

На правах рукописи

Кравченко Елена Николаевна

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ
НЕЙРОСИФИЛИСА НА ОСНОВЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ В ЛИКВОРЕ
МАРКЕРОВ ПОРАЖЕНИЯ НЕРВНОЙ ТКАНИ**

14.01.10 – кожные и венерические болезни

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2019

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент **Новиков Юрий Александрович**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор **Сырнева Татьяна Анатольевна**

(Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии, г. Екатеринбург, ведущий научный сотрудник научно-образовательного отдела)

доктор медицинских наук, профессор **Соколовский Евгений Владиславович**

(Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И. П. Павлова, заведующий кафедрой дерматовенерологии с клиникой)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2019 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.06, созданного на базе Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; тел.: (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Залесского, д. 4; тел. 8 (383) 229-10-83); <http://ngmu.ru/dissertation/458>)

Автореферат разослан «_____» _____ 2019 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

Т. Б. Решетникова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность избранной темы. С начала 90-х годов в России заболеваемость сифилисом возросла в 60 раз. За последние годы уровень официально регистрируемой заболеваемости сифилисом по сравнению с серединой 90-х годов характеризовалась некоторым снижением. Тем не менее, динамика изменения темпов роста отдельных форм сифилиса, а также научные исследования позволяют прогнозировать очередной рост заболеваемости.

Прогноз, приведенный Л. И. Тихоновой и Н. К. Приваловой, свидетельствует, что заболеваемость нейросифилисом будет возрастать примерно на 15–25 % в год. Обращает на себя внимание увеличение случаев менингovasкулярных форм раннего нейросифилиса, что говорит о значительном сокращении сроков развития заболевания. Анализ клинических особенностей современного сифилиса выявляет, как минимум, две крайние тенденции: с одной стороны, участились случаи злокачественного течения инфекции, с другой – увеличилась доля больных со скрытым течением заболевания (происходит своеобразное расслоение контингента больных по клиническим проявлениям).

Сложившаяся ситуация требует от клиницистов диагностической настороженности в отношении нейросифилиса.

В современных литературных источниках описываются преимущественно клинические случаи нейросифилиса, а не новые диагностические подходы. Подавляющее большинство современных методов диагностики нейросифилиса базируются на ИФА и предназначены для первичных скрининговых исследований. Следует также отметить, что в настоящее время потребности практической медицины в отношении диагностики нейросифилиса обуславливают необходимость разработки не только скрининговых методов, но и других высокоинформативных тестов, пригодных для решения сложных диагностических ситуаций, что, в совокупности, доказывает высокую актуальность изучения данной проблемы.

Степень разработанности темы диссертации. В настоящее время патогенез сифилитического поражения нервной системы остается до конца не изученным. Не существует целостного взгляда на взаимосвязь иммунных

нарушений при нейросифилисе.

В отечественной и зарубежной литературе недостаточно информации о значимости и характере изменений цитокинового профиля и специфических маркеров поражения нервной ткани у больных с нейросифилисом. Не в полной мере изучена и систематизирована роль современных дополнительных методов диагностики нейросифилиса и их роль в прогнозировании и оценке адекватности терапии данного заболевания.

Все это, несомненно, доказывает высокую актуальность изучения данной проблемы, тем более что заболевание нейросифилисом приводит к значительной инвалидизации больных.

Цель исследования. Разработать дополнительные критерии диагностики нейросифилиса путем определения в ликворе маркеров поражения нервной ткани и оценить их взаимосвязь с другими клинико-лабораторными параметрами.

Задачи исследования

1. Изучить особенности результатов серологического исследования крови у больных манифестным, асимптомным нейросифилисом и у больных сифилисом без специфического поражения нервной системы.

2. Охарактеризовать изменения ликвора на основе серологического и клинического методов исследования в данных группах пациентов.

3. Определить концентрацию интерлейкинов-23, 12p40, а также глиального фибриллярного кислого протеина (GFAP) в ликворе больных различными формами сифилиса и оценить их взаимосвязь с течением сифилитической инфекции в исследуемых группах больных.

4. Разработать прогностическую модель поражения нервной системы на основе полученных результатов.

Научная новизна. Установлено, что концентрация ИЛ-23 и ИЛ-12p40 в ликворе в полтора раза выше при нейросифилисе в целом, чем у больных сифилисом без доказанного поражения нервной системы. При этом наиболее высокий уровень концентрации ИЛ, в частности ИЛ-23, отмечен при асимптомном нейросифилисе. При нейросифилисе в целом обнаружено, что концентрация глиального фибриллярного кислого протеина (GFAP) в ликворе в

четыре раза выше, чем у больных сифилисом без доказанного поражения нервной системы. При этом не обнаружено разницы между уровнем данного показателя при асимптомном течении нейросифилиса и при нейросифилисе с симптомами.

