

Исследование диагностической значимости тяжелых цепей нейрофиламентов в цереброспинальной жидкости при боковом амиотрофическом склерозе

А.В. Владыкина¹, В.Д. Назаров¹, В.С. Краснов¹, Е.И. Королева¹, П.А. Федорова¹, А.Н. Мошникова¹, А.В. Мазинг¹, С.В. Лапин¹,
В.Л. Эмануэль¹, Д.И. Руденко^{1,2}, Ф.Р. Стучевская^{1,2}, С.М. Затаковенко², Т.А. Павлова³, Т.М. Алексеева³, В.В. Голдобин⁴

¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия;

²СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2», Санкт-Петербург, Россия;

³ФГБУ «НМИЦ имени В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Россия;

⁴ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова», Санкт-Петербург, Россия

Введение. Ранняя постановка диагноза бокового амиотрофического склероза (БАС) затруднена из-за низкой чувствительности клинических критериев на начальных этапах развития болезни, а также отсутствия достоверных лабораторных биомаркеров. При разрушении нейрона накопленные в избытке гиперфосфорилированные тяжёлые цепи нейрофиламентов (ТНФ) высвобождаются и попадают в цереброспинальную жидкость (ЦСЖ), что потенциально может использоваться при ранней диагностике БАС. Кроме этого, ТНФ могут обладать прогностической значимостью.

Цель работы — исследование клинической значимости повышения концентрации ТНФ в ЦСЖ при БАС.

Материалы и методы. Исследование включало 33 пациентов с диагностированным по критериям El Escorial БАС, 30 пациентов группы контроля (после флебэктомии), а также 28 пациентов группы сравнения: с рассеянным склерозом ($n = 16$), аутоиммунным энцефалитом ($n = 5$), клещевым энцефалитом ($n = 1$), первичным латеральным склерозом ($n = 2$), прогрессирующей мышечной атрофией ($n = 1$), другими патологиями (синдром беспокойных ног, компрессионная миелопатия, паранеопластическая дегенерация мозжечка; $n = 3$). У всех пациентов была проведена люмбальная пункция, после чего содержание ТНФ определяли с помощью иммуноферментного анализа.

Результаты. Выявлена статистически значимая разница концентрации ТНФ у пациентов с БАС и у пациентов из группы сравнения ($p < 0,0001$). При пороговой концентрации ТНФ ($0,785$ нг/мл) чувствительность и специфичность теста составили 94% и 86% соответственно. Повышенная концентрация ТНФ в ЦСЖ у пациентов с подтверждённым БАС наблюдалась в 94% случаев, в группе сравнения — лишь у 14% пациентов. Между группой БАС и группой контроля выявлена статистически значимая разница в концентрации ТНФ ($p < 0,0001$). Обнаружены отрицательная корреляция между концентрацией ТНФ в ЦСЖ и длительностью течения заболевания ($r = -0,5172$; $p = 0,0029$), положительная корреляция между скоростью прогрессии заболевания и концентрацией ТНФ ($r = 0,5480$; $p = 0,001$).

Выводы. Результаты проведённого исследования свидетельствуют о высокой клинической значимости ТНФ в ЦСЖ при БАС.

Ключевые слова: боковой амиотрофический склероз; нейрофиламенты; тяжёлые цепи нейрофиламентов; биомаркеры.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешних источников финансирования при проведении исследования.

Адрес для корреспонденции: 197101, Санкт-Петербург, ул. Большая Монетная, д. 34. E-mail: vladykina.anastasiya@gmail.com.
Владыкина А.В.

Для цитирования: Владыкина А.В., Назаров В.Д., Краснов В.С., Королева Е.И., Федорова П.А., Мошникова А.Н., Мазинг А.В., Лапин С.В., Эмануэль В.Л., Руденко Д.И., Стучевская Ф.Р., Затаковенко С.М., Павлова Т.А., Алексеева Т.М., Голдобин В.В. Исследование диагностической значимости тяжёлых цепей нейрофиламентов в цереброспинальной жидкости при боковом амиотрофическом склерозе. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2021. 15(1): 43–50.

DOI: 10.25692/ACEN.2021.1.5

Поступила 31.12.2019 / Принята в печать 15.12.2020

The diagnostic significance of neurofilament heavy chains in cerebrospinal fluid in amyotrophic lateral sclerosis

Anastasia V. Vladykina¹, Vladimir D. Nazarov¹, Vladimir S. Krasnov¹, Ekaterina I. Koroleva¹, Polina A. Fedorova¹, Anna N. Moshnikova¹, Aleksandra V. Mazing¹, Sergey V. Lapin¹, Vladimir L. Emanuel¹, Dmitriy I. Rudenko^{1,2}, Fatima R. Stuchevskaya^{1,2}, Sergey M. Zatakovenko², Tatyana A. Pavlova³, Tatyana M. Alekseeva³, Vitaliy V. Goldobin⁴

¹Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia;

²City Multidisciplinary Hospital № 2, St. Petersburg, Russia;

³Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia,

⁴North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

Introduction. Early diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is difficult because of the low sensitivity of clinical criteria at the early stages of the disease and the lack of reliable laboratory biomarkers. Neuron destruction leads to the release of excessively accumulated phosphorylated neurofilament heavy chains (pNFH) in the cerebrospinal fluid (CSF) and may potentially be used for early diagnosis of ALS. In addition, pNFH may have predictive significance.

Aim. To investigate the clinical significance of elevated neurofilament heavy chain levels in the CSF in ALS.

Materials and methods. The study included 33 patients with ALS diagnosed using the El Escorial criteria, 30 patients in the control group (post phlebotomy), as well as 28 patients in the comparison group: 16 patients with multiple sclerosis, 5 with autoimmune encephalitis, 1 with tick-borne encephalitis, 2 with primary lateral sclerosis, 1 with progressive muscle atrophy and 3 with other conditions (restless leg syndrome, compressive myelopathy and paraneoplastic cerebellar degeneration). All patients underwent a lumbar puncture, with pNFH levels measured using ELISA.

