

УДК 616.832-004.2-07:612.017.1

## ДИСБАЛАНС ЦИТОКИНОВ КАК ОДИН ИЗ ПРОГНОСТИЧЕСКИХ КРИТЕРИЕВ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

С.Е. Гуляева<sup>1</sup>, Л.А. Иванушко<sup>2</sup>, А.В. Овчинников<sup>1</sup>, Н.А. Беседнова<sup>1</sup>, М.А. Короткова<sup>1</sup>, В.А. Шаркова<sup>1</sup>, О.И. Фомина<sup>1</sup>, А.А. Овчинникова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Владивостокский государственный медицинский университет (690950 г. Владивосток, пр-т Острякова, 2),

<sup>2</sup> НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН (690087 г. Владивосток, ул. Сельская, 1)

*Ключевые слова:* рассеянный склероз, тип течения, цитокины.

Доказательство принадлежности рассеянного склероза (РС) к аутоиммунным заболеваниям предопределяет зависимость скорости его прогрессирования от дисбаланса цитокинов. Исследованы уровни и взаимоотношения про- и противовоспалительных цитокинов в периоды обострения и ремиссии заболевания у 19 больных в возрасте от 20 до 58 лет с разными типами течения РС. Показано, что при РС не только наблюдается значительное увеличение концентрации интерлейкинов 1 $\beta$  и 6 с достижением максимальных величин в период обострения при низких уровнях антагониста рецептора интерлейкина-1 и фактора некроза опухоли- $\alpha$ , но и зависимость показателей от стадии болезни. Критериями прогноза РС становятся два основных показателя: индекс «интерлейкин-1 $\beta$ / антагонист рецептора интерлейкина-1» и концентрация фактора некроза опухоли- $\alpha$ .

Рассеянный склероз (РС) остается одной из основных социально-значимых патологий нервной системы. Несмотря на многочисленные исследования, посвященные данному заболеванию, вопросы его происхождения и критерии темпов прогрессирования остаются нераскрытыми. В настоящее время сформировано представление о РС как об аутоиммунном процессе, который возникает в организме с генетически детерминированным дефектом иммунного ответа и отличается поражением миелина.

Предполагается, что причиной демиелинизации становится активация Т-клеток, расположенных вне нервной системы. Эти активированные Т-клетки при дефекте гематоэнцефалического барьера приобретают способность проникать через него и активировать клетки микроглии, образуя тримолекулярный комплекс [1, 2]. Его составляют рецептор активированной Т-клетки и микроглия или глия с молекулами второго класса главного комплекса гистосовместимости на антигенпрезентирующих клетках. В основе процесса демиелинизации лежат три основных механизма, которые взаимно усиливают друг друга: воспалительная реакция, нейродегенерация с аномальной ремиелинизацией и аксональное повреждение (первичное или вторичное).

Несмотря на взаимосвязь всех трех механизмов, роль индикатора в каждом конкретном случае может принадлежать одному из них, и именно он определяет тип течения и тяжесть патологии в дальнейшем [5, 8]. Поэтому за последние годы появились высказывания о возможности различных вариантов самого РС,

одни из которых развиваются вследствие первичного аксонального повреждения, другие – из-за преобладания нейродегенеративных процессов, третьи – под действием воспалительных реакций [3, 5, 6, 8].

Воспалительные реакции, с одной стороны, усиливают проницаемость гематоэнцефалического барьера, а с другой, – усиливаются под действием провоспалительных цитокинов, продуцируемых проникающими в нервную систему аутореактивными Т-клетками. Провоспалительные цитокины индуцируют развитие транскрипционной каналопатии и расстройство кальциевого гомеостаза [4]. Так, цитокины превращаются в инициатор аутоагрессии. У лиц с генетически детерминированным дефектом иммунного ответа в ходе вовлечения в патологию гуморального звена иммунитета и активации системы комплемента возникает целый каскад патобиохимических и иммунологических реакций, результатом которого становится активация кальцийзависимой протеазы, что формирует деградацию цитоскелета и олигодендроглиопатию. В случаях с первично-прогрессирующим течением РС в качестве запускающего механизма принято рассматривать первичное поражение олигодендроцитов, а демиелинизацию оценивать как вторичный феномен. Однако оба этих процесса приводят к возникновению дефектного трофического влияния олигодендроцитов, нарушая аксонально-глиальные и миелин-аксональные взаимодействия. При этом регулятором тяжести течения РС всегда становится степень аксонального повреждения и скорость его прогрессирования.

