



Структуры спинномозговой жидкости в диагностике и оценке эффективности лечения больных нейросифилисом

Шатохина С.Н.¹ • Кузнецова Н.А.²

Актуальность. В последние годы наблюдается увеличение числа скрытых и поздних форм нейросифилиса. В результате широкого применения антибиотиков произошло значительное снижение чувствительности серологических и общеклинических тестов, используемых для диагностики этого заболевания. Нередко возникают ситуации, в которых нельзя исключить или подтвердить инвазию бледной трепонемы в структуры нервной системы. Отсутствие объективных критериев диагностики нейросифилиса препятствует своевременному назначению адекватной терапии, направленной на предупреждение развития необратимых нарушений в нервной системе и гибели пациента. **Цель** – поиск новых диагностических признаков повреждения структур мозга бледной трепонемой у больных с перенесенным ранее сифилисом на основе новой технологии исследования твердофазных структур спинномозговой жидкости. **Материал и методы.** В исследовании включен 131 пациент, ранее получавший лечение по поводу разных форм сифилиса. Помимо общепринятого клинико-лабораторного обследования, включая серологическое исследование сыворотки крови различными методами, всем пациентам проведено общеклиническое и серологическое исследование спинномозговой жидкости (СМЖ). По результатам

обследования всех пациентов разделили на три группы: 1-ю группу (n=27) составили пациенты с диагнозом раннего асимптомного нейросифилиса, 2-ю (n=46) – позднего менинговазкулярного нейросифилиса, 3-ю (n=58) – без установленного диагноза нейросифилиса, но с резкоположительными/положительными серологическими показателями в сыворотке крови, отрицательными значениями серологических показателей в СМЖ, отрицательным VDRL-тестом. Использован инновационный метод краевой дегидратации биологических жидкостей. Метод входит в состав диагностической технологии «Литос-система» и позволяет изучить структуры СМЖ систем «липид – вода», «липид – белок – вода» при их переводе из жидкокристаллического состояния в твердое. Эти структуры – анизоморфоны – видны только при микроскопии в поляризованном свете. Контрольную группу составили 24 пациента неврологического и нейрохирургического стационаров с серозным менингитом (8 человек), а также гнойным менингитом и менингоэнцефалитом (16 человек) бактериальной этиологии. **Результаты.** Морфологическим признаком деструктивного процесса в центральной нервной системе больных нейросифилисом были аморфные овалы, которые у здоровых людей в СМЖ отсутствуют. У пациентов 1-й группы аморфные

овалы обнаруживались в небольшом количестве в составе базисных анизоморфонов – дендритов. У больных из 2-й группы определялось множество отдельно лежащих аморфных овалов в виде шаров, а также базисных анизоморфонов – дендритов, пространства в которых были плотно заполнены шарами из аморфных овалов. На основании этих признаков 2 пациентам из 3-й группы был диагностирован ранний асимптомный нейросифилис, а 5 – поздний менинговазкулярный. При динамическом наблюдении 22 больных 2-й группы положительные сдвиги в сторону нормализации анизоморфонов СМЖ отмечались только через 6 месяцев после дополнительного курса специфического лечения. **Заключение.** Исследование состава анизоморфонов СМЖ больных нейросифилисом методом краевой дегидратации может служить дополнительным критерием диагностики, позволяющим определить раннюю или позднюю формы нейросифилиса, признаки санации центральной нервной системы и оценить эффективность проводимой терапии.