Results. A statistically significant difference in pNFH concentration was found between ALS patients and patients in the comparison group ($p < 0.0001$). At a threshold pNFH level, which was taken to be 0.785 ng/ml, the test sensitivity and specificity were 94% and 86%, respectively. Elevated pNFH levels in the CSF of patients with confirmed ALS were found in 94% of cases, compared with only 14% of patients in the comparison group. A statistically significant difference in pNFH concentration was found between the group with ALS and the control group ($p < 0.0001$). A negative correlation was found between pNFH level in the CSF and disease duration ($r = -0.5172$; $p = 0.0029$). A positive correlation was also found between the speed of disease progression and pNFH concentration ($r = 0.5480$; $p = 0.001$).

Conclusion. The results of this study demonstrate the high clinical significance of pNFH in the CSF in ALS.

Keywords: amyotrophic lateral sclerosis; neurofilaments; neurofilament heavy chains; biomarkers.

Acknowledgments. This study was not supported by any external sources of funding.

For correspondence: 197101, Russia, St. Petersburg, Bol'shaya Monetnaya str., 34. E-mail: vladykina.anastasiya@gmail.com. Vladykina A.V

For citation: Vladykina A.V., Nazarov V.D., Krasnov V.S., Koroleva E.I., Fedorova P.A., Moshnikova A.N., Mazing A.V., Lapin S.V., Emanuel V.L., Rudenko D.I., Stuchevskaya F.R., Zatakovenko S.M., Pavlova T.A., Alekseeva T.M., Goldobin V.V. [The diagnostic significance of neurofilament heavy chains in cerebrospinal fluid in amyotrophic lateral sclerosis]. *Annals of clinical and experimental neurology*. 2021; 15(1): 43–50. (In Russ.)

DOI: 10.25692/ACEN.2021.1.5

Received 31.12.2019 / Accepted 15.12.2020

Введение

Боковой амиотрофический склероз (БАС) представляет собой хроническое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание с избирательным поражением центральных и периферических двигательных нейронов, что приводит к утрате произвольной мышечной функции [1].

На данный момент «золотым стандартом» диагностики БАС являются критерии El Escorial (1994) в редакции Airlie House (2000) или Awaji-Shima (2008). Исходный вариант критериев БАС в адаптированной версии внесен в клинические неврологические рекомендации МЗ РФ [2]. В связи с низкой чувствительностью критериев на начальных этапах развития БАС, не превышающей 45% [3], в клинической практике для постановки диагноза широко используются визуализационные и нейрофизиологические исследования. Временной промежуток между манифестацией заболевания и постановкой диагноза нередко растягивается на несколько месяцев, что связано с отсутствием достоверных клинических данных. Это обуславливает необходимость

поиска лабораторного маркера, который мог бы достоверно выявлять БАС на ранних стадиях вне зависимости от клинических проявлений.

С морфологической точки зрения БАС характеризуется образованием местных утолщений аксонов центральных нейронов — «сфероидов», содержащих многочисленные везикулы, лизосомы, митохондрии, а также гиперфосфорилированные нейрофиламенты и микротрубочки [4, 5].

Белки нейрофиламентов принято делить по молекулярной массе на лёгкие цепи (68 кДа, 543 аминокислоты), средние цепи (150 кДа, 915 аминокислот) и тяжёлые цепи нейрофиламентов (205 кДа, 1020 аминокислот). В связи с большей молекулярной стабильностью наиболее перспективным лабораторным диагностическим маркером БАС являются тяжёлые цепи нейрофиламентов (ТНФ).

Молекулы ТНФ синтезируются преимущественно в теле нейрона, а затем транспортируются по аксону к месту их непосредственной сборки [6]. С-терминальные домены

ТНФ имеют множественные лизино-серино-пролиновые повторы, которые становятся гиперфосфорилированными и неспособными к адекватной сборке в случае снижения активности белковой фосфатазы 2A и белковой фосфатазы 1 [7], что выявлено при ряде нейродегенеративных заболеваний [8]. С помощью масс-спектрометрии установлено, что уровень фосфорилирования лизино-серино-пролиновых повторов у пациентов с БАС также повышается в 4–8 раз по сравнению с контрольной группой [9]. Нарушение транспортировки компонентов цитоскелета, таких как нейрофиламенты, является пусковым фактором образования сфероидов и ключевым элементом патогенеза БАС, что было показано T.L. Williamson и соавт. в исследованиях на лабораторных животных [10].

Вследствие остановки аксонального транспорта происходит набухание, а затем и разрушение нейронов с высвобождением нейрофиламентов в цереброспинальную жидкость (ЦСЖ) [5]. Увеличение концентрации цепей нейрофиламентов в ЦСЖ может использоваться для диагностики и прогноза заболеваний, характеризующихся стремительной гибелью нейронов [11], включая многие нейродегенеративные и нейровоспалительные патологии. Однако столь значительное повышение концентрации ТНФ в ЦСЖ, обусловленное, вероятно, доказанным участием ТНФ в этиопатогенезе заболевания, характерно лишь для БАС, что обуславливает интерес к использованию данного маркера в его диагностике.

В русскоязычной литературе первые попытки изучения данного маркера были предприняты Л.В. Брылевым в 2009 г. [12] и продолжены А.А. Воробьевой в 2014 г. [11]. Несмотря на это исследования прекратились, и в широкую неврологическую практику маркер не вошел. На данный момент практическая значимость ТНФ в диагностике БАС остается не до конца ясной.

Целью данной работы была оценка диагностической значимости ТНФ в ЦСЖ при БАС в целях его дифференциальной диагностики с другими демиелинизирующими и воспалительными заболеваниями центральной нервной системы.