Теоретическая и практическая значимость работы. Показано, что определение в ликворе концентрации цитокинов (ИЛ-23, ИЛ-12p40) и GFAP может быть использовано для диагностики поражения ЦНС у больных сифилисом. Определено, что больные сифилисом скрытым неуточненным как ранним или поздним имеют наиболее высокий риск возникновения нейросифилиса и, как следствие, требуют наиболее тщательного обследования и серологического контроля после лечения. Предложена современная прогностическая модель поражения нервной системы при сифилисе на основании лабораторных данных (определение ИЛ-23, ИЛ-12p40, GFAP, уровня белка и плеоцитоза в ликворе).

Методология и методы диссертационного исследования. Основой методологии диссертационной работы стали данные проведенных исследований в России и за рубежом по этиологии, эпидемиологии, патогенезу, особенностям диагностики нейросифилиса. Методами настоящего исследования были следующие: анамнестический, клинический (осмотр дерматовенерологом, офтальмологом, неврологом, терапевтом), серологический (РМП, РИФ₂₀₀, ИФА, РПГА крови; РМП, РИФ_ц, ИФА, РПГА ликвора), клинический ликвора (плеоцитоз, белок), иммунологический ликвора (ИЛ-23, ИЛ-12p40, GFAP), статистический.

Положения, выносимые на защиту

1. У пациентов с нейросифилисом уровень ИЛ-23, ИЛ-12p40 и GFAP в ликворе достоверно выше в сравнении с больными сифилисом без доказанного поражения нервной системы. При этом изменения данных параметров не зависят от клинической манифестации нейросифилиса.

3. На основании исследования ИЛ-23, ИЛ-12p40, GFAP, уровня белка и плеоцитоза в ликворе предложена прогностическая модель развития нейросифилиса у больных сифилисом без специфического поражения нервной системы.

Степень достоверности. Достоверность результатов диссертации основывается на обследовании 46 пациентов с нейросифилисом и 41 больного сифилисом без доказанного поражения нервной системы, о чем свидетельствуют записи в медицинских картах стационарных больных, представленные на проверку первичной документации. Диагноз сифилиса и неросифилиса устанавливали на основании положений существующей нормативной базы. Оценка концентрации показателей ИЛ-23, ИЛ-12p40, GFAP подтверждена статистическим анализом. Достоверность различий сравниваемых групп определяли по критерию Стьюдента. Полученные в работе данные обработаны с помощью общепринятых в медико-биологических исследованиях методов системного анализа с использованием программ "Microsoft Excel", "Statistica 6.0", и SPSS 16.0, согласно современным требованиям к проведению анализа медицинских данных на персональном компьютере Acer.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на 18-м Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов (Москва, 2018), на 8-й Межрегиональной научно-практической конференции дерматовенерологов и косметологов Сибирского федерального округа (Новосибирск, 2018).

Диссертационная работа апробирована на расширенном межкафедральном заседании сотрудников кафедр дерматовенерологии и косметологии, неврологии и нейрохирургии, внутренних болезней и семейной медицины ДПО, клинической лабораторной диагностики ДПО, госпитальной терапии и эндокринологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России (Омск, 2018).

Диссертация выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, номер государственной регистрации АААА-А15-1151231100102-4.

Внедрение результатов исследования. Разработанные в диссертации положения использованы в работе БУЗ Омской области «Клинический кожно-венерологический диспансер», а также внедрены в педагогический

процесс кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 4 статьи в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 1 статья в журнале, входящем в международную реферативную базу данных и систем цитирования (Scopus).

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 127 страницах машинописного текста и состоит из введения, 3 глав, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного материала. Список литературы представлен 125 источниками, из которых 47 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 19 таблиц и 27 рисунков.

Личный вклад автора. Весь материал, представленный в диссертации, скомпонован, обработан и проанализирован лично автором. Автором лично сформулированы основные идеи и разработан дизайн исследования, самостоятельно проведен анализ результатов обследования 87 больных с сифилисом, выделены группы исследования и произведена обработка полученных материалов исследования. На основании проведенных исследований и полученных данных обоснованы выводы диссертации и даны практические рекомендации. Опубликованные работы написаны лично автором.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование одобрено локальным этическим комитетом Омского государственного медицинского университета.

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Набор клинического материала осуществлялся на базе венерологического отделения БУЗ ОО «Клинический кожно-венерологический диспансер» (БУЗОО «ККВД»). Лабораторная диагностика осуществлялась на базе

Академического центра лабораторной диагностики Омского государственного медицинского университета и клиничко-диагностической лаборатории БУЗ ОО «ККВД». Забор ликвора и неврологическое обследование пациентов проводились в венерологическом отделении БУЗОО «ККВД» кандидатом медицинских наук, ассистентом кафедры неврологии и нейрохирургии Кидаловым Максимом Борисовичем.



Рисунок 1 – Дизайн исследования

Критерии включения: возраст 18–60 лет; обязательное добровольное письменное согласие пациента или его доверенного лица на участие в

исследовании; наличие положительных серологических реакций в сыворотке крови, неврологических симптомов или сифилиса в скрытой или поздней форме, или вторичного сифилиса с проявлениями в виде алопеции и лейкодермы; заключение невролога о необходимости проведения ликвородиагностики и об отсутствии сопутствующих заболеваний, влияющих на исследование.