Имеются доказательства того, что восстановление проводимости по нейрону и регресс симптомов при РС возникают при реорганизации аксональной мембраны за счет образования в ней скоплений натриевых ионных каналов [9, 10]. Нарушение их функций под влиянием цитокинов, провоспалительных медиаторов и антител блокирует этот процесс [7]. Поэтому баланс концентрации цитокинов в крови больных РС на разных этапах его течения может быть одним из критериев прогноза заболевания.

Целью настоящего исследования явилась разработка прогностических критериев РС на основе анализа концентраций провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в крови больных с разными типами течения и на разных этапах заболевания.

**Материал и методы.** Обследовано 19 больных РС в возрасте от 20 до 58 лет с давностью анамнеза до 10

Гуляева Серафима Ефимовна – д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой неврологии и нейрохирургии с курсом детской неврологии и медицинской генетики ВГМУ; тел.: 8 (4232) 45-27-07

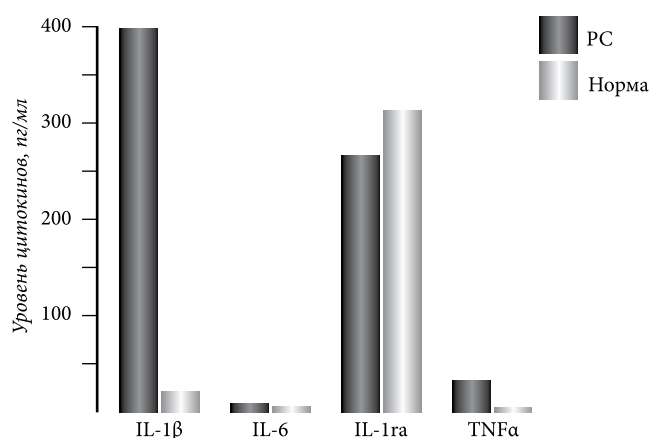


Рис. 1. Концентрация цитокинов в сыворотке крови больных РС и здоровых доноров (норма).

лет. В зависимости от типа течения были выделены две группы: 1-ю составили 10 пациентов с ремиттирующим типом течения без перехода во вторичное прогрессирование (4 из них в течение 4 лет получали бетаферон – подгруппа 1а, 6 других – копаксон – подгруппа 1б). 2-я группа включала 9 больных с вторично-прогрессирующим типом течения РС, которые не получали иммуномодуляторов.

В каждом случае исследование производилось дважды: в период обострения заболевания и на этапе ремиссии (через 1 месяц после обострения). Помимо детального клинико-неврологического, нейроофтальмологического обследования, магнитно-резонансной томографии, электроэнцефалографии, электронейромиографии и нейропсихологического исследования, определялись уровни интерлейкинов (IL) 1β и 6, антагониста рецептора интерлейкина-1 (IL-1ra), фактора некроза опухоли-α (TNFα) методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем ООО «Цитокин». В качестве контроля использовали стандарты для соответствующих возрастных категорий.

Статистическая обработка полученных данных проводилась и использованием метода Манна–Уитни, критериев Пирсона и Уилкоксона, не ограниченных условиями нормального распределения.

**Результаты исследования.** Независимо от этапа обследования и типа течения РС у больных в крови было обнаружено значительное повышение уровня IL-1β и в меньшей степени – IL-6 и TNFα при незначительном снижении показателей IL-1ra (рис. 1). Взаимоотношение же концентраций различных цитокинов зависело от типа течения и этапа заболевания. Так, уровень IL-1β достоверно повышался на всех этапах болезни (в десятки раз выше нормы), характеризовался противоположной направленностью в динамике у больных 1-й и 2-й групп и различными взаимоотношениями с другими цитокинами (рис. 2).