Материалы и методы

В исследовании принял участие 91 пациент клиники неврологии и отделения анестезиологии-реанимации ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, отделения неврологии № 1 лечебно-реабилитационного комплекса НМИЦ имени В.А. Алмазова, отделения неврологии № 3 Городской многопрофильной больницы № 2 г. Санкт-Петербурга, отделения неврологии № 1 СЗГМУ им. И.И. Мечникова. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. Все пациенты дали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Основная группа включала 33 пациентов с БАС (20 женщин и 13 мужчин).

Критерии включения:

- БАС, диагностированный по критериям El Escorial (2015): достоверно подтвержденный; вероятный; клинически вероятный, лабораторно подтвержденный; возможный [2];
- спинномозговая пункция, выполненная в ту же или последующую после постановки диагноза госпитализацию.

Проведены подробный сбор и анализ анамнестических данных, а также данных за предыдущие госпитализации, оценка по шкале ALSFRS-R на момент осуществления спинномозговой пункции.

У 20 пациентов установлен диагноз «достоверно подтвержденный БАС», у 7 — «вероятный БАС», у 4 — «клинически вероятный, лабораторно подтвержденный БАС», у 2 — «возможный БАС». Средний возраст дебюта заболевания по медиане составил 60,0 [56,5; 66,0] лет. Медиана количества месяцев, прошедших с момента начала симптомов до пункции, составила 12,0 [7,5; 22,0].

Скорость прогрессии заболевания оценивали как отношение сформировавшегося неврологического дефицита на момент осмотра в отделении к длительности заболевания (т.е. времени с момента начала симптоматики до пункции в месяцах). Неврологический дефицит классифицировали по шкале ALSFRS-R. Скорость прогрессии заболевания для каждого пациента рассчитывали по формуле:

$$\text{Скорость прогрессии заболевания} = (48 - \text{ALSFRS-}R_{\text{факт}}) / \text{длительность заболевания},$$

где 48 — максимальное количество баллов по шкале ALSFRS-R, свойственное неврологически сохранным пациентам; ALSFRS- $R_{\text{факт}}$ — фактическая оценка пациента по шкале ALSFRS-R; длительность заболевания представлена в месяцах.

Из группы БАС были исключены пациенты с изолированным вовлечением одного (центрального либо периферического) нейрона, в частности, пациенты с первичным латеральным склерозом (ПЛС) и прогрессирующей мышечной атрофией (ПМА), которые были отнесены к группе сравнения.

Из 28 пациентов была сформирована группа сравнения. В неё вошли 25 пациентов, у которых был клинически заподозрен БАС, чем обусловлено назначение исследования концентрации ТНФ в ЦСЖ, но в последующем данный диагноз исключен. Это больные рассеянным склерозом (РС), подтвержденным по критериям МакДональда (2010) ($n = 16$, из них 1 пациент с первично-прогрессирующим РС, у остальных рецидивирующе-ремиттирующий тип течения в периоде обострения либо сразу после него), аутоиммунными энцефалитами ($n = 5$, в том числе 2 пациента в дебюте заболевания, 3 пациента вне обострения), клещевым энцефалитом ($n = 1$), с другими патологиями ($n = 3$, в том числе с синдромом беспокойных ног, компрессионной миелопатией, паранеопластической дегенерацией мозжечка). У 3 пациентов были заболевания, избирательно поражающие центральный либо периферические нейроны: 2 пациента с ПЛС (достоверным и вероятным) и 1 пациент с ПМА (нижний нейрон); о них были собраны дополнительные сведения для дальнейшего корректного сравнения.

Группа контроля состояла из 30 пациентов, ЦСЖ которых была получена при проведении спинальной анестезии перед операцией флэбэктомии.

У всех пациентов была проведена люмбальная пункция. Для измерения концентрации ТНФ использовали метод иммуноферментного анализа («BioVendor») в соответствии с инструкцией производителя.

Статистический анализ данных осуществляли с помощью программы для статистической обработки данных «GraphPadPrism 8» («Graph Pad Software Inc.»).

Для каждой группы пациентов был проведен анализ на нормальное распределение. В соответствии с его результатами были использованы параметрические или непараметрические способы оценки выборок. Для группы БАС, прошедшей проверку на нормальность распределения, использовали среднее арифметическое; для групп сравнения и контроля, данную проверку не прошедших, — медиану. Зависимость между двумя явлениями устанавливали в тесте ранговой корреляции Спирмена. Для сравнения двух выборок, прошедших анализ на нормальность распределения, использовали *t*-критерий Стьюдента; если одна или обе выборки имели негауссово распределение, применяли *U*-критерий Манна–Уитни. Значимость полученных по результатам проведенных тестов данных подтверждалась при значении $p < 0,05$.

Результаты

Для определения диагностической информативности ТНФ был проведен ROC-анализ (receiver operating characteristic), который позволил оценить зависимость чувствительности и специфичности от различных значений референтных границ. Площадь под кривой (AUC) составила 0,9091. Пороговый уровень концентрации ТНФ был рассчитан на основании максимальных значений показателей чувствительности и специфичности теста (93,94 и 85,71% соответственно) и составил 0,7850 нг/мл (рис. 1).

При анализе данных была обнаружена статистически значимая разница ($p < 0,0001$) между группой БАС и группой сравнения (рис. 2). Распределение уровней ТНФ в группе БАС и каждой из подгрупп группы сравнения по отдельным нозологическим единицам представлено на рис. 3.

В соответствии с данными анализа ROC-кривой за пороговый уровень для концентрации ТНФ в ЦСЖ было принято значение 0,785 нг/мл. У 6% пациентов группы БАС

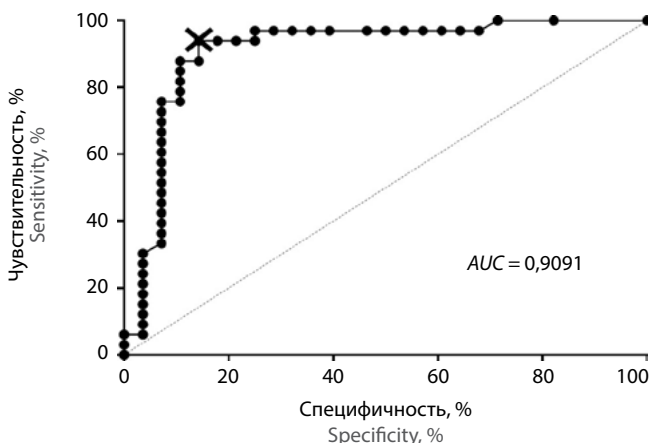


Рис. 1. Анализ ROC-кривой концентрации ТНФ в ЦСЖ пациентов в группах БАС и сравнения. Избранное пороговое значение отмечено на графике «X». AUC — площадь под кривой.