Критерии исключения: наличие у больного документально подтвержденного сопутствующего заболевания, способного повлиять на результат исследования; наличие в анамнезе у больного повреждения головного мозга при черепно-мозговых травмах; отсутствие готовности к сотрудничеству со стороны пациента, отказ пациента от участия в исследовании.

Для осуществления цели проводилось открытое, когортное, плацебо не контролируемое, сравнительное исследование, методом одномоментного поперечного среза.

Для проведения исследования были сформированы две группы: основная группа (n = 46), больные нейросифилисом, и группа сравнения (n = 41), больные сифилисом без поражения нервной системы.

Для установления диагноза нейросифилиса использовали клинические, эпидемиологические и лабораторные данные (серологическое и клиническое исследование ликвора: цитоз, содержание белка, РМП, РИФц, ИФА, РПГА).

В рамках проведенного исследования диагностика нейросифилиса также осуществлялась на основании комплекса критериев. В тех случаях, когда выявлялась только одна положительная реакция в ликворе (при отрицательных остальных) – диагноз нейросифилиса отклонялся. В случае обнаружения двух и более положительных реакций (особенно РМП и/или ИФА-IgM) – выставлялся диагноз нейросифилиса. Также в пользу данного диагноза рассматривались варианты с положительной РПГА (с титром более 1 : 320), плеоцитозом (более 5 клеток в 1 мм³), содержанием белка выше 0,45 г/л.

Иммунологическое обследование проводилось у всех пациентов на базе лаборатории Академического центра лабораторной диагностики Омского государственного медицинского университета. Для исследования показателей иммунного статуса больных использовали определение в спинномозговой

жидкости уровня содержания ИЛ-23, ИЛ-12p40, GFAP.

Методы статистической обработки. Полученные в работе данные обработаны с помощью общепринятых в медико-биологических исследованиях методов системного анализа с использованием программ "Microsoft Excel", "Statistica 6.0", и SPSS 16.0 согласно современным требованиям к проведению анализа медицинских данных на персональном компьютере Acer.

Системный статистический анализ результатов клинических и лабораторных исследований был проведен в несколько этапов. На первом этапе по данным о характере распределения (на основании критериев Колмогорова – Смирнова, Шапиро – Уилка) подбирали приемлемые методы параметрического или непараметрического анализа результатов к полученным количественным данным и определяли основные статистические характеристики изучаемых параметров (средняя, медиана, квартили, стандартное отклонение, стандартная ошибка).

На втором этапе при сравнении количественных признаков двух анализируемых совокупностей не связанных выборок, подчиняющихся закону нормального распределения, использовали t-критерий Стьюдента. Критерий Манна – Уитни применяли в тех случаях, когда сравниваемые совокупности не подчинялись закону нормального распределения.

Для категориальных переменных строили таблицы сопряженности и применяли Хи-квадрат (χ^2). При частотах меньше 10 использовали χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. При ожидаемых частотах меньше 5 дополнительно использовали двусторонний точный критерий Фишера.

Корреляционный анализ проводили с помощью коэффициентов Гамма (Gamma, G) и Спирмена (R). Гамма-корреляция относится к непараметрическим методам корреляционного анализа (как и ранговая корреляция по Спирмену) и позволяет оценивать взаимосвязь двух качественных или качественных и количественных признаков, когда в данных имеется много повторяющихся значений. Использовалась следующая классификация силы корреляции в зависимости от значения коэффициента корреляции G (R):

$G (R) \leq 0,25$ – слабая корреляция,

$0,25 < G(R) < 0,75$ – умеренная (средняя) корреляция,

$G \geq 0,75$ – сильная корреляция.

Для составления прогноза использовали модули программы SPSS 16.0. ROC-анализ с построением ROC-кривых и анализом площади под кривыми (AUC), что помогло выявить наиболее значимые параметры, используемые в дальнейшем для прогнозирования. ROC-анализ оценивает взаимодействие чувствительности и специфичности каждого параметра, его диагностическую ценность. Кривая ROC отражает точность прогнозирования результатов теста: чем больше она выгнута, тем точнее прогноз. Площадь под кривой ROC для теста с нулевой степенью прогнозирования равна 0,5, а для случая с максимальной степенью прогнозирования равна 1. Для расчета вероятности развития поражения нервной системы у пациентов с сифилисом создавали модель прогноза с помощью метода бинарной логистической регрессии, которая исследует зависимость дихотомических переменных от независимых переменных, имеющих любой вид шкалы. Использовали пошаговый метод включения переменных в анализ.

Критический уровень значимости статистических гипотез в данном исследовании принимался равным 0,05, так как при этом вероятность различия более 95 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для достижения вышеназванной цели и решения поставленных задач было обследовано 87 пациентов с подтвержденным диагнозом «Сифилис» (Класс А52-А53 по МКБ-10) в возрасте от 19 до 60 лет (средний возраст $(42,8 \pm 11,9)$ лет), которые были разделены на две группы: пациенты, которым был выставлен диагноз «Нейросифилис» (группа I) и пациенты без специфического поражения нервной системы (группа II). Наибольшее количество пациентов были в возрасте 39–42 года (20,7 %).

