Молекулы адгезии и провоспалительные цитокины в спинномозговой жидкости больных рассеянным склерозом

Ельчанинова С.А.¹, Смагина И.В.², Сидоренко В.А.¹, Личенко Ю.Н.²,
Поповцева А.В.¹, Федянин А.С.²

Adhesion molecules and proinflammatory cytokines in cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients

Yelchaninova S.A., Smagina I.V., Sidorenko V.A., Lichenko Yu.N.,
Popovtseva A.V., Fedyanin A.S.

¹ Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул

² Алтайская краевая клиническая больница, г. Барнаул

© Ельчанинова С.А., Смагина И.В., Сидоренко В.А. и др.

В ликворе 30 больных рассеянным склерозом с ремиттирующим типом течения концентрации молекул адгезии (sPECAM-1, sVCAM-1) и фактора некроза опухоли- α (но не интерлейкина- 1β) были выше в период обострения по сравнению с периодом ремиссии. Предполагается, что эти изменения отражают активность патогенетически значимых процессов в ткани мозга при рассеянном склерозе.

Ключевые слова: рассеянный склероз, молекулы межклеточной адгезии, цитокины.

In liquor 30 multiple sclerosis patients with remittent kind of clinical course the concentration of cell-cell adhesion molecules (sPECAM-1, sVCAM-1) and tumor necrosis factor (TNF) α , not interleukin- 1β , was higher during the period of exacerbation compared to the period of remission. These changes are supposed to display the activity of pathogenesis important processes multiple sclerosis in cerebral tissue of multiple sclerosis patients.

Key words: multiple sclerosis, cell-cell adhesion molecules, cytokines.

УДК 616.832-004.2-003.282:576.524

Введение

Рассеянный склероз (РС) – это аутоиммунное заболевание, характеризующееся многоочаговой воспалительной демиелинизацией центральной нервной системы (ЦНС) [1]. Связывание аутореактивных Т-клеток и макрофагов с эндотелиальными клетками и последующая их миграция через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) являются одним из начальных этапов инициации воспаления в головном мозге [16, 25]. Этот этап опосредуется молекулами межклеточной адгезии на мембране активированных эндотелиоцитов, в частности тромбоцитарно-эндотелиальной молекулой адгезии 1-го типа (PE-

CAM-1, CD31) и молекулой адгезии сосудистого эндотелия 1-го типа (VCAM-1) [15, 21, 24, 28]. Экспрессия этих молекул эндотелиоцитами, так же как и последующая миграция лимфоцитов через ГЭБ, стимулируется интерлейкином- 1β (IL- 1β) и фактором некроза опухоли- α (TNF α) [5, 19, 27]. Показано, что IL- 1β и TNF α продуцируются не только макрофагами, периваскулярной микроглией и астроцитами в очагах патологического процесса при РС, но и лейкоцитами, проникающими через ГЭБ в ткань мозга [27]. Эффекты этих цитокинов ведут к повышению проницаемости ГЭБ для лейкоцитов и других компонентов крови [12, 17, 20].

Рядом исследователей сообщалось о том, что в крови больных РС повышена концентрация некоторых вовлеченных в патогенез провоспалительных цитокинов и растворимых форм адгезивных молекул [7, 10, 11, 22]. Показаны различия профилей этих сигнальных молекул в крови в зависимости от активности РС и варианта его течения [8, 9, 14]. В то же время имеются лишь отдельные и во многом противоречивые данные об изменениях в содержании этих молекул в спинномозговой жидкости (СМЖ) [4, 13, 26].

В связи с вышесказанным целью исследования явилась оценка динамики провоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF α), а также растворимых форм молекул адгезии (sPECAM-1, sVCAM-1) в ликворе больных РС в период обострения и ремиссии.

Материал и методы

В проспективном исследовании приняли участие 30 пациентов (9 мужчин, 21 женщина) с достоверным РС по критериям MacDonald [6] с ремиттирующим типом течения. Магнитно-резонансную томографию головного мозга проводили на высокопольном магнитном томографе Impact (Siemens-Magnetom, Япония) с напряженностью магнитного поля 1 Тл. Исследования проводили с использованием стандартных T₂- и T₁-изображений, а также с применением режима TIRM. Для внутривенного контрастирования использовали препарат «Омнискан» фирмы Nycomed (Норвегия) в стандартной дозе 0,2 мл/кг массы тела.