Ключевые слова: нейросифилис, спинномозговая жидкость, серологические тесты, метод краевой дегидратации биологических жидкостей, эффективность лечения

doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-3-345-350

Проблема своевременной диагностики нейросифилиса становится актуальной в связи с увеличением числа скрытых и поздних его форм [1]. Классическая картина сифилиса XIX века и его тяжелых последствий, описанная в советской литературе еще в 1950–60-е годы [2], в наши дни сменилась стертостью не только клинических, но и диагностических признаков. Это обусловлено широким использованием антибактериальных

препаратов и адаптацией бледной трепонемы к новым условиям обитания в организме человека [3, 4, 5]. Известно, что классическая картина диагностики нейросифилиса базируется на высоких значениях серологических реакций в сыворотке крови и спинномозговой жидкости (СМЖ), а при общеклиническом исследовании СМЖ она характеризуется плеоцитозом (1000 клеток и более в 1 мкл) и протеинарией свыше 0,45 г/л [6]. Однако сегодня, несмотря на



Шатохина Светлана Николаевна – д-р мед. наук, профессор, руководитель клиничко-диагностической лаборатории¹
✉ 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2–8, Российская Федерация. Тел.: +7 (495) 681 15 85. E-mail: sv_n@list.ru

Кузнецова Нина Александровна – заведующая клиничко-диагностической лабораторией²

создание широкой базы диагностических методов, включающих серологические показатели СМЖ, диагностика нейросифилиса в трети случаев затруднена, что объясняется недостаточной чувствительностью существующих тестов. Утратили информативность результаты общеклинического исследования СМЖ: с 2000-х гг. не наблюдается повышенных показателей протеинарии, как и плеоцитоза (число клеток редко поднимается выше уровня 4–6 в 1 мкл). Возникают ситуации, в которых нельзя исключить или подтвердить инвазию бледной трепонемы в структуры нервной системы. Решающее значение в диагностике нейросифилиса, а значит, и в своевременном назначении адекватной терапии для предупреждения необратимых органических нарушений в нервной системе приобретает опыт клинициста.

В этой связи нашей целью был поиск новых диагностических признаков повреждения структур мозга бледной трепонемой у больных с перенесенным ранее сифилисом. Для этого были изучены особенности структур СМЖ с помощью новой диагностической технологии «Литос-система», суть которой заключается в получении информации молекулярного уровня при фазовом переводе биологической жидкости в твердое состояние [7].

Материал и методы

В период с мая 2013 г. по июнь 2015 г. обследован 131 пациент (86 мужчин в возрасте от 21 до 77 лет и 45 женщин в возрасте от 26 до 62 лет), получавший в предыдущие годы лечение по поводу разных форм сифилиса (ранний скрытый, первичный, вторичный рецидивный). Исследование проводилось на базе ГБУЗ МО «Московский областной клинический кожно-венерологический диспансер» в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации и было одобрено на заседании независимого комитета по этике при ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» от 11 сентября 2014 г.

Помимо общепринятого клиничко-лабораторного обследования, включая серологическое исследование сыворотки крови методами РПР (реакция преципитации), РПГА (реакция пассивной геммагглютинации), РИФ (реакция иммунофлуоресценции), ИФА (иммуноферментный анализ с определением иммуноглобулина (Ig) классов М, G, IgM + IgG), у всех пациентов проводились общеклинические (реакция Панди, определение

концентрации общего белка, количество клеток и цитограмма) и серологические (VDRL – Venereal Disease Research Laboratory, РПГА, РИФ с цельным ликвором, ИФА-IgG) исследования СМЖ.

По результатам обследования больные сифилисом были разделены на три группы. Первую группу составили 27 пациентов с установленным диагнозом «ранний асимптомный нейросифилис» и резкоположительными специфическими серологическими показателями как в сыворотке крови, так и в СМЖ (в большинстве случаев отрицательный VDRL-тест), при количестве клеток от 2 до 22 в 1 мкл и с нормальной концентрацией белка в СМЖ. Во 2-ю группу вошли 46 больных с резкоположительными серологическими показателями в сыворотке крови, слабоположительными результатами серологических тестов в СМЖ при отрицательном VDRL-тесте и с показателями СМЖ при ее общеклиническом исследовании в пределах нормы. С учетом клинической картины 32 пациентам из этой группы был поставлен диагноз «поздний менинговаскулярный нейросифилис». Остальным 14 пациентам нейросифилис не диагностирован, но рекомендовано проведение дополнительного специфического лечения с последующим клиничко-серологическим контролем. В 3-ю группу включили 58 пациентов, которым диагноз нейросифилиса не был установлен (они имели резкоположительные/положительные серологические показатели в сыворотке крови, отрицательные значения серологических показателей в СМЖ, отрицательный VDRL-тест, показатели СМЖ по данным ее общеклинического исследования в пределах нормы).