Известно, что ИЛ-23 продуцируется дендридными клетками и имеет важное значение в патогенезе развития поражения нервной системы. Дендридные клетки пациентов с поражением нервной системы продуцируют большее количество ИЛ-23, чем дендридные клетки здоровых людей. На данном этапе изменения концентрации ИЛ-23 в ликворе при различных

заболеваниях мало изучены.

В ходе исследований выявлена тенденция к увеличению концентрации ИЛ-23 у больных нейросифилисом, по сравнению с группой сравнения ($p = 0,000001$). При этом наиболее высокий уровень концентрации ИЛ-23 отмечен при асимптомном нейросифилисе. Таким образом, более высокий уровень концентрации ИЛ-23 в ликворе у больных с нейросифилисом, по сравнению с больными сифилисом без специфического поражения нервной ткани, свидетельствует о системной иммуновоспалительной реакции у больных нейросифилисом, которая могла быть инициирована внедрением возбудителя сифилиса. При этом степень выраженности этой реакции незначительно выше при асимптомном нейросифилисе, по сравнению с группой больных нейросифилисом с симптомами, как наиболее ярком и с клинической и с иммунологической точки зрения периоде нейросифилиса. Корреляционной связи между наличием клинических проявлений болезни и уровнем ИЛ-23 не выявлено ($G = 0,068$, $p = 0,66$). Эта же динамика прослеживается и в результатах нашего исследования.

Как уже было отмечено выше, ИЛ-12p40 является ключевым цитокином для усиления клеточно-опосредованного иммунного ответа и инициации эффективной противовоспалительной защиты. Кроме того, есть сведения о том, что данный цитокин может мобилизовать натуральные киллеры лимфоидных органов при развитии аутоиммунного процесса, что также вызывает большой интерес исследователей. В частности, при исследовании полиморфизма гена ИЛ-12p40 и исхода вирусного гепатита С, заболевания, связанного с Th1-типом иммунного ответа, отмечена хронизация воспалительного ответа у пациентов, являющихся носителем генотипа А/А, что, по мнению авторов, ассоциировано с более низкой продукцией ИЛ-12p40. Полиморфизм гена ИЛ-12p40 также изучался при рассеянном склерозе, однако количество исследований, посвященных этому, незначительно, а результаты их противоречивы. При исследовании концентрации данного цитокина в крови пациентов с ИМ, ИЛ-12p40 оказался наиболее чувствительным маркером тяжести коронарного и некоронарного атеросклероза.

Исходя из этого, концентрация данного цитокина при нейросифилисе

должна была быть заметно выше аналогичного показателя в группе сравнения, что и подтверждается данными проведенного исследования.

При оценке уровня ИЛ-12p40 данный показатель был на 22,1 % выше в группе больных нейросифилисом, по сравнению с группой без специфического поражения нервной системы ($p = 0,000001$), что согласуется с данными корреляционного анализа о наличии связи высокой степени между поражением нервной системы при сифилисе и уровнем ИЛ-12p40 в ликворе ($G = -0,77$, $p = 0,000001$). При этом уровень ИЛ-12p40 в подгруппе Ia был на 4,3 % выше аналогичного показателя в подгруппе Ib ($p = 0,60$), что свидетельствует о незначительных отличиях уровня данного показателя у пациентов с различными формами нейросифилиса. Это подтверждается и отсутствием корреляционной связи между наличием клинических проявлений болезни и уровнем ИЛ-12p40 ($G = 0,10$, $p = 0,52$). Известно, что степень повышения уровня ИЛ-12p40 в ликворе пациентов коррелирует с активностью воспаления в мозге и степенью демиелинизации.

Дисперсионный анализ Краскела – Уоллиса выявил наличие статистически значимых отличий уровня ИЛ-23 между подгруппами пациентов с сифилисом без специфического поражения нервной системы в зависимости от диагноза при поступлении ($H = 10,9$, $p = 0,027$). Наиболее высокий уровень ИЛ-23 отмечался у пациентов с диагнозом «Сифилис скрытый неуточненный как ранний или поздний». Корреляционный анализ выявил наличие связи средней степени между уровнем ИЛ-23 и диагнозом при поступлении ($G = 0,33$, $p = 0,011$). Дисперсионный анализ Краскела – Уоллиса и корреляционный анализ не выявили статистически значимых различий между группами и связи диагноза с уровнем ИЛ-12p40 ($G = 0,12$, $p = 0,34$). Несмотря на это, наибольший уровень ИЛ-12p40 отмечался у пациентов с диагнозом «Сифилис скрытый неуточненный как ранний или поздний».

