, является нейропротектором. Галанин повышает пищевое потребление и усиливает анальгетические свойства опиатов.*

Альфа-кальцитонин ген-родственный пептид (α -CGRP)

α -CGRP – это нейропептид, маркер функции нервной ткани. Он широко представлен в центральной и периферической нервной системах. α -CGRP принадлежит семейству кальцитониновых белков, таких как адrenomедуллин и амилин. Рецепторы к пептиду найдены во многих тканях, иннервированных тройничным нервом. α -CGRP играет важную роль в контроле воспаления и ноцицептивных реакциях. Он вовлечен в патогенез мигрени, повышаясь во время приступов и возвращаясь к норме после их окончания. В экспериментах с участием добровольцев было показано, что введение α -CGRP само по себе вызывает приступы мигрени. Основываясь на этих данных, α -CGRP рассматривается как мишень при терапии этого заболевания (блокирование CGRP-рецепторов антагонистами). α -CGRP обладает свойствами сильнейшего вазодилатора, освобождаясь из активированных сенсорных нейронов. Было показано, что α -CGRP участвует в опосредовании нитроглицерин-индуцированного снижения тонуса сосудов. Снижение депрессирующего

* см. главу «Маркеры заболеваний желудочно-кишечного тракта» стр. 657

эффекта нитроглицерина ассоциировано со снижением секреции CGRP. Кроме того, α -CGRP оказывает хронотропный и инотропный эффекты на сердце.

Простагландин D синтаза липокалинового типа

Простагландин D2 (PGD2) синтезируется двумя типами простагландин D-синтаз (PGDS) – ферментом липокалинового типа (L-PGDS) и гемопоэтического типа (H-PGDS). PGD2 синтезируется в большом количестве аллерген-стимулированными мастоцитами. PGD2 обладает свойствами провоспалительного медиатора в аллергических реакциях, является вазоконстриктором и ингибитором агрегации тромбоцитов, вовлечен в разнообразные функции центральной нервной системы, такие как седация, регуляция NREM-сна (стадия глубокого сна, во время которой отсутствуют быстрые движения глаз).

Уровень L-PGDS в сыворотке и моче может также служить альтернативным маркером ско-

рости клубочковой фильтрации, функции почек у пациентов с диабетом. В отличие от цистатина C, на уровень L-PGDS не влияет лечение кортикостероидами, возраст и пол. Высокий уровень в сыворотке ассоциирован с гипертензией и является фактором риска атеросклероза. Предполагаемые области применения: неврологические, почечные, сердечные заболевания.

Антитела к рецепторам ацетилхолина (AChR)

При миастении гравис продуцируются антитела к альфа цепи ацетилхолинового рецептора, локализованного в месте контакта нервной и мышечной клеток. В результате взаимодействия аутоантител с рецептором нарушается прохождение импульса от нейрона к мышце, что приводит к нарушению мышечного сокращения.

Количественное определение AChR может быть использовано в диагностике и мониторинге миастении гравис.*

* см. главу «Аутоиммунные заболевания» стр. 742

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА



Кат.№	Производитель	Наименование
449-5830	DSL	MBP (основной белок миелина), определение в СМЖ, 96
192-0722	BioVendor	Глиальный фибриллярный кислый протеин (GFAP), 96
708-10	Fujirebio	Белок S-100 общий ($\alpha\beta + \beta\beta$), 96
712-1000	BCM Diagnostics	Антитела к белку NR2 (Gold Dot-1 Neuro), 96
420-10	Fujirebio	Нейрон-специфическая енолаза (NSE), 96
EK-MAG	Buhlmann	Антитела к миелин-ассоциированному гликопротеину (Anti-MAG), 96
EK-GM1	Buhlmann	Антитела к ганглиозиду M1, 96
EK-GD1	Buhlmann	Антитела к ганглиозиду D1b, 96
EK-GQ1	Buhlmann	Антитела к ганглиозиду Q1b, 96
EK-GCO	Buhlmann	GanglioCombi (антитела к ганглиозидам, профиль), 96
EK-SGPG	Buhlmann	Антитела к сульфатированному глюкуронил параглобозиду (Anti-SGPG), 96
430-1172	Immco	Антитела к миелин-ассоциированному гликопротеину (иммунофлуоресцентный метод), 48
430-1173	IMMCO	Антитела к миелин-ассоциированному антигену, ImmunoBlot, 20
430-1185G	Immco	IgG - Антитела к галактоцереброзиду, 96
430-1185M	Immco	IgM - Антитела к галактоцереброзиду, 96
466-3235	BCM Diagnostics	Антитела к ламинину IgG, 96
466-3214	BCM Diagnostics	Антитела к сфингомиелину IgG/IgM, 96
EK-IFNB	Buhlmann	Антитела к интерферону β IgG (связывающие), 96