У больных 1-й группы концентрация IL-1β в острый период достоверно превышала данные контроля в 16 раз, снижаясь на этапе ремиссии. Уровень IL-6 характеризовался подобной же динамикой, достоверно превышая в острый период показатели нормы в 1,5

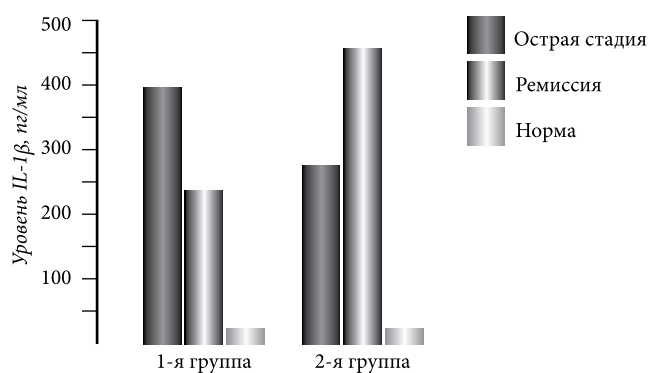


Рис. 2. Динамика уровня IL-1β в сыворотке крови больных РС.

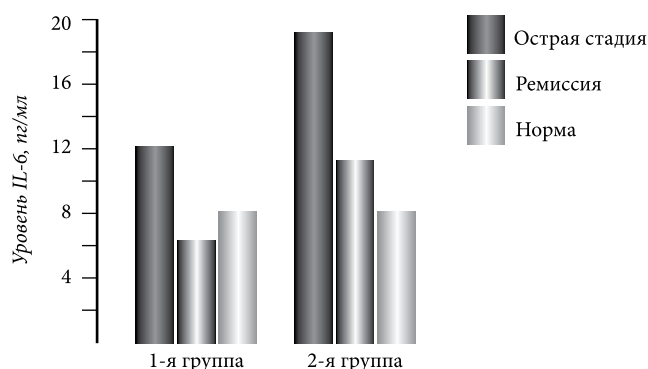


Рис. 3. Динамика уровня IL-6 в сыворотке крови больных РС.

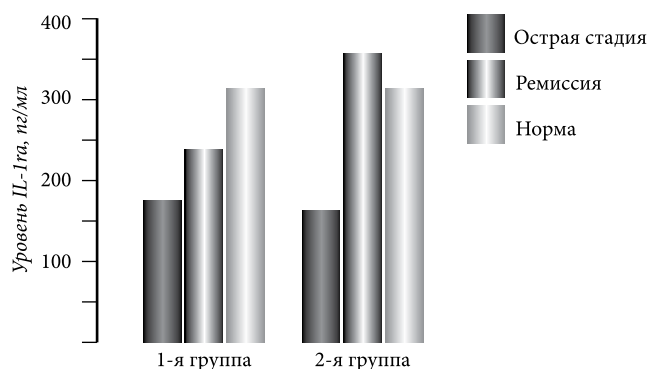


Рис. 4. Динамика уровня IL-1ra в сыворотке крови больных РС.

раза и снижаясь на этапе ремиссии (рис. 3). Концентрации IL-1ra и TNFα в остром периоде не достигали уровней контроля (хотя их величины превышали подобные показатели во 2-й группе), во время ремиссии наблюдалось их увеличение (рис. 4, 5). Изменения концентрации IL-1ra не отличались достоверностью, и его уровень не достигал контрольных показателей, а уровень TNFα только приближался к норме.

У больных 2-й группы уровень концентрации IL-1β в остром периоде, сохраняя достоверно высокие показатели, был в 1,4 раза ниже, чем в 1-й группе, но на этапе ремиссии вместо снижения повышался в 2 раза, превосходя норму в 18 раз. Концентрация IL-6 в острый период РС, как и в 1-й группе, превышала нормальные показатели в 1,5 раза, но на этапе ремиссии ее снижения не отмечалось. Что же касается IL-1ra и TNFα, то в остром периоде их показатели достоверно не отличались от показателей контроля и оказывались ниже, чем в 1-й группе, а на этапе ремиссии в отличие

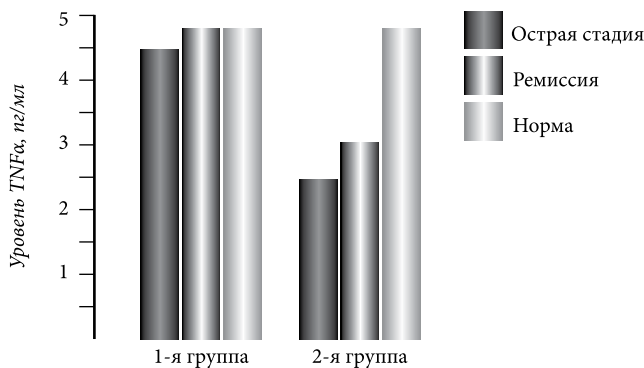


Рис. 5. Динамика уровня TNFα в сыворотке крови больных РС.