GFAP – высокоспецифичный белок головного мозга, который не обнаружен за пределами нервной системы. Благодаря этому, GFAP может быть полезным маркером ранней диагностики (Михайлов А. С. и др., 2015). В настоящее время поли- и моноклональные антитела к GFAP используются как рутинный анализ в клиниках всего мира для подтверждения астроцитарного

происхождения опухолей нервной системы. Иммуногистохимическое определение GFAP – главный тест при исследовании степени дифференцировки и характера ее нарушений при глиальных опухолях головного мозга. Широкое использование глиального кислого протеина в неврологии и психиатрии обусловлено уникальной способностью этого белка к повышению сывороточного уровня при любой патологии, сопровождающейся нарушением целостности ГЭБ. Поэтому иммунохимический анализ GFAP используют в качестве мониторинга целостности ГЭБ при различных клинических состояниях. Отмечено существенное повышение уровня GFAP при острых воспалительных заболеваниях головного мозга, судорожном синдроме, болезни Альцгеймера и Паркинсона.

Докторами Дальневосточного государственного медицинского университета обнаружено, что концентрация GFAP в ЦСЖ больных бактериальным гнойным менингитом, находившихся в остром периоде заболевания, достоверно увеличивалась и составила ($0,8 \pm 0,07$, $p < 0,001$).

Существует ряд статей, посвященных содержанию GFAP в спинномозговой жидкости у новорожденных с перинатальным гипоксически-ишемическим поражением ЦНС. Исследователи наблюдали повышение уровня GFAP в СМЖ в первые 24–48 часов после перинатальной асфиксии. Авторы заключили, что повышение GFAP выше «критического» уровня 659 нг/мл указывает на неблагоприятный прогноз.

В ходе исследования выявлено увеличение концентрации GFAP у пациентов с нейросифилисом по сравнению с группой без специфического поражения нервной ткани ($p = 0,000001$). С помощью корреляционного анализа установлена связь сильной степени между наличием поражения нервной системы при сифилисе и уровнем GFAP в ликворе ($G = -0,96$, $p = 0,000001$). Отмечено, что у пациентов с клиническими проявлениями нейросифилиса уровень GFAP в ликворе лишь на 11,8 % выше, чем у пациентов с асимптомным течением нейросифилиса. Однако корреляционной связи между наличием клинических проявлений нейросифилиса и уровнем GFAP в ликворе не выявлено ($G = 0,17$, $p = 0,28$). Таким образом, можно сказать, что данный показатель «работает» в зависимости от наличия поражения нервной системы, а

не от наличия клинической картины, безусловно, это может быть полезно в диагностике асимптомного нейросифилиса.

Дисперсионный анализ Краскела – Уоллиса выявил наличие статистически значимых отличий уровня GFAP у пациентов с сифилисом без специфического поражения нервной системы, в зависимости от диагноза при поступлении ($N = 10,8$, $p = 0,029$). Наиболее высокий уровень GFAP также отмечался у пациентов с диагнозом «Сифилис скрытый неуточненный как ранний или поздний» ($p = 0,0019$). Учитывая аналогичный характер изменений ИЛ-23, ИЛ-12p40, можно отнести данных пациентов в группу риска развития нейросифилиса.

Всем пациентам было проведено комплексное серологическое исследование крови. У пациентов с нейросифилисом РМП чаще давала положительный результат, что подтверждается и данными корреляционного анализа о наличии связи сильной степени между результатами РМП и поражением нервной системы при сифилисе ($G = 0,72$, $p = 0,0068$). При этом среди положительных результатов в группе II преобладал слабоположительный результат (1+), а в группе I преобладали пациенты с положительным (3+) и резко положительным результатом (4+).

Реакция иммунофлюоресценции (РИФ) трактовалась как положительная у пациентов с нейросифилисом на 20,8 % чаще ($p = 0,047$) по сравнению с группой без специфического поражения нервной системы, что подтверждают и данные корреляционного анализа ($G = 0,54$, $p = 0,0035$). Статистически значимых различий по степени выраженности положительной реакции у пациентов с нейросифилисом и сифилисом без специфического поражения нервной системы установлено не было. Однако, была установлена корреляционная связь между наличием клинических проявлений при нейросифилисе и результатами РИФ ($G = 0,60$, $p = 0,011$).

Иммуноферментный анализ выявил антитела класса IgG в крови у всех обследованных пациентов. Зависимости титра антител класса IgG от поражения нервной системы и наличия клинических проявлений заболевания не обнаружено ($G = 0,17$, $p = 0,33$).

Антитела класса IgM были выявлены у 7 пациентов (15,2 %) группы I и

8 пациентов (19,5 %) группы II. Была обнаружена корреляционная взаимосвязь титра антител класса IgM и поражения нервной системы при сифилисе ($G = 0,42$, $p = 0,41$), однако зависимости уровня антител от наличия клинических проявлений нейросифилиса нет ($G = 0,27$, $p = 0,26$).

При изучении результатов реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) установлено, что положительная реакция в диапазоне (2+)–(4+) выявлена у 100 % обследуемых. В целом, у пациентов с нейросифилисом РПГА была более выражена, что подтверждается данными корреляционного анализа ($G = 0,39$, $p = 0,0025$). Среди пациентов с сифилисом без поражения нервной системы зависимости выраженности РПГА от диагноза при поступлении выявлено не было ($G = 0,24$, $p = 0,13$).