Fig. 1. ROC analysis of the pNFH concentration in the CSF of patients in the ALS and comparison groups. The chosen threshold level is marked as 'X' on the graph. AUC — area under the curve.

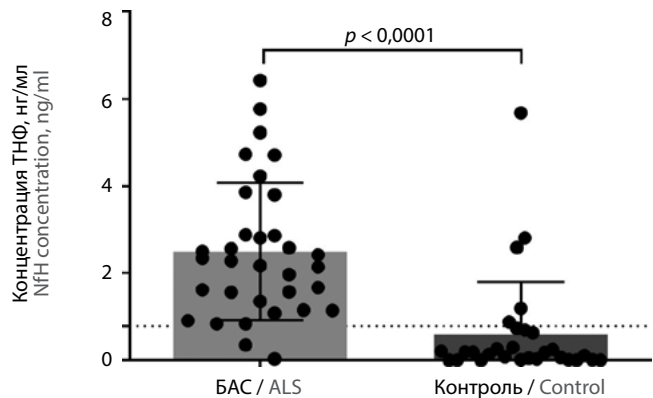


Рис. 2. Распределение уровней концентрации ТНФ в группе БАС и в группе сравнения. Пороговый уровень обозначен пунктирной линией.

Fig. 2. pNFH level distribution in the ALS and comparison groups. The dotted line indicates the threshold level.

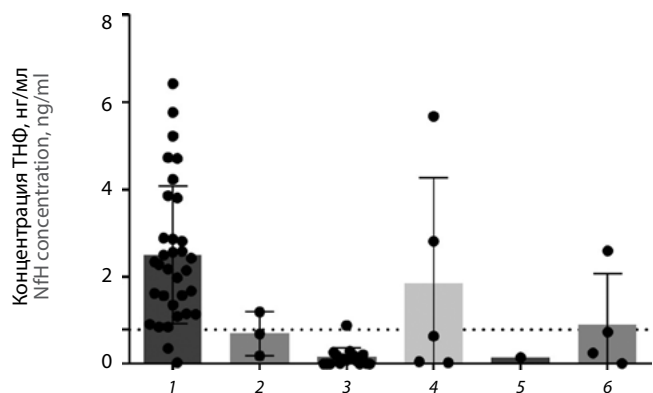


Рис. 3. Распределение уровней концентрации ТНФ по отдельным нозологическим единицам.

1 — БАС; 2 — ПЛС/ПМА; 3 — РС; 4 — аутоиммунные энцефалиты; 5 — клещевой вирусный энцефалит; 6 — другие заболевания (включая синдром беспокойных ног, компрессионную миелопатию, паранеопластическую дегенерацию мозжечка). Пороговый уровень обозначен пунктирной линией.

Fig. 3. pNFH level distribution according to specific conditions. 1 — ALS; 2 — primary lateral sclerosis/progressive muscular atrophy; 3 — multiple sclerosis; 4 — autoimmune encephalitis; 5 — tick-borne viral encephalitis; 6 — other diseases (including restless leg syndrome, compressive myelopathy, paraneoplastic cerebellar degeneration). The dotted line indicates the threshold level.

концентрация ТНФ в ЦСЖ не превышала референтного уровня. Средний уровень содержания ТНФ в ЦСЖ пациентов группы БАС по среднему арифметическому составил 2,496 нг/мл.

У пациентов группы сравнения медиана концентрации ТНФ составила 0,16 нг/мл, однако у 4 пациентов (14%) был обнаружен повышенный уровень ТНФ в ЦСЖ (таблица). Следует обратить внимание, что у одного из этих больных также был установлен диагноз «возможный ПЛС».

В подгруппе с исключительным вовлечением центрального либо периферического нейрона средний уровень содержания ТНФ составил 0,6867 нг/мл. В эту подгруппу вошли 1 женщина и 2 мужчин; среднее арифметическое возраста дебюта заболевания составило 47 лет; средний промежуток времени с начала симптоматики до пункции — 60 мес.

Пациенты группы сравнения с высокой концентрацией ТНФ

Patients in the comparison group with high pNFH concentration

Пациент Patient	Концентрация ТНФ, нг/мл pNFH level, ng/ml	Диагноз Diagnosis
1	0,88 (>)	РС (первично-прогрессирующий РС) Multiple sclerosis (primary progressive multiple sclerosis)
2	5,68 (>)	Аутоиммунный энцефалит Autoimmune encephalitis
3	2,81 (>)	Аутоиммунный энцефалит Autoimmune encephalitis
4	1,19 (>)	Возможный ПЛС Probable primary lateral sclerosis

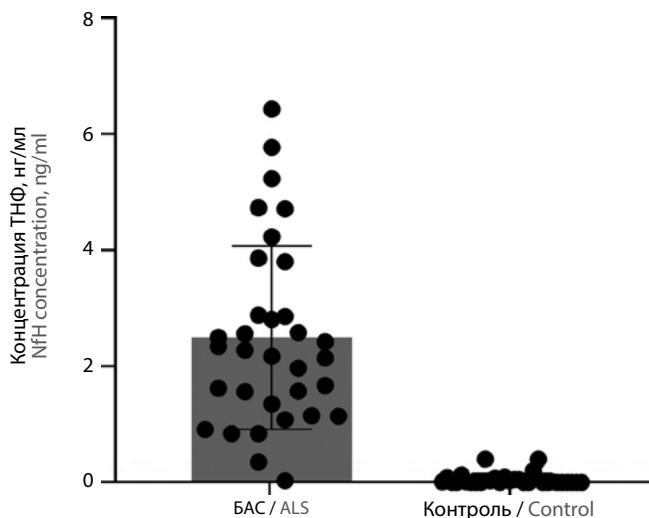


Рис. 4. Распределение уровней концентрации ТНФ в группе БАС и в группе контроля.

