

Перспективы лабораторной оценки риска обострения и прогрессирования рассеянного склероза

Смагина И.В.¹, Ельчанинова С.А.², Поповцева А.В.², Игнатова Ю.Н.¹,
Гридина А.О.¹, Федянин А.С.¹

Prospects of laboratory risk evaluation of multiple sclerosis relapse and progressing

Smagina I.V., Yelchaninova S.A., Popovtseva A.V., Ignatova Yu.N.,
Gridina A.O., Fedyanin A.S.

¹ ГУЗ «Краевая клиническая больница», г. Барнаул

² Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул

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

В исследовании с участием больных рассеянным склерозом (РС) с ремиттирующим типом течения установлено, что уровень матричной металлопротеиназы-2 в ликворе выше 30 нг/мл в период обострения и (или) ремиссии увеличивает риск повторного обострения в течение 2 лет в 2,8 раза. Высокий уровень молекулы адгезии (sPECAM) в ликворе ассоциируется с быстрым прогрессированием РС.

Ключевые слова: рассеянный склероз, спинномозговая жидкость.

The Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis (MS) patients research has revealed that the matrix metalloproteinase-2 level in cerebrospinal fluid which is higher than 30 ng/ml during the relapse and/or remission period increases repeated relapse risk during 2 years term by 2.8 times. The rapid MS progressing is associated with the high level of adhesion molecule (sPECAM) in cerebrospinal fluid.

Key words: multiple sclerosis, cerebrospinal fluid.

УДК 616.832-004.2-039.36-071

Введение

Рассеянный склероз (РС) — хроническое прогрессирующее аутоиммунное заболевание, характеризующееся многоочаговой воспалительной демиелинизацией центральной нервной системы (ЦНС) [1, 5]. Прогнозирование обострений и прогрессирования этого заболевания является одним из факторов, влияющих на тактику фармакотерапии, а следовательно, и эффективность лечения РС. В настоящее время перспективным методом не только диагностики, но и мониторинга РС признана магнитно-резонансная томография [6]. Лабораторные тесты, ассоциированные с аутоиммунными процессами в ЦНС (олигоклональная гипергаммаглобулинемия и др.), информативны на этапе диагностики РС, однако имеют низкое прогностическое значение как предикторы прогрессирования этого заболевания [7]. В то же время, исходя из опыта лабо-

раторного мониторинга многих других хронических заболеваний, можно полагать, что лабораторные показатели, отражающие основные патогенетические звенья РС — воспаление, демиелинизацию и дегенерацию в ЦНС, могли бы стать не только динамичными критериями эффективности лечения РС, но и достаточно точными прогностическими биомаркерами.

Цель исследования — оценить взаимосвязь лабораторных показателей воспаления, демиелинизации, глиоза, повреждения гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) в спинномозговой жидкости (СМЖ) с частотой обострения и скоростью прогрессирования РС.

Материал и методы

Участниками исследования были 95 больных РС, установленным по критериям MacDonald [13]. Магнитно-резонансную томографию головного мозга проводили на высокопольном магнитном томографе Magne-

tom Impact (Siemens, Германия) с напряженностью магнитного поля 1,0 Тл с использованием стандартных T1- и T2-изображений, а также с применением режима TIRM. Для внутривенного контрастирования использовали препарат «Омнискан» (Nycomed, Норвегия) или «Гадовист» (Bayer Shering Pharma, Германия) в дозе от 0,1 до 0,3 ммоль/кг массы тела. Для оценки тяжести клинического состояния и степени инвалидизации использовали расширенную шкалу инвалидизации (Expanded Disability Status Scale (EDSS)) [10]. Скорость прогрессирования РС рассчитывали по отношению количества баллов EDSS на момент обследования к длительности болезни в годах [3].

Больные были обследованы амбулаторно или в первые дни госпитализации в неврологическое отделение краевой клинической больницы г. Барнаула.

Критериями исключения были предшествующие включению в исследование прием препаратов интерферона, глатирамера ацетата, облучение всего организма или лимфоидной ткани, лечение стволовыми клетками; аутоиммунные заболевания соединительной ткани; эпилепсия; психические расстройства, включая депрессию.

Оценку взаимосвязи лабораторных показателей с частотой обострения и скоростью прогрессирования РС проводили на основе данных, полученных с участием двух разных групп больных, характеристика которых приведена при изложении результатов исследования.

В супернатанте СМЖ, забранной при люмбальной пункции, методом твердофазного иммуоферментного анализа определяли биохимические показатели воспаления: высокочувствительный С-реактивный белок по протоколам и с использованием тест-системы фирмы DRG International Inc. (США), интерлейкин-1 β (ИЛ-1 β) и фактор некроза опухоли альфа (ФНО- α) с использованием тест-систем фирмы Biosource Europe S.A. (Бельгия). Для определения показателя демиелинизации — основного белка миелина и показателя глиоза — белка S100 использовали тест-системы CanAg Diagnostics (США). О повреждении ГЭБ судили по уровням молекул адгезии — тромбоцитарно-эндотелиальной молекулы адгезии типа 1 PECAM-1, CD31, молекулы адгезии сосудистого эндотелия типа 1 VCAM-1, а также матриксной металлопротеиназы-2 (MMP-2), которые измеряли с использованием тест-систем Bender MedSystems (США) и Diacclone R&D Systems Inc. (Швейцария) соответ-

ственно. Оценку цитога и дифференциальный подсчет лейкоцитов проводили при стандартном клиническом анализе СМЖ [4].

Статистический анализ выполнен с использованием программы Statistica 6.0, receiver operating characteristic analysis (ROC-анализ) — с применением программы MedCalc. Распределение анализируемых переменных соответствовало нормальному по критерию Шапиро—Уилки. Сравнения выборочных средних проводили по критерию Ньюмена—Кейлса (при парных сравнениях) и по *t*-критерию Стьюдента для независимых выборок. Корреляции оценивали по критерию Спирмена, значимость значений относительного риска по критерию Уилкоксона. Результаты представлены в виде выборочного среднего *M* с указанием стандартного квадратичного отклонения σ и 99%-го доверительного интервала. Для всех использованных статистических критериев принят критический уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Анализ взаимосвязи лабораторных показателей с частотой обострения проводили на основании результатов 2-летнего проспективного наблюдения 38 больных РС (12 мужчин, 26 женщин; средний возраст $(35,6 \pm 7,3)$ года) с продолжительностью болезни в среднем 2,8 года (от 1 года до 10 лет). Включение в исследование проводили в период обострения РС. На момент включения в исследование все больные имели ремиттирующий тип течения РС, степень инвалидизации по шкале EDSS в среднем 4,5 балла (от 3,5 до 7,0 балла). В период исследования больные не получали лекарственных препаратов, изменяющих течение РС (ПИТРС). Лабораторное исследование и клинический осмотр пациентов проводили в стадии обострения до начала терапии, в стадии ремиссии в отсутствие фармакотерапии на протяжении предшествующих 6 мес. Дополнительно клинический осмотр больных проводили через 1 и 2 года после включения в исследование, внепланово при обострении.

Обострение в течение 2 лет наблюдали у 10 (26,3%) человек. Длительность ремиссии после предшествующего обострения составила в среднем 7,6 мес (от 6 до 15 мес). У 2 (5,2%) пациентов произошел переход РС во вторично прогрессивное течение.

При обострении РС по сравнению с периодом ремиссии в СМЖ выявлен повышенный уровень основно-

го белка миелина ($(4,8 \pm 1,9)$ против $(1,4 \pm 0,8)$ нг/мл; $p = 0,029$) с тенденцией однонаправленных изменений белка S100 ($p = 0,12$). Это согласуется с данными других исследователей [11, 12] и, вероятно, отражает большую выраженность процесса демиелинизации в ЦНС в сравнении с процессом повреждения клеток глии. Ранее сообщалось о возрастании в СМЖ этой группы больных при обострении РС адгезивных молекул sPECAM-1 и sVCAM-1 [2]. Повышенный уровень этих растворимых форм мембранных компонентов эндотелия сочетался с более высокой по сравнению с периодом ремиссии концентрацией ФНО- α и значимо не измененным уровнем ИЛ-1 β .

Обострение не сопровождалось повышением концентрации С-реактивного белка в СМЖ, а также концентрации фермента, разрушающего коллаген матрикса соединительной ткани кровеносных сосудов, — MMP-2.

Результаты клинического анализа ликвора были характерными для РС [4]. Плеоцитоз в период обострения был слабым ($(11,2 \pm 1,7)$ млн клеток/л) и отсутствовал в период ремиссии ($(1,7 \pm 0,2)$ млн клеток/л). При обострении доля лимфоцитов составляла от 58 до 100%, концентрация белка имела широкое межиндивидуальное варьирование и не отличалась от такового в период ремиссии ((356 ± 187) и (352 ± 131) мг/л соответственно).

При оценке взаимосвязей исследованных лабораторных показателей с данными клинических наблюдений выявлена положительная корреляция между количеством обострений за 2 года с уровнем ФНО- α ($r = 0,58$; $p = 0,031$) и уровнем MMP-2 ($r = 0,84$; $p = 0,022$). Уровень MMP-2 в отличие от уровня ФНО- α не изменялся в период ремиссии по сравнению с периодом обострения, поэтому может рассматриваться как кандидат в прогностические маркеры обострения РС. Уровень MMP-2 выше и равный медиане (30 нг/мл) значимо увеличивает риск обострения РС в течение 2 лет после предшествующего обострения (рис. 1). Уровень ФНО- α , так же как и другие исследованные лабораторные показатели СМЖ, реагирующие на обострение РС повышением уровня, вероятно, может служить маркером активности процесса.

Взаимосвязи между исследованными лабораторными показателями и скоростью инвалидизации оценивали с использованием результатов одномоментного исследования с участием 56 больных РС (17 мужчин, 39 женщин; средний возраст $(36,8 \pm 6,4)$ года) с

ремиттирующим типом течения в стадии ремиссии. Средняя продолжительность болезни 7,7 года (от 2 до 25 лет), степень инвалидизации по шкале EDSS составила в среднем 4,0 балла (от 2,5 до 5,0 балла).

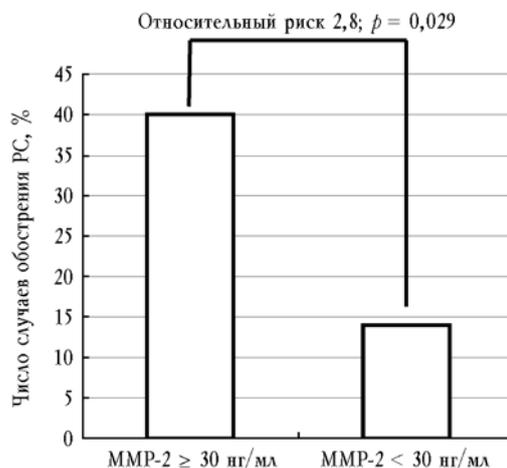


Рис. 1. Относительный риск обострения рассеянного склероза в течение 2 лет после предшествующего обострения в зависимости от уровня MMP-2 в спинномозговой жидкости

Выявлена положительная корреляция между концентрацией растворимой фракции молекулы адгезии sPECAM и скоростью прогрессирования, которую оценивали ретроспективно (рис. 2). Это подтверждает сложившееся мнение о роли эндотелиальных адгезивных молекул в патогенезе РС [8, 9].

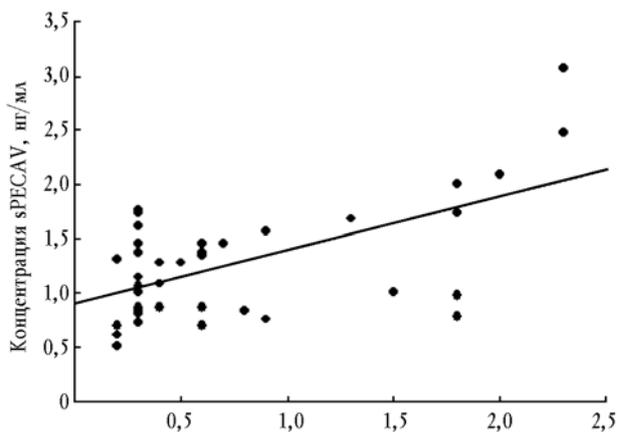


Рис. 2. Корреляция между уровнем растворимой тромбоцитарно-эндотелиальной молекулы адгезии типа 1 sPECAM в спинномозговой жидкости и скоростью прогрессирования рассеянного склероза

Применение принятого в доказательной медицине ROC-анализа позволило установить, что при уровне sPECAM, большем медианы (1,5 нг/мл), чувствительность его как предиктора высокой скорости прогрес-

сирования РС составляет 89%, специфичность — 71%, положительная прогностическая значимость — 50% (рис. 3). Таким образом, при концентрации sPECAM в СМЖ в период ремиссии более 1,5 нг/мл вероятность быстрого прогрессирования РС (более 0,75 балла по шкале EDSS за 1 год болезни) составляет 50%.

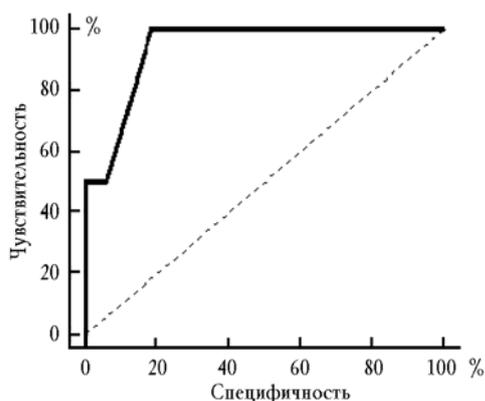


Рис. 3. ROC-кривая для концентрации тромбцитарно-эндотелиальной молекулы адгезии типа 1 sPECAM в спинномозговой жидкости больных рассеянным склерозом как показатель скорости прогрессирования заболевания

Заключение

Концентрации sPECAM-1 (CD31) и MMP-2 в ликворе больных с ремиттирующим типом течения РС могут рассматриваться как кандидаты в лабораторные прогностические маркеры прогрессирования и обострения заболевания соответственно. Представляется перспективным исследование клинической информативности сочетания этих биохимических показателей с данными магнитно-резонансной томографии головного мозга.

Литература

1. Ельчанинова С.А., Смагина И.В., Сидоренко В.А. и др. Молекулы адгезии и провоспалительные цитокины в спинномозговой жидкости больных рассеянным склерозом // Бюл. сиб. медицины. 2009. Т. 8, № 1 (2). С. 23—26.
2. Гусев Е.И., Завалишин И.А., Бойко А.Н. Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания. М.: Миклош, 2004. 540 с.
3. Малкова Н.А., Иерусалимский А.П. Рассеянный склероз. Новосибирск: НГМУ, 2006. 198 с.
4. Миронова И.И., Романова Л.А., Долгов В.В. Общеклинические исследования: моча, кал, ликвор, эякулят. М.; Тверь: Триада, 2005. 206 с.
5. Рассеянный склероз. Диагностика, лечение, специалисты / под ред. И.Д. Столярова, А.Н. Бойко. М.: ЭЛБИ-СПб., 2008. 320 с.
6. Толоян Н.А. Бетаферон в лечении рассеянного склероза: стандарт доказательств эффективности // Журн. неврологии и психиатрии. 2005. № 7. С. 63—66.
7. Freedman M.S., Thompson E.J., Deisenhammer F. et al. Recommended Standard of Cerebrospinal Fluid Analysis in the Diagnosis of Multiple Sclerosis // Arch. Neurol. 2005. V. 62. P. 268—375.
8. Kalinowska A., Losy J. PECAM-1, a key player in neuroinflammation // Eur. J. Neurology. 2006. V. 13, № 12. P. 1284—1290.
9. Kuenz B., Lotterotti A. 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, № 1—2. P. 143—149.
10. Kurtzke J.F. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS) // Neurology. 1983. V. 33, № 12. P. 1444—1452.
11. Lim E.T., Petzold A., Leary S.M. et al. Serum S100B in primary progressive multiple sclerosis patients treated with interferon-beta-1a // J. Negative Results in BioMedicine. 2004. V. 3. P. 4—8.
12. Martin R., Bielekova B., Hohlfeld R. et al. Biomarkers in Multiple sclerosis // Dis. Markers. 2006. V. 22. P. 183—185.
13. Polman C.H., Reingold S.C., Edan C. et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the 'McDonald' // Ann. Neurol. 2005. V. 56, № 6. P. 840—864.

Поступила в редакцию 06.04.2010 г.

Утверждена к печати 13.05.2010 г.

Сведения об авторах

И.В. Смагина — канд. мед. наук, доцент, врач-невролог отделения неврологии ГУЗ «Краевая клиническая больница» (г. Барнаул).

С.А. Ельчанинова — д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой биохимии и клинической лабораторной диагностики АГМУ (г. Барнаул).

А.В. Поповцева — ассистент кафедры биохимии и клинической лабораторной диагностики АГМУ (г. Барнаул).

Ю.Н. Игнатова — врач-невролог отделения неврологии ГУЗ «Краевая клиническая больница» (г. Барнаул).

А.О. Гридина — врач-невролог отделения неврологии ГУЗ «Краевая клиническая больница» (г. Барнаул).

А.С. Федянин — зав. отделением неврологии ГУЗ «Краевая клиническая больница», главный невролог управления Алтайского края по здравоохранению и фармацевтической деятельности (г. Барнаул).

Для корреспонденции

Смагина И.В., Ельчанинова С.А., Поповцева А.В. и др.

Перспективы лабораторной оценки риска обострения РС

Смагина Инна Вадимовна, тел. 8-903-990-5099, тел./факс (3852) 68-96-77, e-mail: siv7000@yandex.ru