Таким образом, комплексное серологическое исследование крови пациентов с сифилисом позволило выявить особенности результатов реакций при поражении нервной системы. Установлено, что у пациентов с нейросифилисом реакция микропреципитации (РМП) чаще давала положительный результат, кроме того была выше доля пациентов с положительным (3+) и резко положительным (4+) результатом. При наличии клинических симптомов поражения нервной системы РМП была положительной в 100 % случаев. Реакция иммунофлюоресценции с цельной сывороткой (РИФ) чаще оказывалась положительной при нейросифилисе. Была положительной РПГА у всех пациентов с сифилисом, однако степень ее выраженности зависела от поражения нервной системы и наличия общих клинических проявлений заболевания. Выявленные особенности результатов данных серологических реакций крови не могут служить однозначными критериями к постановке диагноза нейросифилис. Вместе с тем, описанные выше особенности могут актуализировать внимание докторов на ряде больных.

Всем пациентам, кроме исследования крови, было проведено ликворологическое обследование согласно Федеральным клиническим рекомендациям по дерматовенерологии от 2017 года.

Реакция микропреципитации у пациентов с сифилисом без специфического поражения нервной системы была во всех случаях отрицательной, а у пациентов с нейросифилисом – в 15,2 % случаях слабо

положительной ($p = 0,0038$). Это подтверждают и данные корреляционного анализа о наличии взаимосвязи между поражением нервной системы и результатом РМП ($G = 1,0$, $p = 0,0000001$). Реакция микропреципитации в ликворе больных нейросифилисом с симптомами была положительной в 6 раз чаще, по сравнению с подгруппой больных асимптомным нейросифилисом ($p = 0,02$), что подтверждается данными корреляционного анализа о наличии связи между клиническими проявлениями нейросифилиса и результатами РМП в ликворе ($G = 0,79$, $p = 0,00022$). Полученные данные могут свидетельствовать о недостаточной чувствительности данного метода.

Реакция иммунофлюоресценции оказалась положительной в 95,7 % случаях в группе больных нейросифилисом и в 70,7 % – в группе больных сифилисом без специфического поражения нервной системы. При этом у пациентов с нейросифилисом выраженность положительной реакции была выше, чем у пациентов без специфического поражения нервной системы. Резко положительная РИФ с ликвором отмечалась только у пациентов с нейросифилисом. Корреляционный анализ подтвердил наличие связи между поражением нервной системы при сифилисе и положительными результатами РИФ с ликвором ($G = 0,80$, $p = 0,000003$). Однако корреляционной связи между наличием клинических проявлений поражения нервной системы при сифилисе и выраженности РИФ не выявлено ($G = 0,34$, $p = 0,076$).

Опираясь на полученные данные, можно подтвердить, что чувствительность и специфичность данного метода действительно занимают высокие позиции. Однако высокий процент положительных реакций в группе больных без специфического поражения нервной системы позволяет судить о том, что положительные результаты РИФ в ликворе не могут служить критерием нейросифилиса, если остальные клинические и лабораторные показатели в норме.

Иммуноферментный анализ выявил антитела класса IgG у всех пациентов группы больных нейросифилисом 100 % и у 53,7 % пациентов группы больных сифилисом без специфического поражения нервной системы ($p = 0,00001$). Корреляционный анализ выявил наличие взаимосвязи между наличием антител класса IgG в ликворе и поражением нервной системы при сифилисе ($G = 0,45$,

$p = 0,000008$). Диагностическая чувствительность данной методики приравнивается к 100 %, что и наблюдается по результатам проведенного исследования. Однако по результатам исследования группы больных без специфического поражения нервной системы можно сказать, что обнаружение антител класса IgG не является доказательством специфического поражения нервной системы.

Антитела класса IgM были выявлены в ликворе у 30,4 % группы больных нейросифилисом и 4,9 % группы больных сифилисом без специфического поражения нервной системы ($p = 0,0022$). Корреляционный анализ подтвердил наличие взаимосвязи сильной степени между титром антител класса IgM и поражением нервной системы при сифилисе ($G = 1,0$, $p = 0,0000001$). Однако не обнаружено корреляционной связи между выявлением антител класса IgM в ликворе и наличием клинических проявлений поражения нервной системы ($G = 0,38$, $p = 0,08$). Известно, крупные молекулы IgM не могут проникать через гематоэнцефалический барьер, и их обнаружение в ликворе однозначно интерпретируется как интратекальный синтез в раннюю стадию специфического процесса [27]. Ввиду короткого периода полураспада антител данного класса можно предположить, что давность течения патологического процесса у больных нейросифилисом, у которых не были выявлены антитела класса IgM, не превышает четырех лет. Таким образом, отрицательные результаты данного теста не позволяют исключить нейросифилис.