Контрольную группу составили 24 больных неврологического и нейрохирургического стационаров с серозным менингитом (n = 8), а также с гнойным менингитом и менингоэнцефалитом (n = 16) с отрицательными серологическими показателями на сифилис при исследовании сыворотки крови, СМЖ и с наличием умеренных патологических сдвигов при общеклиническом исследовании СМЖ.

В качестве инновационного метода исследования СМЖ была использована краевая дегидратация биологических жидкостей. Метод входит в состав диагностической технологии «Литос-система», которая имеет разрешение Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития РФ для применения в медицине (Разрешение ФС № 2009/155 от 15 июня 2009 г.). Он заключался в замедленном фазовом переходе жидкокристаллических структур (систем «липид – вода»,

¹ ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация

² ГБУЗ МО «Московский областной клинический кожно-венерологический диспансер»; 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2–2, Российская Федерация



«липид – белок – вода») в кристаллическое состояние. Сформированные кристаллические структуры (сферолиты, дендриты, веерные и др.) выявляются только в поляризованном свете за счет их способности к анизотропии (двулучепреломление), в связи с чем эти структуры получили название «анизоморфоны» [8]. Метод краевой дегидратации биологических жидкостей осуществлялся с помощью специальных стеклянных тест-карт диагностического набора «Литос-система». В 4 ячейки тест-карты наносилось по 20 мкл СМЖ, затем ячейки накрывались покровными стеклами. Дегидратация проходила в течение 3–4 суток. Испарение воды происходило медленно, через зазор между поверхностью тест-карты и покровного стекла при температуре 25 °С и относительной влажности 55–60%. Изучение анизоморфонов проводилось с помощью поляризационного микроскопа DM2500 фирмы «Leica».

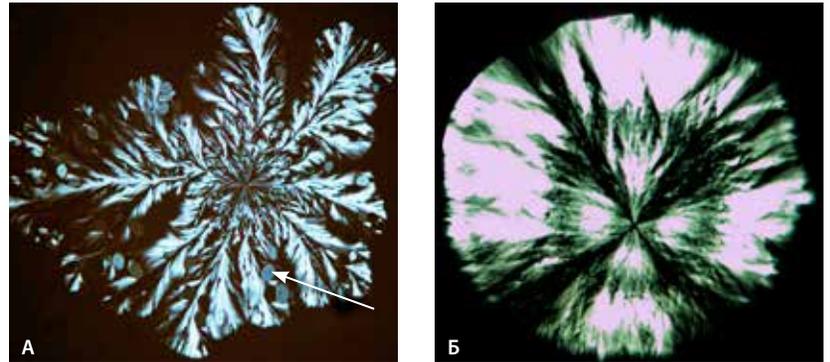


Рис. 1. Анизоморфоны спинномозговой жидкости: **А** – больного ранним асимптомным нейросифилисом, в структуре имеются аморфные овалы (стрелка); **Б** – здорового человека для сравнения, аморфные овалы отсутствуют, $\times 400$

Результаты и обсуждение

У всех 27 больных ранним асимптомным нейросифилисом (группа 1) анизоморфоны содержали