Fig. 4. pNFH level distribution in the ALS and control groups.

У 1 из пациентов с диагнозом ПЛС длительность заболевания составила 65 мес, а концентрация ТНФ — 0,69 нг/мл; у другого пациента длительность заболевания составила 40 мес, что позволяет уточнить диагноз как «вероятный ПЛС», концентрация ТНФ превысила заданный пороговый уровень и составила 1,19 нг/мл. Пациент, у которого поставлен диагноз ПМА с вовлечением нижнего мотонейрона, имел концентрацию ТНФ 0,18 нг/мл и длительность заболевания 75 мес.

Проведено сравнение выборок пациентов группы БАС и пациентов группы контроля (рис. 4). Средний уровень содержания ТНФ в ЦСЖ группы контроля с негауссовым распределением по медиане составил 0,00 нг/мл (в группе БАС с гауссовым распределением — 2,496 нг/мл по среднему арифметическому). Между группой БАС и группой контроля обнаружена статистически значимая разница ($p < 0,0001$).

В группе БАС проведен корреляционный анализ уровня ТНФ в ЦСЖ с длительностью заболевания, за которую было принято время от дебюта симптоматики по данным анамнеза до момента люмбальной пункции (рис. 5). В расчёт корреляции были включены пациенты с длительностью заболевания более 5 мес, т.к. ранее установлено, что до данного срока концентрация ТНФ в ЦСЖ возрастает,

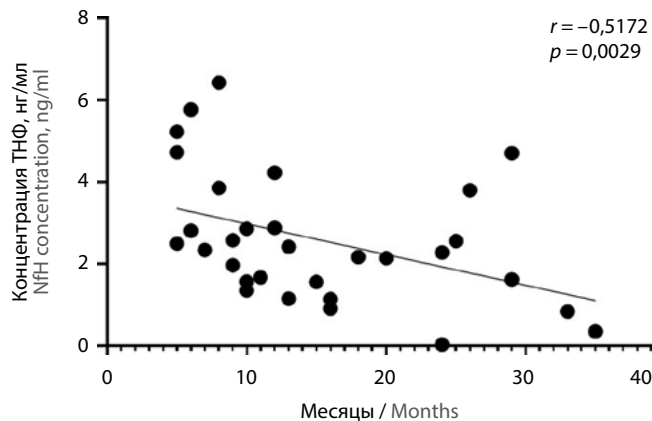


Рис. 5. Корреляционный анализ уровня ТНФ в ЦСЖ с длительностью заболевания.

Fig. 5. Correlation analysis of the CSF pNFH level and disease duration.

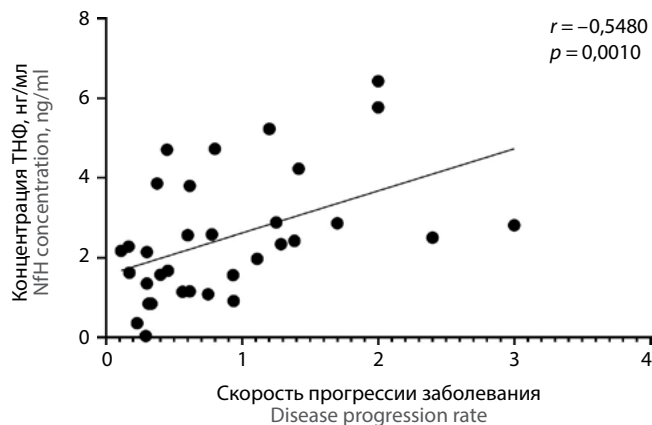


Рис. 6. Корреляционный анализ уровня ТНФ в ЦСЖ со скоростью прогрессии заболевания.

Fig. 6. Correlation analysis of the CSF pNFH level and rate of disease progression.

а к 5 мес достигает плато и затем начинает постепенно снижаться [13]. Обнаружена отрицательная корреляция между продолжительностью заболевания и содержанием ТНФ в ЦСЖ ($r = -0,5172$; $p = 0,0029$).

Между скоростью прогрессии заболевания (вычисленной для каждого пациента) и концентрацией ТНФ в ЦСЖ выявлена значимая положительная корреляция ($r = 0,5480$; $p = 0,0010$; рис. 6).

Обсуждение

Своевременная диагностика БАС на ранних этапах затруднена в связи с недостаточной чувствительностью применяемых критериев, в значительной мере базирующихся на клинических проявлениях заболевания. Возникает необходимость в поиске чувствительного лабораторного маркера, который мог бы достоверно диагностировать БАС на ранних этапах еще до возникновения яркой клинической картины, и при этом достаточно специфичного, чтобы отличить БАС от других заболеваний, имитирующих его проявления.

Многообещающим диагностическим лабораторным маркером БАС являются ТНФ, повышение концентрации которых свидетельствует о разрушении нервных клеток. При БАС гибель нейронов происходит массивно и за достаточно короткий срок, в связи с чем уровень концентрации маркера значительно выше, чем при других нейродегенеративных и нейровоспалительных заболеваниях.