Положительная РПГА в ликворе определялась в 97,8 % случаев больных нейросифилисом и в 70,7 % случаев больных без специфического поражения нервной системы ($p = 0,0005$). Корреляционный анализ подтвердил наличие сильной связи между наличием поражения нервной системы при сифилисе и положительной РПГА в ликворе ($G = 1,0$, $p = 0,000001$). Резко положительная реакция (4+) определялась только у пациентов группы больных нейросифилисом. Однако корреляционной связи между наличием клинических проявлений нейросифилиса и результатами РПГА в ликворе не выявлено ($G = 0,048$, $p = 0,81$). Несмотря на высокую чувствительность и специфичность данного метода, он показал почти 80 % положительных реакций у больных без специфического поражения нервной системы, что не дает нам возможности

ставить диагноз, основываясь лишь на данном методе.

Подводя итоги, можно сказать, что рассмотренные выше серологические тесты по отдельности не являются абсолютно информативными, в связи с чем целесообразно использовать эти методы в комбинации.

Уровень белка в ликворе у пациентов с сифилисом без специфического поражения нервной системы колебался от 0,1 до 1,0 г/л и в среднем составлял $(0,25 \pm 0,15)$ г/л с низким коэффициентом вариации 0,022. Данный уровень белка в ликворе находится в референтной области, что является низким уровнем белка в ликворе и при других заболеваниях нервной системы. На основании этого можно судить о правильности включения пациентов в данную группу.

Установлено, что у пациентов с клиническими проявлениями нейросифилиса уровень белка в ликворе колебался от 0,20 до 3,0 г/л и в среднем составлял $(1,15 \pm 1,09)$ г/л. У пациентов с асимптомным течением нейросифилиса уровень белка в ликворе колебался от 0,10 до 3,0 г/л и в среднем составлял $(0,46 \pm 0,70)$ г/л. Таким образом, у пациентов подгруппы Ib уровень белка в ликворе в 2,2 раза превышал показатель в подгруппе Ia ($p = 0,021$). Для нейросифилиса характерна легкая и умеренная гиперпротеинария. Таким образом, уровень белка в ликворе не является специфическим показателем в диагностике нейросифилиса, и данные результаты могли бы быть получены и при других поражениях нервной системы.

Однако корреляционный анализ выявил наличие связи средней степени между клиническими проявлениями нейросифилиса и уровнем белка в ликворе ($G = 0,51$, $p = 0,0014$). Это может быть обусловлено появлением белка в ликворе в результате демиелинизации и деструкции нервной ткани, которые приводят непосредственно к появлению клинической картины при нейросифилисе.

Доля пациентов, у которых обнаружено от 6 до 10 клеточных элементов в 1 мм^3 ликвора, в группе I в 5,3 раза превышала аналогичный показатель группы II ($p = 0,0084$). У 6 пациентов с нейросифилисом зарегистрировано от 11 до 200 клеток лимфоцитарного ряда в 1 мм^3 ликвора, в то время как у пациентов без поражения нервной системы только у одного пациента определялось 11 клеток

в 1 мм^3 ($p = 0,11$). Корреляционный анализ выявил связь сильной степени между наличием поражения нервной системы и высоким количеством клеток лимфоцитарного ряда в ликворе ($G = 0,68$, $p = 0,000001$). Исходя из полученных данных видно, что для нейросифилиса характерен легкий и умеренный плеоцитоз, что отличает данное поражение нервной системы от других заболеваний, для которых характерен выраженный, резко выраженный и массивный плеоцитоз. Для пациентов с нейросифилисом умеренное увеличение количества клеток лимфоцитарного ряда в ликворе может быть обусловлено развитием воспалительных процессов оболочек вещества мозга.

Подводя итог вышеизложенному, можно заключить, что потребности практического здравоохранения в отношении методов лабораторных исследований на сифилис обуславливают необходимость разработки высокоинформативных методов, пригодных для решения сложных диагностических ситуаций, например, поражения нервной системы бледной трепонемой при отсутствии клинических проявлений. Выявленные отклонения в результатах серологического и цитологического исследований ликвора, а также показателей ИЛ-23, ИЛ-12p40 и GFAP в комплексе могут свидетельствовать о повышенном риске формирования нейросифилиса.

Обращают на себя внимание следующие результаты обследования пациентов. Достоверно доказано, что при уровне белка в ликворе более $0,315 \text{ г/л}$, GFAP более $0,839 \text{ нг/мл}$, ИЛ-23 – более $207,8 \text{ пг/мл}$, ИЛ-12p40 более $35,6 \text{ пг/мл}$ и цитозе более $3,5$ клеточных элементов в 1 мм^3 существует высокая вероятность поражения нервной системы при сифилисе.

Таким образом, представленная прогностическая модель может с точностью до $96,6 \%$ предсказать вероятность поражения нервной системы при сифилисе.

Несомненно, что алгоритмы диагностики нейросифилиса должны носить комплексный характер и базироваться на всем арсенале клинико-лабораторных данных. Неотъемлемой частью диагностики нейросифилиса должно быть исследование цитокинов и специфических маркеров повреждения нервной ткани как наиболее специфических и достоверных, особенно при отсутствии клинической симптоматики со стороны ЦНС.

По результатам исследования прогнозируется успешное использование перечисленных методических подходов при решении диагностических задач при нейросифилисе.

ВЫВОДЫ

1. При наличии клинических симптомов поражения нервной системы реакция микропреципитации с кровью была положительной в 100 % случаев. У пациентов с нейросифилисом реакция микропреципитации в основном была с положительным (3+) и резко положительным (4+) результатом. Антитела IgG определялись в 100 % случаев, а антитела IgM определялись лишь у 30 % пациентов с нейросифилисом. Реакция иммунофлюоресценции была положительной в 100 % случаев при нейросифилисе. Реакция пассивной гемагглютинации была положительной у всех пациентов с сифилисом, однако степень ее выраженности не зависела от поражения нервной системы и наличия общих клинических проявлений заболевания.

2. Среди пациентов с нейросифилисом при наличии клинических проявлений заболевания реакция иммунофлюоресценции с ликвором положительна в 100 % случаев, при асимптомном течении – в 93,8 %. Реакция микропреципитации с ликвором у всех пациентов с сифилисом без специфического поражения нервной системы была отрицательна. Иммуноферментный анализ выявил антитела класса IgG в ликворе у всех пациентов с нейросифилисом и у половины пациентов без специфического поражения нервной системы. Положительная реакция пассивной гемагглютинации с ликвором определялась у 97,8 % пациентов группы с нейросифилисом и у 70,7 % пациентов без специфического поражения нервной системы.

3. Установлено, что уровень ИЛ-23 и ИЛ-12p40 в ликворе в полтора, а GFAP в ликворе в четыре раза выше у пациентов с нейросифилисом, чем у пациентов без специфического поражения нервной системы. При этом зависимости изменения данных показателей от наличия или отсутствия клинических проявлений заболевания обнаружено не было.

4. В диагностике поражения нервной системы у больного сифилисом может использоваться прогностическая модель, построенная на основании

лабораторных данных (исследование ИЛ-23, ИЛ-12p40, GFAP, уровня белка и плеоцитоза в ликворе). Риск возникновения специфического поражения нервной системы является высоким при уровне белка в ликворе более 0,315 г/л, GFAP более 1,71 нг/мл, ИЛ-23 – более 224,5 пг/мл, ИЛ-12p40 более 37,5 пг/мл и цитозе более 4,5 клеточных элементов в 1 мм³.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. На основании проведенных исследований больных сифилисом скрытым неуточненным как ранний или поздний, следует относить к группе наибольшего риска по возникновению нейросифилиса, что требует проведения в кратчайшие сроки исследования ликвора и неврологического статуса.

2. При обнаружении высокого уровня ИЛ-23, ИЛ-12p40, а так же GFAP в ликворе пациентам рекомендовано его повторное исследование через 6 месяцев в рамках клинико-серологического контроля. В случае очередного выявления высоких значений данных маркеров пациентам должны быть предложены методы нейровизуализации (магниторезонансной томографии, компьютерной томографии).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Эпидемиология нейросифилиса в Омске и Омской области / Ю. А. Новиков [и др.; в том числе **Е. Н. Кравченко**] // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2016. – № 2. – С. 98–99.

2. Новиков, Ю. А. Клинико-эпидемиологический анализ заболеваемости нейросифилисом в Омской области / Ю. А. Новиков, В. А. Охлопков, **Е. Н. Кравченко** // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2017. – Т. 20. – № 3. – С. 184–187.

3. Маркеры повреждения нервной ткани в ликворе больных различными формами нейросифилиса / Ю. А. Новиков [и др.; в том числе **Е. Н. Кравченко**] // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2018. – Т. 21, №1. – С. 61–64.

4. Интерлейкины-23, -12p40 как маркеры повреждения нервной ткани при нейросифилисе / Ю. А. Новиков [и др.; в том числе **Е. Н. Кравченко**] // **Иммунология**. – 2018. – Т. 39, № 5-6. – С. 287–289.

5. Особенности течения нейросифилиса на современном этапе. Описание клинического случая / Ю. А. Новиков [и др.; в том числе **Е. Н. Кравченко**] // **Омский психиатрический журнал**. – 2016. – № 2 (8). – С. 17–20.

6. Новиков, Ю. А. Эпидемиология нейросифилиса в Омской области / Ю. А. Новиков, В. А. Охлопков, **Е. Н. Кравченко** // **Consilium Medicum. Дерматология**. – 2016. – № 3. – С. 26.

7. Эпидемиологические аспекты нейросифилиса в Омске и Омской области / Ю. А. Новиков [и др.; в том числе **Е. Н. Кравченко**] // 16-й съезд дерматовенерологов : сборник материалов. – Москва, 2016. – С. 27–28.

8. Эпидемиология нейросифилиса в Омске и Омской области / **Е. Н. Кравченко** [и др.] // XXXIII Рахмановские чтения : сборник тезисов научно-практической конференции. – Москва, 2016. – С. 59–61.