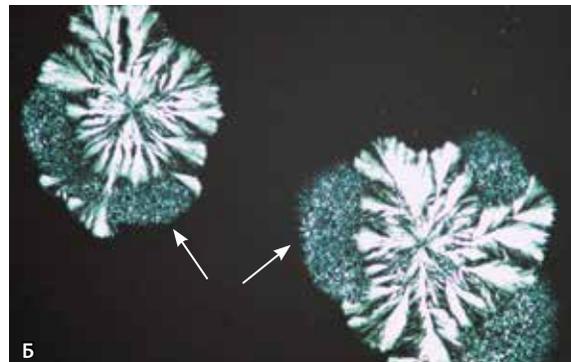
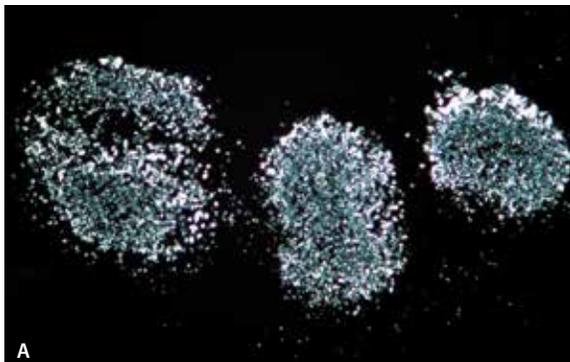


Рис. 2. Анизоморфоны спинномозговой жидкости больных поздним менингovasкулярным нейросифилисом: **А** – отдельные шары из аморфных гранул, $\times 400$; **Б** – шаровидные скопления в анизоморфонах – «хамстер-эффект» (стрелки), $\times 200$

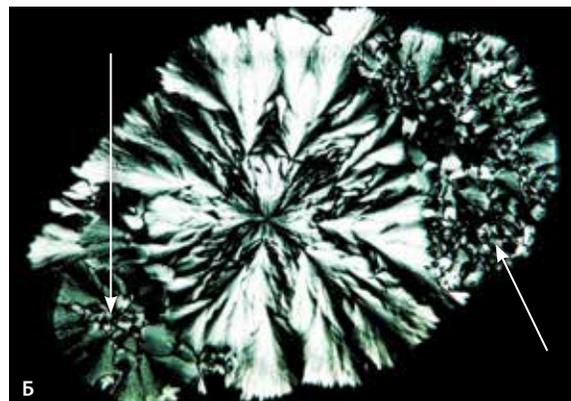
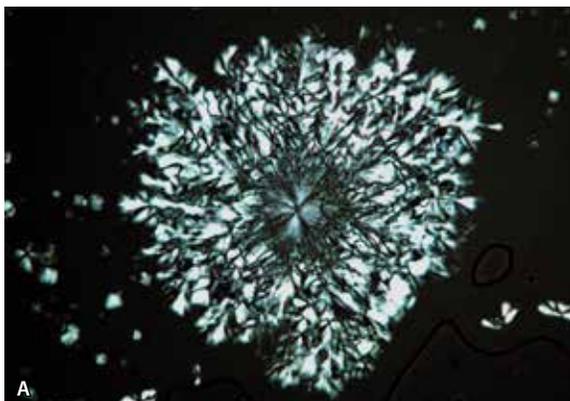


Рис. 3. Анизоморфоны спинномозговой жидкости больных с резкоположительными/положительными серологическими показателями в сыворотке крови и отрицательными результатами серологических и общеклинических исследований спинномозговой жидкости в ликворе: **А** – формирующийся анизоморф из скоплений мелких сферолитов с лучистым центром, $\times 200$; **Б** – анизоморф с нагромождением чешуек (стрелки), $\times 400$

в своей структуре мелкие аморфные овалы, которые в норме отсутствуют (рис. 1).

Во 2-й группе в 100% случаев ($n=46$) определялись поля с множеством отдельно лежащих аморфных овалов в виде гранулированных шаров и анизоморфонов с импрегнацией в их структуру гранулированных шаров, так называемый «хамстер-эффект» (от англ. hamster – хомяк) (рис. 2).