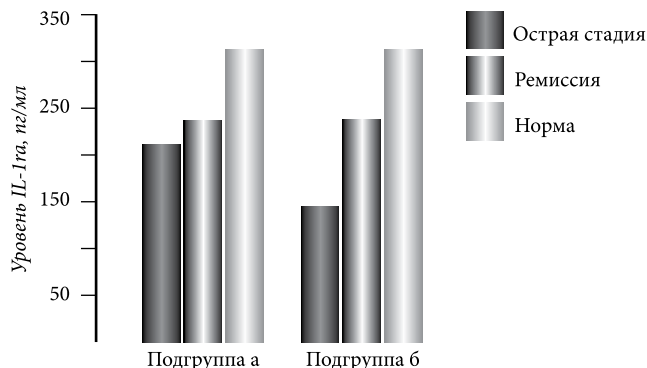


Рис. 8. Динамика уровня IL-1ra в сыворотке крови больных с ремиттирующим течением РС.

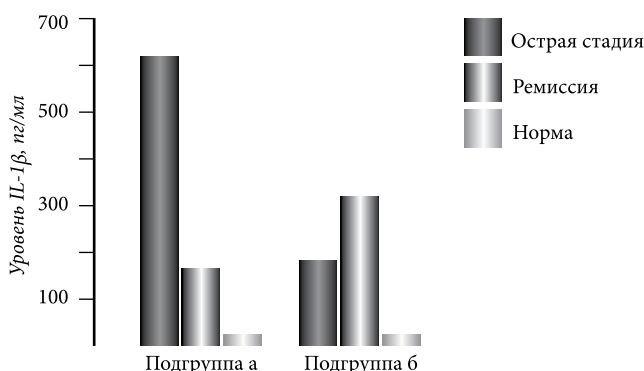


Рис. 6. Динамика уровня IL-1β в сыворотке крови больных с ремиттирующим течением РС.

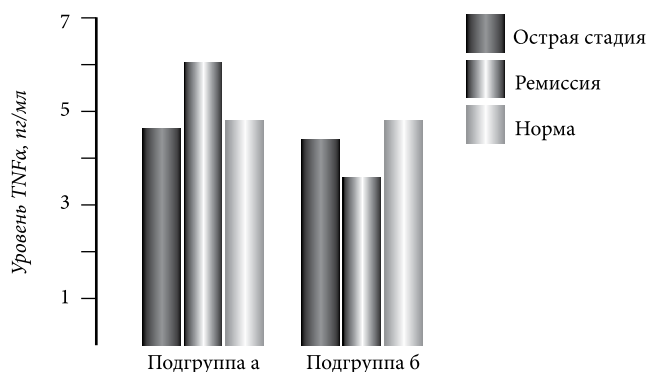


Рис. 9. Динамика уровня TNFα в сыворотке крови больных с ремиттирующим течением РС.

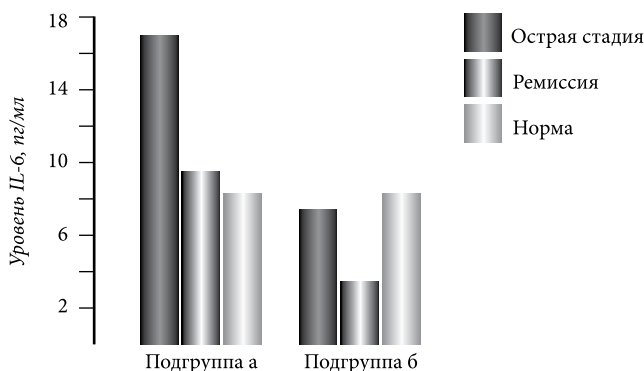


Рис. 7. Динамика уровня IL-6 в сыворотке крови больных с ремиттирующим течением РС.

от 1-й группы здесь возникала противоположная диссоциация: концентрация IL-1ra возрастала в 2 раза и превышала показатели контроля, а концентрация TNFα оставалась на прежнем уровне (в 1,6 раза ниже нормы).

Динамика индекса IL-1β/IL-1ra у больных 1-й группы отличалась значительными колебаниями: от 2,9 до 1,1 в остром периоде и на этапе ремиссии. У пациентов 2-й группы параметры этого индекса характеризовались торпидностью: от 1,7 до 1,3 соответственно.