При анализе данных между группой БАС и группой сравнения была обнаружена статистически значимая разница ($p < 0,0001$). При пороговом значении, установленном на уровне 0,785 нг/мл, чувствительность исследования ТНФ в ЦСЖ составляет 93,94%, а специфичность — 85,71%. В других подобных исследованиях за пороговый уровень были приняты значения 0,730 нг/мл [6], 0,618 нг/мл при исследовании с контрольной группой и 0,768 нг/мл при исследовании с заболеваниями спектра БАС [13]. Соответственно, в первом случае чувствительность и специфичность составили 81,5 и 88,2% и во втором — 90,7 и 88,0%. Таким образом, полученные в нашем исследовании данные сопоставимы с данными других исследователей. При сравнении группы БАС с группой контроля, в которую были включены неврологически сохранные пациенты, также обнаружена статистически значимая разница ($p < 0,0001$), что соответствует данным литературы [15]. Превышение заданного порогового уровня концентрации ТНФ у здоровых пациентов не отмечено, что подтверждает сведения о том, что ТНФ массивно высвобождаются из разрушаемых нейронов, а не присутствуют в высокой концентрации в ЦСЖ в норме.

Исследование концентрации ТНФ в более гомогенной группе БАС-имитирующих болезней (бульбоспинальная амиотрофия Кеннеди, болезнь Фацио–Лонде, прогрессирующие спинальные мышечные атрофии, мультифокальная моторная нейропатия, а также ПЛС, ПМА и др.) предстоит провести в будущем.

Только у 6% обследуемых пациентов из группы БАС концентрация ТНФ в ЦСЖ была ниже заданного порогового уровня. В проведенных ранее международных исследованиях получены данные о том, что 94,7% пациентов с БАС имеют концентрацию ТНФ в ЦСЖ, превышающую пороговый уровень [15]. Таким образом, наши результаты соответствуют сведениям литературы. Низкие значения концентрации ТНФ могут встречаться на более поздних этапах болезни.

У пациентов группы сравнения повышенный уровень ТНФ в ЦСЖ обнаружен в 14% случаев, что в целом сопоставимо с данными, полученными в других исследованиях, в среднем — 19,5% [13]. Меньшая доля таких пациентов в выборке может быть обусловлена более высоким выбранным пороговым уровнем. У 2 пациентов с повышенными зна-

чениями ТНФ в группе сравнения диагностирован аутоиммунный энцефалит, у 1 пациента — первично-прогрессирующий РС и у 1 пациента — вероятный ПЛС. Известно, что из 3 пациентов подгруппы с избирательным поражением центрального либо периферических нейронов пациент с вероятным ПЛС имел наименьшую длительность заболевания — на момент проведения исследования она составила 40 мес¹ — и раньше других пациентов обратился за неврологической помощью, что может быть связано с более агрессивной прогрессией заболевания. Концентрация ТНФ в ЦСЖ у 2 других пациентов подгруппы не превысила установленного порогового уровня. Тем не менее срок течения заболевания у данных пациентов был значительно больше и составил в среднем 60 мес, в то время как в группе БАС — 12 мес. Концентрация ТНФ, превышающая пороговое значение, в случае пациента с первично-прогрессирующим РС может быть объяснена более быстрой прогрессией дегенерации и, следовательно, более стремительной гибелью нейронов при этой форме РС, нежели при рецидивирующе-ремиттирующей форме, которой страдали остальные пациенты. Несмотря на обилие форм аутоиммунного энцефалита [16], манифестация данной группы заболеваний сопровождается активным интратекальным воспалением, повреждением нейрональной ткани и быстрым развитием яркой симптоматики, что может сопровождаться незначительным повышением концентрации ТНФ [17]. В данном исследовании люмбальная пункция была произведена на высоте клинической симптоматики.

При корреляционном анализе между продолжительностью заболевания и содержанием ТНФ в ЦСЖ обнаружена статистически значимая обратно-пропорциональная связь ($r = -0,5172$; $p = 0,0029$). Ряд исследователей установили, что уровень ТНФ значительно повышается спустя 4 мес после манифестации заболевания, достигает плато на 5-м месяце, однако может постепенно снижаться после 1 года.

Между скоростью прогрессии заболевания и концентрацией ТНФ в ЦСЖ выявлена значимая положительная корреляция ($r = 0,5480$; $p = 0,0010$). Аналогичные данные приведены другими авторами, показавшими, что у пациентов со средней и быстрой скоростью прогрессии заболевания концентрация ТНФ в ЦСЖ значительно более высокая [13]. Можно сделать вывод, что пациенты с более высокой скоростью течения заболевания демонстрируют более высокую концентрацию биомаркера, что объясняется массивным одномоментным разрушением нейронов и свидетельствует о возможности использования ТНФ в ЦСЖ в качестве предиктивного маркера относительно скорости течения заболевания.

Концентрация ТНФ в ЦСЖ является перспективным диагностическим маркером для объективизации БАС, поэтому проводятся многочисленные исследования с целью накопления клинических данных. Согласно полученным в данном исследовании результатам, использование этого маркера в практике врача-невролога потенциально способно ускорить постановку правильного диагноза, что приведет к более раннему началу реабилитации и улучшению прогноза жизни пациентов. Предварительно можно говорить даже

¹ Длительность симптоматики от 2 до 4 лет не позволяет полностью исключить развития БАС, и пациенту ставится диагноз «вероятного ПЛС». Для постановки диагноза «достоверного ПЛС» необходимо наличие соответствующей симптоматики более 4 лет без наличия признаков БАС. То есть при повторном неврологическом осмотре данного пациента по прошествии 4 лет с момента начала симптоматики диагноз ПЛС может быть подтвержден либо изменен в пользу БАС.

о том, что исследование концентрации ТНФ может помочь в дифференциальной диагностике БАС. В заключение следует также отметить, что многообещающими являются ис-

следования прогностической значимости данного маркера и его способности выявлять пациентов с более быстрой прогрессией заболевания.