Из 58 пациентов 3-й группы в 2 случаях наблюдали картину раннего асимптомного течения нейросифилиса (третий год после заражения

сифилисом), а в 5 – позднего менинговаскулярного нейросифилиса. У остальных пациентов ($n=51$) анизоморфоны СМЖ были представлены особыми структурами: в виде формирующегося анизоморфона из скоплений мелких сферолитов с лучистым центром, отдельно лежащих чешуек или нагромождений чешуек на цельный анизоморфон (рис. 3). Аморфные овалы ни в одном случае не определялись. В 6 случаях на фоне вышеописанных структур регистрировали единичные анизоморфоны нормы (см. рис. 1Б).

Таким образом, у 7 больных с резкоположительными или положительными серологическими показателями при исследовании сыворотки крови на сифилис, отрицательными результатами серологических тестов СМЖ и нормальными показателями общеклинических исследований СМЖ наблюдали явный деструктивный процесс в центральной нервной системе, что позволило назначить этим пациентам дополнительное специфическое лечение.

Изучение анизоморфонов в СМЖ 24 больных группы сравнения показало: при серозных менингитах картина соответствовала изменениям, характерным для больных ранним асимптомным нейросифилисом (наличие аморфных овалов в сферолитах), а при гнойных менингитах – характерным для позднего менинговаскулярного нейросифилиса (аморфные овалы вне сферолитов, множество гранулированных шаров). Следовательно, обнаружение аморфных овалов в СМЖ является специфичным для деструктивного процесса в центральной нервной системе, вызванного патогенными микроорганизмами. Вместе с тем у больных менингитом в результатах общеклинического исследования СМЖ выявлены следующие отличительные признаки: выраженная клиническая картина менингита, повышенное содержание в ликворе общего белка (0,9–11 г/л) и лейкоцитоз (60–1000 клеток в 1 мкл).

При наблюдении 22 больных спустя 6 месяцев после первого курса лечения по схеме терапии нейросифилиса сохранилась позитивность серологических тестов в сыворотке крови и СМЖ, как и признаки деструктивного процесса по составу анизоморфонов в СМЖ. Только через 6 месяцев после дополнительного курса лечения нейросифилиса у всех больных отмечали положительные сдвиги в клинической картине заболевания (восстановление речи, улучшение памяти, исчезновение головной боли и головокружения, улучшение общего состояния), а также в составе анизоморфонов СМЖ. На рис. 4 наглядно представлен