Поскольку больные 1-й группы получали иммуномодулирующую терапию, то анализу были подвергнуты различия в динамике уровней цитокинов и их взаимоотношений в подгруппах 1а и 1б. Так, у больных, получавших бетаферон, уровни IL-1β и IL-6 отличались значительными колебаниями и зависели от этапа болезни. Они достигали предельных величин в остром периоде и снижались на этапе ремиссии (рис. 6, 7). Уровень

IL-1ra при этом сохранял стабильность и не достигал контрольных величин даже во время ремиссии (рис. 8). Концентрация TNFα в остром периоде была ниже нормы, а на этапе ремиссии возрастала в 1,3 раза, уже превышая контрольные показатели (рис. 9). Индекс IL-1β/IL-1ra отличался значительными колебаниями с резким снижением (до 0,7) к периоду ремиссии, что коррелировало с регрессом неврологических симптомов: во всех наблюдениях частота обострений снизилась в 2 раза и только у одного больного сохранилась микросимптоматика к исходу 1-го месяца после обострения.

У больных подгруппы 1б, принимавших копаксон, концентрации IL-1β и IL-6 как в период обострения, так и на этапе ремиссии оказались значительно ниже, чем у больных подгруппы 1а, но были достоверно выше контрольных величин. Так, концентрация IL-1β превышала норму в 7,3 и в 12,7 раза, а IL-6 – в 1,1 и 2,4 раза соответственно. Уровни IL-1ra и TNFα не достигали контрольных значений ни в остром периоде, ни на этапе ремиссии. Индекс IL-1β/IL-1ra отличался стабильностью и имел минимальную дистанцию между показателями острого периода и периода ремиссии: 1,2 и 1,3 соответственно.

Сопоставление баланса уровней цитокинов и их взаимоотношений с клиническими проявлениями патологии у больных подгруппы 1б показало, что, несмотря на благоприятное течение РС при лечении копаксоном (во всех наблюдениях возник полный регресс неврологических симптомов к исходу 1-го месяца после обострения и за 4-летний период лечения

частота обострений уменьшилась на 70%), не было обнаружено резких колебаний в динамике концентраций различных цитокинов и их взаимоотношений на разных этапах заболевания.

**Обсуждение полученных данных.** Высокие уровни IL-1 $\beta$  и IL-6, стимулирующие образование в надпочечниках глюкокортикостероидов в остром периоде РС, следует расценить как компенсаторную реакцию организма. Снижение концентрации IL-1ra во время ремиссии, очевидно, отражает степень регресса неврологической симптоматики у больных 1-й группы (особенно при лечении бетафероном).

Подъем уровней IL-1 $\beta$  на этапе ремиссии у больных с вторично-прогрессирующим типом течения РС отражает задержку регуляции компенсаторных возможностей организма. Резкое снижение концентрации медиатора хронического воспаления IL-6 у больных 1-й группы во время ремиссии (особенно при лечении копаксоном) следует расценить как благоприятный прогностический признак, тогда как задержка в снижении уровня IL-6 у больных с вторично-прогрессирующим типом течения РС становится показателем неблагоприятного прогноза.

Тенденция к увеличению концентрации IL-1ra, который, связываясь со специфическими клеточными рецепторами, блокирует передачу внутриклеточного сигнала, свидетельствует о перспективе усиления локального противовоспалительного механизма. Однако его достаточные уровни прослеживались на этапах ремиссии только у больных с вторично-прогрессирующим типом течения РС, что, очевидно, свидетельствовало о формировании иммунологической толерантности. В то же время увеличение концентрации IL-1ra на этапе ремиссии у больных 1-й группы, получавших бетаферон, с одной стороны, может указывать на формирование иммунного ответа и расцениваться как благоприятный признак, с другой – превращаться в один из показателей отрицательного воздействия на иммунную систему, так как бетаферон сам стимулирует выработку антител.

## Выводы

1. У больных РС наблюдается значительное увеличение концентрации провоспалительных цитокинов, ухудшающих нейроиммуноэндокринные взаимодействия и активирующих хроническое воспаление.

2. Период обострения РС характеризуется максимальной продукцией IL-1 $\beta$  при низкой выработке IL-1ra и TNF $\alpha$ .

3. Этап ремиссии РС отличается падением уровней IL-1 $\beta$  и IL-6 при снижении и приближении показателей TNF $\alpha$  к норме только у больных, не имеющих тенденции к прогрессированию заболевания.