Список литературы

1. Завалишин И.А. (ред.) Боковой амиотрофический склероз. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009.
2. Гусев Е.И., Коновалов А.Н. (ред.) Клинические рекомендации. Неврология и нейрохирургия. 2-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015.
3. Geevasinga N., Menon P., Scherman D.B. et al. Diagnostic criteria in amyotrophic lateral sclerosis: A multicenter prospective study. *Neurology*. 2016; 87(7): 684–690. DOI: 10.1212/WNL.0000000000002988. PMID: 27440148.
4. Brown R.H. Jr. Amyotrophic lateral sclerosis and other motor neuron diseases. In: Hauser S.L. (ed.) *Harrison's neurology in clinical medicine*. 4th ed. N.Y.: McGraw-Hill Education, 2017: 449–459.
5. De Vos K.J., Hafezparast M. Neurobiology of axonal transport defects in motor neuron diseases: Opportunities for translational research? *Neurobiol Dis*. 2017; 105: 283–299. DOI: 10.1016/j.nbd.2017.02.004. PMID: 28235672.
6. Petzold A. Neurofilament phosphoforms: Surrogate markers for axonal injury, degeneration and loss. *J Neurol Sci*. 2005; 233: 183–198. DOI: 10.1016/j.jns.2005.03.015. PMID: 15896809.
7. Nixon R.A., Lewis S.E. Differential turnover of phosphate groups on neurofilament subunits in mammalian neurons *in vivo*. *J. Biol. Chem.* 1986; 261(35): 16298–16301. PMID: 3782120.
8. Gong C., Shaikh S., Wang J., et al. Phosphatase activity toward abnormally phosphorylated τ : decrease in Alzheimer disease brain. *J Neurochem*. 1995; 65: 732–738. DOI: 10.1046/j.1471-4159.1995.65020732.x.
9. Yuan A., Rao M.V., Veeranna, Nixon R.A. Nixon neurofilaments at a glance. *J Cell Sci*. 2012; 125: 3257–3263. DOI: 10.1242/JCS.104729. PMID: 22956720.
10. Williamson T.L., Bruijn L.I., Zhu Q., et al. Absence of neurofilaments reduces the selective vulnerability of motor neurons and slows disease caused by a familial amyotrophic lateral sclerosis-linked superoxide dismutase 1 mutant. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998; 95(16): 9631–9636. DOI: 10.1073/PNAS.95.16.9631. PMID: 9689132.
11. Воробьева А.А., Фоминых В.В., Онуфриев М.В. и др. Использование тяжелых цепей фосфорилированных нейрофиламентов в качестве маркера нейродегенерации при демиелизирующих заболеваниях ЦНС. *Нейрохимия*. 2014; 31(3): 254–259. DOI: 10.7868/S1027813314030145.
12. Брылев Л.В. Роль белков клеточного цикла и протеолитических ферментов в патогенезе бокового амиотрофического склероза: дис. ... канд. мед. наук. М., 2009. 143 с.
13. Poesen K., De Schaepdryver M., Stubendorff B., et al. Neurofilament markers for ALS correlate with extent of upper and lower motor neuron disease. *Neurology*. 2017; 88(24): 2302–2309. DOI: 10.1212/WNL.0000000000004029. PMID: 28500227.
14. Reijn T.S., Abdo W.F., Schelhaas H.J., et al. CSF neurofilament protein analysis in the differential diagnosis of ALS. *J Neurol*. 2009; 256(4): 615–619. DOI: 10.1007/s00415-009-0131-z. PMID: 19296046.
15. Xu Z., Henderson R.D., David M., et al. Neurofilaments as biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2016; 11(10): e0164625. DOI: 10.1371/journal.pone.0164625. PMID: 27732645.
16. Полонский Е.Л., Скулябин Д.И., Лапин С.В. и др. Полиморфизм аутоиммунного энцефалита. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2019; 13(2): 79–91. DOI: 10.25692/ACEN.2019.2.9.
17. Li J., Gu Y., An H., et al. Cerebrospinal fluid light and heavy neurofilament level increased in anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis. *Brain Behav*. 2019; 9:e01354. DOI: 10.1002/brb3.1354.

References

1. Zavalishin I.A. (ed.) [Amyotrophic lateral sclerosis]. Moscow, 2009. (In Russ.)
2. Gusev E.I., Kononov A.N. (eds.) [Clinical Practice Guidelines. Neurology and Neurosurgery]. 2nd ed. Moscow, 2015. (In Russ.)
3. Geevasinga N., Menon P., Scherman D.B. et al. Diagnostic criteria in amyotrophic lateral sclerosis: A multicenter prospective study. *Neurology*. 2016; 87(7): 684–690. DOI: 10.1212/WNL.0000000000002988. PMID: 27440148.
4. Brown R.H. Jr. Amyotrophic lateral sclerosis and other motor neuron diseases. In: Hauser S.L. (ed.) *Harrison's neurology in clinical medicine*. 4th ed. N.Y.: McGraw-Hill Education, 2017: 449–459.
5. De Vos K.J., Hafezparast M. Neurobiology of axonal transport defects in motor neuron diseases: Opportunities for translational research? *Neurobiol Dis*. 2017; 105: 283–299. DOI: 10.1016/j.nbd.2017.02.004. PMID: 28235672.
6. Petzold A. Neurofilament phosphoforms: Surrogate markers for axonal injury, degeneration and loss. *J Neurol Sci*. 2005; 233: 183–198. DOI: 10.1016/j.jns.2005.03.015. PMID: 15896809.
7. Nixon R.A., Lewis S.E. Differential turnover of phosphate groups on neurofilament subunits in mammalian neurons *in vivo*. *J. Biol. Chem.* 1986; 261(35): 16298–16301. PMID: 3782120.
8. Gong C., Shaikh S., Wang J., et al. Phosphatase activity toward abnormally phosphorylated τ : decrease in Alzheimer disease brain. *J Neurochem*. 1995; 65: 732–738. DOI: 10.1046/j.1471-4159.1995.65020732.x.
9. Yuan A., Rao M.V., Veeranna, Nixon R.A. Nixon neurofilaments at a glance. *J Cell Sci*. 2012; 125: 3257–3263. DOI: 10.1242/JCS.104729. PMID: 22956720.
10. Williamson T.L., Bruijn L.I., Zhu Q., et al. Absence of neurofilaments reduces the selective vulnerability of motor neurons and slows disease caused by a familial amyotrophic lateral sclerosis-linked superoxide dismutase 1 mutant. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998; 95(16): 9631–9636. DOI: 10.1073/PNAS.95.16.9631. PMID: 9689132.
11. Vorob'eva A.A., Fominykh V.V., Onufriev M.V. et al. [The usage of phosphorylated NfH as a neurodegeneration marker in demyelinating diseases of CNS]. *Neyrokhimiya [Neurochemistry]*. 2014; 31(3): 254–259. DOI: 10.7868/S1027813314030145. (In Russ.)
12. Brylev L.V. [The role of cell cycle proteins and proteolytic enzymes in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis: Thesis Cand. Sci. (Med.)]. Moscow, 2009. 143 p. (in Russ.)
13. Poesen K., De Schaepdryver M., Stubendorff B., et al. Neurofilament markers for ALS correlate with extent of upper and lower motor neuron disease. *Neurology*. 2017; 88(24): 2302–2309. DOI: 10.1212/WNL.0000000000004029. PMID: 28500227.
14. Reijn T.S., Abdo W.F., Schelhaas H.J., et al. CSF neurofilament protein analysis in the differential diagnosis of ALS. *J Neurol*. 2009; 256(4): 615–619. DOI: 10.1007/s00415-009-0131-z. PMID: 19296046.
15. Xu Z., Henderson R.D., David M., et al. Neurofilaments as biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2016; 11(10): e0164625. DOI: 10.1371/journal.pone.0164625. PMID: 27732645.
16. Polonsky E.L., Skulyabin D.I., Lapin S.V. et al. [Polymorphism of autoimmune encephalitis]. *Annals of clinical and experimental neurology*. 2019; 13(2): 79–91. DOI: 10.25692/ACEN.2019.2.9. (In Russ.)
17. Li J., Gu Y., An H., et al. Cerebrospinal fluid light and heavy neurofilament level increased in anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis. *Brain Behav*. 2019; 9:e01354. DOI: 10.1002/brb3.1354.

Информация об авторах

Владыкина Анастасия Владимировна — студент, ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Назаров Владимир Дмитриевич — к.м.н., м.н.с. лаб. диагностики аутоиммунных заболеваний Научно-методического центра по молекулярной медицине ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Краснов Владимир Сергеевич — к.м.н., врач-невролог, доцент каф. неврологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Королева Екатерина Игоревна — студент, ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Федорова Полина Андреевна — студент, ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Мошникова Анна Николаевна — м.н.с. лаб. диагностики аутоиммунных заболеваний Научно-методического центра по молекулярной медицине ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Мазинг Александра Васильевна — к.м.н., с.н.с. лаб. диагностики аутоиммунных заболеваний научно-методического центра по молекулярной медицине ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Лалин Сергей Владимирович — к.м.н., зав. лаб. диагностики аутоиммунных заболеваний Научно-методического центра по молекулярной медицине ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Эмануэль Владимир Леонидович — д.м.н., проф., директор Научно-методического центра по молекулярной медицине МЗ РФ, зав. каф. клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Руденко Дмитрий Игоревич — д.м.н., врач-невролог СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2», Санкт-Петербург, Россия; проф. каф. неврологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Стучевская Фатима Рамазановна — к.м.н., врач-невролог, зав. неврологическим отделением № 3 СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2», Санкт-Петербург, Россия; доцент каф. неврологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Затаковенко Сергей Михайлович — врач-невролог СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2», Санкт-Петербург, Россия

Павлова Татьяна Александровна — врач-невролог, зав. неврологическим отд. № 1 лечебно-реабилитационного комплекса ФГБУ «НМИЦ имени В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Россия

Алексеева Татьяна Михайловна — д.м.н., зав. каф. неврологии и психиатрии ФГБУ «НМИЦ имени В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Россия

Голдобин Виталий Витальевич — д.м.н., врач-невролог, зав. неврологическим отд. № 1 ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова», Санкт-Петербург, Россия

Вклад авторов. А.В. Владыкина, Е.И. Королева, П.А. Федорова внесли равный вклад в написание статьи. Все соавторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Information about the authors

Anastasia V. Vladykina — student, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

Vladimir D. Nazarov — PhD. (Med.), junior researcher, Laboratory of autoimmune diseases, Scientific and Methodological Center for Molecular Medicine, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

Vladimir S. Krasnov — PhD. (Med.), neurologist, Assoc. Prof., Department of neurology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

Ekaterina I. Koroleva — student, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

Polina A. Fedorova — student, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

Anna N. Moshnikova — junior researcher, Laboratory of autoimmune diseases, Scientific and Methodological Center for Molecular Medicine, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

Aleksandra V. Mazing — PhD. (Med.), senior researcher, Laboratory of autoimmune diseases, Scientific and Methodological Center for Molecular Medicine, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

Sergey V. Lalin — PhD. (Med.), Head, Laboratory of autoimmune diseases, Scientific and Methodological Center for Molecular Medicine, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

Vladimir L. Emanuel — D. Sci. (Med.), Prof., Director, Scientific and Methodological Center for Molecular Medicine, Head, Department of clinical laboratory diagnostics, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

Dmitriy I. Rudenko — D. Sci. (Med.), neurologist, City Multidisciplinary Hospital No. 2, Prof., Department of neurology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

Fatima R. Stuchevskaya — PhD. (Med.), neurologist, Head, 3rd Neurology department, City Multidisciplinary Hospital No.2, St. Petersburg, Russia; Assoc. Prof., Department of neurology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

Sergey M. Zatakovenko — neurologist, City Multidisciplinary Hospital No. 2, St. Petersburg, Russia

Tatyana A. Pavlova — neurologist, Head, 1st Neurology department, Clinical-rehabilitation complex, Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia

Tatyana M. Alekseeva — D. Sci. (Med.), Head, Department of neurology and psychiatry, Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia

Vitaliy V. Goldobin — D. Sci. (Med.), neurologist, Head, 1st Neurology department, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

Author contribution. A.V. Vladykina, E.I. Koroleva, P.A. Fedorova made an equal contribution to the writing of the article. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.