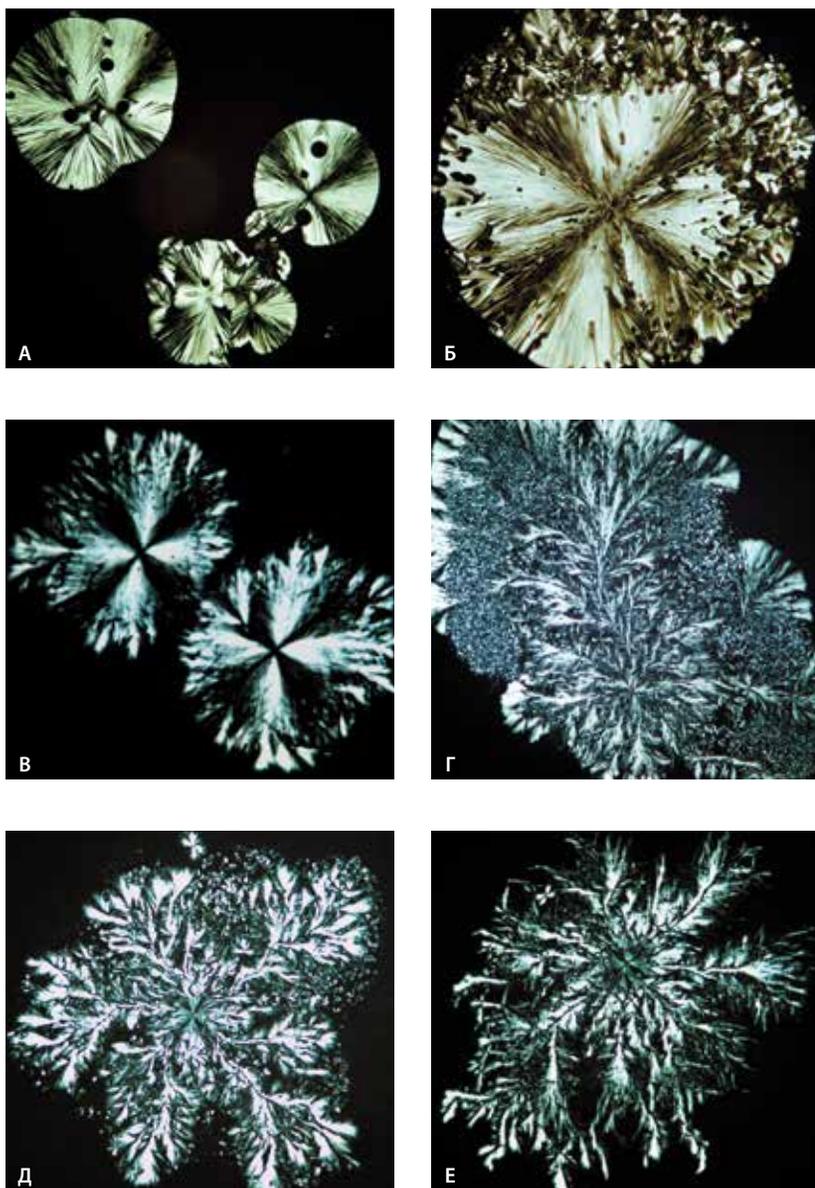


Рис. 4. Анизоморфоны спинномозговой жидкости больных нейросифилисом после проведения курсов эффективной терапии: **А** ($\times 100$), **Б** ($\times 400$), **В** ($\times 200$) – переходные формы к анизоморфонам нормы; **Г**, **Д**, **Е** – переход от «хамстер-эффекта» через «россыпной» анизоморфон к анизоморфону с отсутствием аморфных овалов, $\times 200$



результат эффективной терапии больных нейросифилисом: «освобожденные» от шаров анизоморфоны, переход от шаров в кристаллические структуры, чешуйки и анизоморфоны нормы. Следует отметить, что анизоморфоны, изображенные на рис. 4, имели сходство с аналогичными структурами пациентов 3-й группы (n=51), которым диагноз нейросифилиса не был установлен. По всей вероятности, у этих больных отмечалась санация деструктивного процесса в центральной нервной системе, вызванного бледной трепонемой.

Проведенные исследования показали, что развитие защитной реакции на бледную трепонему со стороны центральной нервной системы вызывает воспаление в мягких оболочках головного и спинного мозга с участием различных цитокинов [5, 6]. Токсичные продукты мигрировавших лейкоцитов, фагоцитированные частицы и продукты гуморального иммунитета усугубляют повреждение фосфолипидных мембран клеток, что вызывает микроваскулярные нарушения и повреждение гемато-энцефалического барьера. Все эти патологические субстраты, представляющие собой системы «липид – вода», «липид – белок – вода», поступают в СМЖ. В процессе краевой дегидратации из них формируются особые структуры, которые впервые нам удалось наблюдать при морфологическом исследовании СМЖ с помощью диагностической технологии «Литосистема». При этом продукты деструкции тканей, присутствующие в ликворе, формируют кристалло-аморфные образования в результате

стяжения сходных структур по принципу тропности. Эти образования в виде аморфных овалов, гранулированных шаров не являются специфичными для нейросифилиса и указывают на деструктивные процессы в тканях центральной нервной системы.

Вместе с тем в морфологической картине ликвора мы обнаружили отличительные признаки, позволяющие дифференцировать ранние формы нейросифилиса от поздних. При ранних формах (до 5 лет после заражения сифилисом) морфологическая картина СМЖ представлена сферолитами с включенными в них аморфными овалами. В случае поздних форм в морфологической картине СМЖ кроме аморфных овалов обнаруживаются гранулированные шары, как встроенные в сферолиты, так и лежащие отдельно на фоне россыпи гранул.