Кат.№	Производитель	Наименование
DBD00	BCM Diagnostics	Нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), 96
422-3060	BCM Diagnostics	Нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), 192
DNT00	BCM Diagnostics	Цилиарный (глиальный) нейротрофический фактор (CNTF), 96
422-3020	BCM Diagnostics	Нейротропин 3, 192
S-1279	BCM Diagnostics	Нейромедин S, 96 (без экстракции)
RD191138300R	BioVendor	Фосфорилированный нейрофиламент H, 96
422-4200	BCM Diagnostics	Пигментный фактор эпителиального происхождения (PEDF), 96
DRG00	BCM Diagnostics	sRAGE, рецептор конечных продуктов гликозилирования, 96
КНВ3481	BCM Diagnostics	β -амилоидный белок (Ab40), 96
КНВ3441	BCM Diagnostics	β -амилоидный белок (Ab42), 96
A-193	Savyon	IgA-антитела к <i>Chlamydia pneumoniae</i> (SeroCP, IgA) , 96
A-191	Savyon	IgG-антитела к <i>Chlamydia pneumoniae</i> (SeroCP, IgG) , 96
A-192	Savyon	IgM-антитела к <i>Chlamydia pneumoniae</i> (SeroCP, IgM) , 96
EK-DSM	Buhlmann	Мелатонин в слюне, 96
RE54021	IBL	Мелатонин (в сыворотке и плазме), 96
КЕМЕ761	IBL	Колонки для экстракции к набору RE54021, 10
EK-M6S	Buhlmann	Мелатонин сульфат в моче, 96
RE59121	IBL	Серотонин, 96 (без экстракции)
430-1111	Immco	Антитела к нейрональным антигенам паранеопластические, (иммунофлуоресцентный метод), 48
430-1174	BCM Diagnostics	Антитела к нейрональным антигенам, 20 ImmunoBlot
430-1190	BCM Diagnostics	Анти-68kD (hsp-70), 20 ImmunoBlot
430-1192	Immco	Антитела к белку PO, 20 Immunoblot
416-5170	Orgentec	Антитела к компоненту Rib-P, 96
430-1166	BCM Diagnostics	Антитела к рибонуклеиновой кислоте (РНК), 96
S-1263	BCM Diagnostics	Никастрин, 96 (с экстракцией)
S-1198	BCM Diagnostics	α -CGRP, альфа-кальцитонин ген-родственный пептид, 96
S-1200	BCM Diagnostics	β -CGRP, бета-кальцитонин-ген родственный пептид, 96
S-1370	Bachem	Нейроэндокринный регуляторный пептид 1, 96
S-1366	Bachem	Нейроэндокринный регуляторный пептид 2, 96
S-1381	Bachem	Нейростатин-13, 96
S-1369	Bachem	Нейростатин-19, 96
КНВ0051	Invitrogen	Белок-предшественник амилоида (APP), 96
КНВ3491	Invitrogen	Агрегированный бета-амилоид, 96
S-1322	BCM Diagnostics	PACAP-38, полипептид, активирующий аденилатциклазу гипофиза, 96
S-1347	BCM Diagnostics	Галанин (без экстракции), 96
RD191113100R	BioVendor	Простагландин D синтаза (липокалинового типа), 96
КНВ0042	BCM Diagnostics	Тау-белок, 96
900-144	BCM Diagnostics	Гликогенсинтаза киназа 3-бета (GSK-3b), 96
RACE/96R	BioVendor	Антитела к рецепторам ацетилхолина, 96