4. Вторично-прогрессирующий тип течения РС на этапе ремиссии характеризуется ростом уровня IL-1 $\beta$  при отсутствии тенденции к активному снижению концентрации IL-6.

5. Наиболее демонстративно прогноз отражает динамика индекса IL-1 $\beta$ /IL-1ra: его падение на этапе

ремиссии ниже 1,0 наблюдалось в случаях с отчетливым регрессом патологических неврологических симптомов и при лечении бетафероном.

6. При анализе показателей динамики цитокинов в случаях использования иммуномодулирующих медикаментозных препаратов следует учитывать механизм действия каждого из них. Поэтому, несмотря на положительный клинический эффект при лечении копаксоном, отсутствие значительных изменений концентрации цитокинов можно объяснить отсутствием действия препарата на медиаторы.

## Литература

1. Гусев Е.И., Демина Т.Л., Бойко А. Н. *Рассеянный склероз. М.: Нефть и газ, 1997. 463 с.*
2. *Рассеянный склероз. Избранные вопросы теории и практики / под ред. И.А. Завалишина, В.И. Головкина. М.: ЭльфИПП, 2000. 640 с.*
3. Hohnfeld R. *Biotechnological agents for the immunotherapy of multiple sclerosis. Principles, problems and perspectives [Invited review] // Brain. 1997. Vol. 120. P. 865–916.*
4. Kornek B., Storch M., Bauer J. et al. *Distribution of calcium channel subunit in dystrophic axons in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis // Brain. 2001. Vol. 124. P. 1114–1124.*
5. Lucchinetti C., Brueck W., Rodriguez M., Lassmann H. *Distinct patterns of multiple sclerosis pathology indicates heterogeneity in pathogenesis // Brain Pathol. 1996. Vol. 6. P. 259–274.*
6. Rieckmann P., Maurer M. *Anti-inflammatory strategies to prevent axonal injury in multiple sclerosis // Curr. Opin. Neurol. 2002. Vol. 15. P. 361–370.*
7. Smith K.J., Hall S.M. *Factors directly affecting impulse transmission in inflammatory demyelinating disease: recent advances in our understanding // Curr. Opin. Neurol. 2001. Vol. 14. P. 289–298.*
8. Trapp B.D., Ransohoff R.M., Fisher E., Rudick R.A. *Neurodegeneration in multiple sclerosis: relationship to neurological disability // Neurosci. 1999. Vol. 5. P. 48–57.*
9. Waxman S.G. *Loss and restoration of impulse conduction in disorders of myelin // Handbook of multiple sclerosis / ed. S. D. Cook. Marcel Dekker Inc., 2001. P. 257–288.*
10. Waxman S.D. *Transcriptional channelopathies: an emerging class of disorders // Neurosci. 2001. Vol. 2. P. 652–659.*

Поступила в редакцию 19.02.2010.

## CYTOKINE IMBALANCE AS ONE OF PROGNOSTIC CRITERIA FOR DISSEMINATED SCLEROSIS COURSE

S.E. Gulyaeva<sup>1</sup>, L.A. Ivanushko<sup>2</sup>, A.V. Ovchinnikova<sup>1</sup>, N.A. Besednova<sup>1</sup>, M.A. Korotkova<sup>1</sup>, V.A. Sharkova<sup>1</sup>, O.I. Fomina<sup>1</sup>, A.A. Ovchinnikova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Vladivostok State Medical University (2 Ostryakova Av. Vladivostok 690950 Russia), Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Siberian Branch of RAMS (1 Selskaya St. Vladivostok 690087 Russia)

**Summary** – The fact that the disseminated sclerosis belongs to autoimmune diseases predominates dependence of its progression rate on the cytokine imbalance. The authors study levels of relation between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines during aggravation of the disease and in remission in 19 patients aged 20 to 58 with various types of the disseminated sclerosis course. As reported, disseminated sclerosis is characterised by considerable increase in 1 $\beta$  and 6 interleukin concentrations. It reaches its maximum values during aggravation under low levels of interleukin-1 receptor antagonist and tumour necrosis factor- $\alpha$ . There is a dependence of these indices on the disease stage. The prognostic criteria for disseminated sclerosis are ‘interleukin-1 $\beta$ /interleukin-1 receptor antagonist’ and tumour necrosis factor- $\alpha$  concentration.

**Key words:** disseminated sclerosis, course type, cytokines.

Pacific Medical Journal, 2010, No. 4, p. 55–58.