Изменение состава анизоморфонов в результате эффективного лечения больных нейросифилисом показало исчезновение продуктов деструкции ткани мозга (аморфные овалы, шары) с последующим преобразованием их в кристаллические структуры.

Вывод

Исследование состава анизоморфонов СМЖ больных нейросифилисом может служить дополнительным критерием диагностики, позволяющим определить раннюю или позднюю формы нейросифилиса, признаки санации центральной нервной системы и оценить эффективность проводимой терапии. ©

Литература

1. Лукьянов АМ. Нейросифилис. Современные аспекты клиники, диагностики, терапии. Минск: Парадокс; 2009. 392 с.
2. Робустов ГВ. Поражения нервной системы при раннем и позднем сифилисе. В: Ведров НС. Сифилис (клиника и лечение). М.: Медгиз; 1950. с. 101–27.
3. Лосева ОК, Важбин ЛБ, Шувалова ТМ, Залевская ОВ, Юдакова ВМ, Устьянцев ЮЮ. Нейросифилис в практике психиатра. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2011;111(12):77–82.
4. Лосева ОК, Тактамышева ЭШ. Современный нейросифилис: клиника, диагностика, лечение. Русский медицинский журнал. 1998;6(15):981–4.
5. Милич МВ. Эволюция сифилиса. М.: Медицина; 1987. 160 с.
6. Красносельских ТВ. Нейросифилис. В: Соколовский ЕВ, ред. Суставной синдром в практике дерматовенеролога. Нейросифилис. СПб.: Сотис; 2001. с. 72–270.
7. Шабалин ВН, Шатохина СН. Морфология биологических жидкостей человека. М.: Триада; 2001. 303 с.
8. Шатохина СН, Шабалин ВН. Атлас структур неклоточных тканей человека в норме и патологии. Т. 2. Морфологические структуры сыворотки крови. М.: Триада; 2013. 238 с.

References

1. Luk'yanov AM. Neyrosifilis. Sovremennye aspekty kliniki, diagnostiki, terapii [Neurosyphilis. Current issues of clinical manifestations, diagnostic and therapy]. Minsk: Paradox; 2009. 392 p. (in Russian).
2. Robustov GV. Porazheniya nervnoy sistemy pri rannem i pozdnem sifilise [Nervous system abnormalities in early and late syphilis]. In: Vedrov NS. Sifilis (klinika i lechenie) [Syphilis (clinical manifestation and treatment)]. Moscow: Medgiz; 1950. p. 101–27 (in Russian).
3. Loseva OK, Vazhbin LB, Shuvalova TM, Zalevskaya OV, Yudakova VM, Ust'yantsev YuYu. Neyrosifilis v praktike psikhiatra [Neurosyphilis in the psychiatric practice]. Zhurnal nevrologii i psikhiiatrii imeni S.S. Korsakova. 2011;111(12):77–82 (in Russian).
4. Loseva OK, Taktamysheva ESh. Sovremennyy neyrosifilis: klinika, diagnostika, lechenie [The state-of-the-art of neurosyphilis: clinical manifestations, diagnostics and treatment]. Russkiy



- meditsinskiy zhurnal [Russian Medical Journal]. 1998;6(15):981–4 (in Russian).
5. Milich MV. Evolyutsiya sifilisa [Evolution of syphilis]. Moscow: Meditsina; 1987. 160 p. (in Russian).
6. Krasnosel'skikh TV. Neyrosifilis [Neurosyphilis]. In: Sokolovskiy EV, editor. Sustavnoy sindrom v praktike dermatovenerologa.

- Neyrosifilis [The articular syndrome in dermatovenerology practice. Neurosyphilis]. Saint Petersburg: Sotis; 2001. p. 72–270 (in Russian).
7. Shabalin VN, Shatokhina SN. Morfologiya biologicheskikh zhidkostey cheloveka [The morphology of human biological fluids]. Moscow: Triada; 2001. 303 p. (in Russian).