Включение больных в исследование проводили в стадии обострения РС. Критериями исключения были предшествующие включению в исследование прием препаратов интерферона, глатирамера ацетата, облучение всего организма или лимфоидной ткани, лечение стволовыми клетками, ауто- или аллотрансплантация костного мозга, аутоиммунные заболевания соединительной ткани, эпилепсия, психические расстройства, включая тяжелую депрессию. Степень инвалидизации составляла от 0 до 5,5 балла по Expanded Disability Status Scale (EDSS). Продолжительность болезни составляла в среднем

2,8 года (от 1 года до 10 лет). У 25 пациентов было одно обострение в год и у 5 человек – два обострения в год. Средний возраст пациентов 35,6 года (от 21 года до 52 лет).

Обследование проводили в стадии обострения до начала терапии и в стадии стойкой ремиссии при отсутствии фармакотерапии на протяжении последних 6 мес. В супернатанте СМЖ, забранной при люмбальной пункции, методом твердофазного иммуноферментного анализа определяли sPECAM-1 (CD31), sVCAM-1 с тест-системами фирмы Bender MedSystems (США), IL-1 β , TNF α с тест-системами фирмы Biosource Europe S.A. (Бельгия). Оценку цитоза и дифференциальный подсчет лейкоцитов проводили при стандартном клиническом анализе СМЖ [2].

Статистический анализ данных выполнен с использованием программы Statistica 6. Распределение всех представленных в статье переменных соответствовало нормальному распределению (вычисленная величина λ -критерия Колмогорова-Смирнова и (или) критерия χ^2 не превышала критического значения при уровне значимости $p < 0,05$). В связи с этим для дальнейшего анализа были избраны параметрические статистики. Множественные парные сравнения средних значений проводили по критерию Ньюмена-Кейлса. Корреляционную зависимость между показателями оценивали по коэффициенту Пирсона. Результаты исследования представлены в виде выборочного среднего M с указанием стандартного квадратичного отклонения SD .

Результаты и обсуждение

Исследования показали, что при обострении РС в СМЖ повышен уровень sPECAM-1 и sVCAM-1 (таблица). Это согласуется с данными других исследований, в которых в СМЖ больных РС обнаружены отсутствующие в норме растворимые формы мембранных компонентов активированного эндотелия [18].

Концентрация молекул адгезии и воспалительных цитокинов в спинномозговой жидкости больных РС в периоды обострения и ремиссии ($M \pm SD$)

Активность РС	sPECAM-1, нг/мл	sVCAM-1, нг/мл	IL-1 β , пг/мл	TNF α , пг/мл
---------------	--------------------	-------------------	-------------------------	-------------------------

Экспериментальные и клинические исследования

Обострение (30 пациентов)	3,7 $\pm$ 0,9	20,5 $\pm$ 8,1	11,9 $\pm$ 5,3	12,8 $\pm$ 5,2
Ремиссия (30 пациентов)	1,4 $\pm$ 0,5 $p < 0,001$	7,9 $\pm$ 4,6 $p < 0,001$	8,6 $\pm$ 3,7 –	4,2 $\pm$ 3,1 $p < 0,001$

Примечание. p – уровень статистической значимости различий концентраций в период обострения и ремиссии.

Повышенный уровень адгезивных молекул сочетался с более высокой по сравнению с периодом ремиссии концентрацией TNF α и значимо не измененным уровнем IL-1 β (таблица). Выявлена положительная корреляция между содержанием в СМЖ лимфоцитов и TNF α ($r = 0,61$; $p < 0,001$), что, вероятно, отражает известную зависимость иммунно-воспалительных процессов в ЦНС от продукции этого фактора роста при РС [23]. Необходимо отметить, что плеоцитоз в период обострения был слабым ((11,3 $\pm$ 1,8) млн клеток на 1 л (кл/л)) и отсутствовал в период ремиссии ((1,8 $\pm$ 0,2) млн кл/л). При этом доля лимфоцитов в лейкограмме ликвора при обострении варьировала от 58 до 100%. Эти изменения в показателях клинического анализа ликвора характерны для РС [2].

Выявленная положительная корреляция между концентрацией TNF α и концентрацией sVCAM-1 ($r = 0,34$; $p < 0,05$) согласуется с представлениями о патогенетических связях активации (повреждения) эндотелия ГЭБ с активностью воспаления в тканях головного мозга при РС [1, 3].

Заключение

Концентрация молекул межклеточной адгезии sPECAM-1 (CD31), sVCAM-1, а также уровень TNF α в ликворе больных с ремиттирующим типом течения РС повышены при обострении по сравнению с периодом ремиссии. Вероятно, активность заболевания связана с разной степенью выраженности патогенетически значимых изменений в ткани мозга, индикаторами которых могут быть исследованные показатели СМЖ. Представляется перспективным использование мониторинга этих индикаторов как одного из параметров оценки эффективности иммуномо-

дулирующей и иммуносупрессивной терапии РС.

Литература

1. Гусев Е.И., Завалишин И.А., Бойко А.Н. Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания. М.: Миклош, 2004. 540 с.
2. Миронова И.И., Романова Л.А., Долгов В.В. Общеклинические исследования: моча, кал, ликвор, эякулят. М.; Тверь: Триада, 2005. 206 с.
3. Brian T.H., Thomas P.D. The blood-brain barrier. Neurovascular unit in health and disease // Pharmacol. Rev. 2005. V. 57. P. 173–185.
4. Calabresi P.A., Pelfrey C.M., Tranquill L.R. et al. VLA-4 expression on peripheral blood lymphocytes is downregulated after treatment of multiple sclerosis with interferon beta // Neurology. 1997. V. 49. P. 1111–1116.
5. Cures J.H., Meis J. F., Opa S.M. et al. (1997) A primer on cytokines: sources, receptor effects and inducers // Clin. Microbiol. Rev. V. 10. P. 742–780.
6. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the «McDonald Criteria» / Polman C.H., Reingold S.C., Massimo Filippi G.E. et al. Published Online: Nov. 10. 2005. 10:41AM. DOI: 10.1002/ana.20703.
7. Droogan A.G., McMillan S.A., Douglas J.P. et al. Serum and cerebrospinal fluid levels of soluble adhesion molecules in multiple sclerosis: predominant intrathecal release of vascular cell adhesion molecule 1 // J. Neuroimmunol. 1996. V. 64. P. 185–191.
8. Duran I., Ehling R., Gneiss C. et al. Immunological profile of patients with primary progressive multiple sclerosis: expression of adhesion molecules // Brain. 1999. V. 122. P. 2297–2307.
9. Elovaara I., Ukkonen M., Leppakynna M. et al. Adhesion molecules in multiple sclerosis relation to subtypes of disease and methylprednisolone therapy // Mdarch. Neurol. 2000. V. 57. P. 546–551.
10. Giovannoni G., Lai M., Thorpe J. et al. Longitudinal study of soluble adhesion molecules in multiple sclerosis: correlation with gadolinium enhanced magnetic resonance imaging // Neurology. 1997. V. 48. P. 1557–1565.
11. Hartung H.P., Reiners K., Archelos J.J. et al. Circulating adhesion molecules and tumor necrosis factor receptor in multiple sclerosis: correlation with magnetic resonance imaging // Ann. Neurol. 1995. V. 38. P. 186–193.
12. Kim K.S., Wass C.A., Cross A.S. et al. Modulation of blood-brain barrier permeability by tumor necrosis factor in the rat // Lymphokine Cytokine Res. 1992. V. 11. P. 293–298.
13. Kraus J., Oschmann P., Engelhard B. et al. Soluble and cell surface ICAM-1 as markers for disease activity in multiple

- sclerosis // Acta Neurol. Scand. 1998. V. 98. P. 102–109.
14. Kuenz B., Lutterotti A., Khalil M. et al. Links Plasma levels of soluble adhesion molecules sPECAM-1, sP-selectin and sE-selectin are associated with relapsing-remitting disease course of multiple sclerosis // J. Neuroimmunol. 2005. V. 167. P. 143–149.
15. Lassmann H., Rossler K., Zimprich F., Vass K. Expression of adhesion molecules and histocompatibility antigens at the blood-brain barrier // Brain Pathol. 1991. V. 1. P. 115–123.
16. Lassmann H., Vass K. Are current immunological concepts of multiple sclerosis reflected by the immunopathology of its lesions? // Springer Semin. Immunopathol. 1995. V. 17. P. 77–87.
17. Minagar A., Alexander J.S. Blood-brain barrier disruption in multiple sclerosis // Multiple Sclerosis. 2003. V. 9. P. 540–549.
18. Minagar A., Jy W., Jimenez J.J. et al. Elevated plasma endothelial microparticles in multiple sclerosis // Neurology. 2001. V. 56. P. 1319–1324.
19. Olsson T. Cytokines in neuroinflammatory disease: role of myelin-autoreactive T-cell production of interferon- γ // J. Neuroimmunol. 1992. V. 40. P. 211–218.
20. Quagliarello V.J., Wispelwey B., Long W.J. et al. Recombinant human interleukin-1 induces meningitis and BBB injury in the rat // J. Clin. Invest. 1991. V. 87. P. 1360–1366.
21. Raine C.S., Cannella B. Adhesion molecules and central nervous system inflammation. Semin Neurosci // 1992. V. 4. P. 201–211.
22. Rieckmann P., Martin S., Weichselbraun I. et al. Serial analysis of circulating adhesion molecules and TNF receptor in serum from patients with multiple sclerosis: cICAM-1 is an indicator for relapse // Neurology. 1994. V. 44. P. 2367–2372.
23. Selmaj K., Raine C., Cannella B. et al. Identification of lymphotoxin and tumor necrosis factor in multiple sclerosis lesions // J. Clin. Invest. 1997. V. 37. P. 949–954.
24. Springer T.A. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multiple step paradigm // Cell. 1994. V. 76. P. 301–314.
25. Steinman L. Multiple sclerosis: a coordinated immunological attack against myelin in the central nervous system // Cell. 1996. V. 85. P. 299–302.
26. Svenningholm A., Hansson G.K., Andersen O. et al. Adhesion molecule expression on cerebrospinal fluid T lymphocytes: evidence for common recruitment mechanisms in multiple sclerosis, aseptic meningitis, and normal controls // Ann. Neurol. 1993. V. 34. P. 155–161.
27. Vries H.E., Kuiper J., de Boer A.G. et al. The Blood-Brain Barrier in Neuroinflammatory Diseases // Pharmacol. Reviews. 1997. V. 49. P. 143–156.
28. Washington R., Burton J., Todd R.F. et al. // Expression of immunologically relevant endothelial cell activation antigens on isolated central nervous system microvessels from patients with multiple sclerosis // Ann. Neurol. 1994. V. 5. P. 89–97.

Поступила в редакцию 07.04.2009 г.

Сведения об авторах

С.А. Ельчанинова – д-р биол. наук, профессор, зав.кафедрой биохимии и клинической лабораторной диагностики Алтайского государственного медицинского университета (г. Барнаул).

И.В. Смагина – канд. мед. наук, доцент, невролог Алтайской краевой клинической больницы (г. Барнаул).

В.А. Сидоренко – ассистент кафедры биохимии и клинической лабораторной диагностики Алтайского государственного медицинского университета (г. Барнаул).

Экспериментальные и клинические исследования

Ю.Н. Личенко – невролог Алтайской краевой клинической больницы (г. Барнаул).

А.В. Поповцева – ассистент кафедры биохимии и клинической лабораторной диагностики Алтайского государственного медицинского университета (г. Барнаул).

А.С. Федянин – зав. неврологическим отделением Алтайской краевой клинической больницы, главный внештатный невролог главного управления Алтайского края по здравоохранению и фармацевтической деятельности (г. Барнаул).

Для корреспонденции

Смагина Инна Вадимовна, тел. 8-903-990-50-99, e-mail: siv7000@yandex.ru