8. Shatokhina SN, Shabalin VN. Atlas struktur nekletochnykh tkaney cheloveka v norme i patologii [Atlas of non-cellular human tissues in health and disease]. Vol. 2. Morfologicheskie struktury syvorotki krovi [Serum morphological structures]. Moscow: Triada; 2013. 238 p. (in Russian).

The structures of cerebrospinal fluid in diagnostics and treatment efficacy assessment in patient with neurosyphilis

Shatokhina S.N.¹ • Kuznetsova N.A.²

Background: In the last years, there has been an increase in cases of latent and late neurosyphilis. Due to the wide implementation of antibiotics, there is a significant reduction in sensitivity of serological and general clinical tests used for diagnosis of this disease. The situations are not uncommon when it is not possible to exclude or confirm the invasion of *Treponema pallidum* into the nervous system structures. Absence of objective diagnostic criteria for neurosyphilis hints the timely administration of an adequate treatment aimed at prevention of an irreversible derangement of the nervous system and to the patient death. **Aim:** To search for new diagnostic symptoms of an injury to the brain structures caused by *Treponema pallidum* in patients with previous syphilis, based on a new technology of assessment of solid phase structures of cerebrospinal fluid. **Materials and methods:** One hundred and thirty one patient that had been treated for various forms of syphilis were recruited to this study. In addition to generally accepted clinical and laboratory assessments, including various serological methods, all patients underwent clinical and serological assessment of cerebrospinal fluid (CSF). According to the results of this assessment, all patients were categorized into three groups. Group 1 (n=27) consisted of patients with early asymptomatic neurosyphilis, group 2 (n=46), with late meningovascular neurosyphilis, group 3 (n=58), those without diagnosed neurosyphilis but with strong positive serum tests, negative CSF serology and negative VDRL test. An innovative method of marginal dehydration of biological fluids was used. The method is included into the Lithos-system diagnostic technology and allows for evaluation of the structures of CSF systems

“lipid – water”, “lipid – protein – water” after their transition from liquid crystal phase into a solid phase. These structures called anisomorphons are seen only at polarized microscopy. The control group comprised 24 patients from in-patient department of neurology and neurosurgery with serous meningitis (n=8), as well as with purulent meningitis and meningoenkephalitis (n=16) of bacterial etiology. **Results:** The morphological sign of a destructive process in central nervous system of neurosyphilis patients was represented by amorphous ovals that were absent in normal CSF. In group 1 patients, the amorphous ovals were found in small numbers within basic anisomorphons – dendrites. In group 2 patients, multiple separated amorphous ovals were detected as spheres, as well as basic anisomorphons – dendrites, fully filled with spheres made of amorphous ovals. Based on these characteristics, in 2 patients from group 3, early asymptomatic neurosyphilis was diagnosed, and in 5 patients, late meningovascular syphilis. At follow-up of 22 patients from group 2, positive trend towards normalization of CSF anisomorphons were seen only after 6 months of additional specific treatment. **Conclusion:** Assessment of CSF anisomorphon contents in patients with neurosyphilis by means of marginal dehydration may serve as an additional diagnostic criterion of an early or late phase of neurosyphilis, help decide on the sanitation of the central nervous system and assess the treatment efficacy.

Key words: neurosyphilis, cerebrospinal fluid, serological tests, marginal dehydration of biological fluids, treatment efficacy

doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-3-345-350

Shatokhina Svetlana N. – MD, PhD, Professor, Head of Clinical Diagnostic Laboratory¹
✉ 61/2–8 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation. Tel.: +7 (495) 681 15 85.
E-mail: sv_n@list.ru

Kuznetsova Nina A. – MD, Head of Clinical Diagnostic Laboratory²

¹ Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI); 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation

² Moscow Regional Clinical Skin-Venereal Dispensary; 61/2–2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation