

Роль дисфункции эндотелия в запуске иммунопатологических реакций при хронической ишемии головного мозга

Шумахер Г.И.¹, Воробьева Е.Н.¹, Нечунаева Е.В.^{1, 2}, Хорева М.А.¹,
Воробьев Р.И.³, Симонова О.Г.², Батанина И.А.³

Role of endothelium dysfunction in starting immunopathologic response in chronic brain ischemia

Shumakher G.I., Vorobiyova Ye.N., Nechounayeva Ye.V., Khoreva M.A.,
Vorobiyov R.I., Simonova O.G., Batanina I.A.

¹ Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул

² КГУЗ «Диагностический центр Алтайского края», г. Барнаул

³ НУЗ «Отделенческая клиническая больница ст. Барнаул ОАО «РЖД»», г. Барнаул

© Шумахер Г.И., Воробьева Е.Н., Нечунаева Е.В. и др.

Представлены результаты клинического и лабораторного исследования 106 больных (44 мужчины, 62 женщины) с хронической ишемией головного мозга (ХИМ) I–II стадии. Обследованные пациенты были в возрасте от 38 до 67 лет (средний возраст $55,6 \pm 2,2$ года). Диагноз ХИМ и ее стадия устанавливались в соответствии с общепринятыми критериями. Контролем служили показатели обследования 22 практически здоровых людей (10 мужчин и 12 женщин) в возрасте от 35 до 64 лет (средний возраст $53,2 \pm 2,1$ года). Лабораторное исследование включало определение количества циркулирующих десквамированных эндотелиоцитов, титра аутоантител к мозгоспецифическим белкам: энцефалитогенному протеину, нейронспецифической енолазе и белку S-100. Были выявлены достоверные изменения иммунного статуса, а также признаки эндотелиальной дисфункции у больных ХИМ. Исследуемые показатели были более выражены во II стадии ХИМ. Найдена прямая корреляция между степенью дисфункции эндотелия и активностью аутоиммунного процесса в головном мозге.

The paper presents results of clinical and laboratory investigation of 106 patients with chronic brain ischemia (CBI) I–II stages (44 males and 62 females). The age of examined patients varied from 38 to 67 years (mean age was $55,6 \pm 2,2$). The diagnosis of CBI was estimated according to the generally accepted criteria. Results of laboratory investigation of 22 practically healthy people (10 males and 12 females) served as control. The age of control group varied from 35 to 64 years (mean age was $53,2 \pm 2,1$). Laboratory diagnostics included detection levels of circulating endothelial cells, autoantibodies to encephalitogenic protein, neuron-specific enolase and protein S-100. Reliable changes of immune status as well as signs of endothelium dysfunction was revealed. These indices are expressed in patients with CBI II stage. Direct correlation between intensity of endothelium dysfunction and activity of autoimmune aggression in brain was revealed.

Введение

Цереброваскулярные заболевания остаются важнейшей проблемой здравоохранения во всем мире, занимая второе место среди причин смертности и лидирующее место среди причин инвалидности. Несомненно, инсульт является наиболее тяжелой формой сосудистого поражения головного мозга. Но намного более широ-

кое распространение имеют хронические расстройства мозгового кровообращения, которые признаются многими авторами пред стадией развития острой мозговой катастрофы [4, 9]. Важность диагностики ранних стадий хронической ишемии мозга (ХИМ), или дисциркуляторной энцефалопатии, крайне важна с практической точки зрения, поскольку на ранних стадиях профилактические терапевтические мероприя-

тия могут быть наиболее эффективными. Однако неврологическая симптоматика на ранних стадиях крайне скудна, а имеющиеся объективные методы исследования: инструментальные (офтальмоскопия, ЭЭГ, дуплексное сканирование брахиоцефальных и транскраниальных сосудов, методы нейровизуализации и др.) и лабораторные (сахар крови, липидный спектр крови, С-реактивный белок, СОЭ, исследование системы гемостаза и др.) — чаще остаются нечувствительными к минимальным нарушениям. Отсутствует четкая корреляция между выраженностью неврологического дефекта (стадией ХИМ) и данными объективных методов исследования. Кроме того, и клиническая картина, и данные традиционных методов исследования не всегда отражают истинную тяжесть состояния, степень поражения ЦНС и дальнейший прогноз развития заболевания. Это обосновывает потребность в поиске новых маркеров ранней и постстадийной диагностики ХИМ с целью раннего вмешательства в патологический процесс, восстановления нормальной деятельности нервной системы и снижения инвалидизирующих последствий. В современных представлениях о патогенезе ХИМ значимую роль отводят эндотелиальной дисфункции церебральных артерий [1, 2, 7, 13, 15], приводящей в конечном счете к нарушению гематоэнцефалического барьера и запуску нейроиммунной аутоагрессии [4, 5, 9, 11, 16]. Данные о состоянии иммунной системы в условиях ишемического повреждения головного мозга, особенно хронического, немногочисленны и весьма противоречивы

[6, 8, 10, 14, 17].

Цель исследования — изучить состояние эндотелиальной функции и нейроиммунный статус у пациентов с ХИМ I и II стадий.

Материал и методы

Обследовано 106 больных (44 мужчины и 62 женщины) в возрасте от 38 до 67 лет (средний возраст $(55,6 \pm 2,2)$ года) с ХИМ (дисциркуляторной энцефалопатией) I и II стадий, вошедших в основную группу. Диагноз ХИМ и ее стадия

устанавливались в соответствии с существующими критериями [12] на основании жалоб, анамнеза, клинико-неврологического и нейропсихологического обследования, а также данных дополнительных методов исследования (офтальмоскопии, ультразвуковой доплерографии магистральных сосудов головы, эхоэнцефалографии, электроэнцефалографии, компьютерной и магнитно-резонансной томографии головного мозга). Среди обследованных с I стадией ХИМ было 50 (47,2%) человек, со II стадией — 56 (52,8%). Основным этиологическим фактором ХИМ явилось сочетание атеросклероза с артериальной гипертензией — 87 (82,1%) случаев, реже патогенную роль играли изолированная артериальная гипертензия — 14 (13,2%) и атеросклероз — 5 (4,7%). Длительность заболевания составляла от 2 до 10 лет (средняя длительность $(4,8 \pm 0,6)$ года).

Клиническими критериями исключения из исследования являлись: возраст менее 35 и более 70 лет, ХИМ III стадии, энцефалопатия другой этиологии (посттравматическая, алкогольная, гепатогенная, уремическая и др.), инсульт и инфаркт миокарда в анамнезе, тяжелая соматическая патология в стадии декомпенсации, аутоиммунные, наследственно-дегенеративные, онкологические заболевания.

Контролем служили показатели обследования 22 практически здоровых людей (10 мужчин и 12 женщин) в возрасте от 35 до 64 лет (средний возраст $(53,2 \pm 2,1)$ года) без объективных проявлений ХИМ, не предъявлявших жалобы на состояние здоровья.

Состояние эндотелиальной стенки оценивали по количеству циркулирующих десквамированных эндотелиоцитов (ЦДЭ). Количество ЦДЭ оценивали по методике J. Hladovec [15], модифицированной Р.И. Воробьёвым [3], с использованием микроскопа «Ломо Микромед-1» и фазово-контрастного устройства КФ-4. Способ основан на изоляции клеток эндотелия с тромбоцитами с последующим осаждением тромбоцитов с помощью натриевой соли аденозин-5'-дифосфорной кислоты.

Нейроиммунный статус оценивали по титру аутоантител (ААТ) к энцефалитогенному проте-

ину (ЭП) — эпитопу основного белка миелина, нейронспецифической енолазе (NSE) — высоко-специфичному маркеру повреждения нейронов и нейроглиальному белку S-100. Уровень аутоантител определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) при помощи наборов соответственно: «Ником-Цереброскрин» фирмы «Сибниркомплект» (Россия), «CanAg NSE EIA» и «CanAg S-100 EIA» фирмы «CanAg Diagnostics» (Швеция). Результаты ИФА учитывали фотометрически на фотометре «Stat Fax» 1904+ (США).

Результаты и обсуждение

В группе контроля количество ЦДЭ не превышало нормы (2–4 клетки в 100 мкл) [15]. В то же время у 87% больных основной группы было выявлено увеличение уровня ЦДЭ. Количество ЦДЭ в основной группе было в 2,3 раза выше, чем в контрольной ((6,1 ± 0,7) и (2,7 ± 0,3) клетки в 100 мкл соответственно; $p < 0,001$). Кроме того, было установлено, что статистически значимое повышение десквамации эндотелиоцитов происходит у всех больных ХИМ, но более выражено во II стадии заболевания. Так, уровень ЦДЭ при II стадии ХИМ ((6,6 ± 0,8) клетки в 100 мкл) превышал таковой при I стадии ((5,4 ± 0,7) клетки в 100 мкл) на 122%, а контроль — на 244% ($p < 0,01$) (рис. 1).

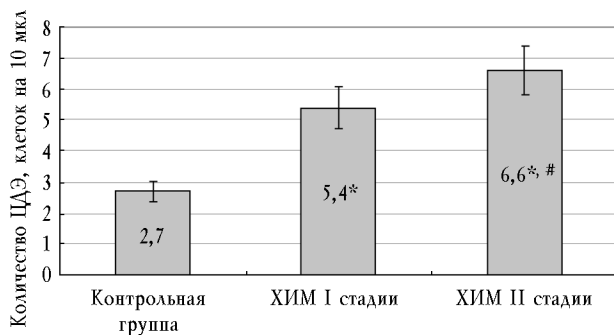


Рис. 1. Количество ЦДЭ в исследуемых группах: * — $p < 0,001$ при сравнении с показателями контрольной группы; # — $p < 0,01$ при сравнении показателей I и II стадий ХИМ

Нейроиммунный статус в группах исследования представлен в таблице и на рис. 2.

В результате проведенного исследования по содержанию антител к энцефалитогенному протеину оказалось, что у большинства больных

ХИМ (83%) уровень аутоантител к ЭП был повышен ($K > 1,2$ ед опт. пл.)

[8, 10]. Колебания уровня антител к ЭП в основной группе были в пределах от 0,83 до 1,94 ед опт. пл., медиана (25–75%) значимо не отличалась от среднего

значения ($M_e = 1,56$ ед опт. пл.). Средний уровень антител к ЭП у пациентов основной группы превышал в 3,8 раза таковой в контрольной группе ($p < 0,0001$). Кроме того, в процессе исследования было установлено более выраженное повышение (на 133%) уровня аутоантител у пациентов II стадии ХИМ по сравнению с I стадией ($p < 0,01$).

При исследовании уровня антител к нейронспецифической енолазе также отмечался резкий скачок антител в основной группе по сравнению с контролем. Так, более чем в половине случаев — у 52% больных, страдающих ХИМ, определялись значения выше нормы (более 13 мкг/мл) [10, 16, 17]. Среднее содержание ААТ к NSE в основной группе было в 2,8 раза

выше, чем в контроле ($p < 0,001$). Особенность показателей в основной группе заключалась в достаточно большом размахе уровня NSE по сравнению с контролем — от 3,37 до 54,40 мкг/мл. В контрольной группе значения у всех обследованных не превышали нормы, и медиана значимо не отличалась от среднего значения ($M_e = 5,77$ мкг/мл). При анализе титров NSE по стадиям заболевания выявлено, что повышение чаще наблюдается во II стадии — в 58% случаев, чем в I стадии — 43% случаев, $p = 0,2$. Средний уровень аутоантител к NSE в сыворотке крови больных II стадии достоверно превышал на 114% данный показатель при I стадии ($p < 0,01$).

Уровень нейротропных аутоантител в группах исследования ($M \pm m$)

Показатель	Контрольная группа	Основная группа	ХИМ I стадии	ХИМ II стадии
ААТ к ЭП, ед опт. пл.	0,40 ± 0,05	1,52 ± 0,06*	1,24 ± 0,03*	1,65 ± 0,08*.#
ААТ к NSE, мкг/мл	5,79 ± 0,29	16,23 ± 1,41*	14,92 ± 2,19*	17,07 ± 1,85*.#
ААТ к белку S-100, нг/мл	48,74 ± 2,29	80,80 ± 5,14*	66,58 ± 4,66*	89,85 ± 7,51*.#

* $p < 0,001$ при сравнении с показателями контрольной группы.

$p < 0,01$ при сравнении показателей I и II стадий ХИМ.

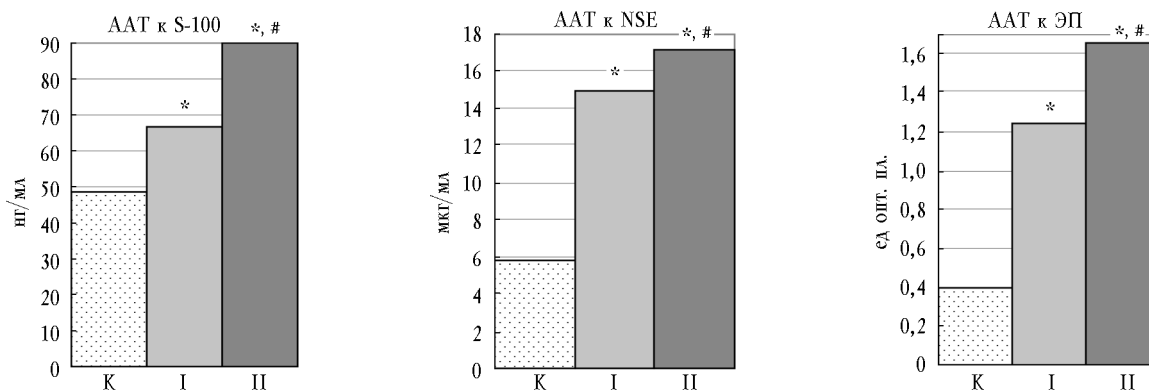


Рис. 2. Нейроиммунный статус в группах исследования: К — контрольная группа; I — ХИМ I стадии; II — ХИМ II стадии; * — $p < 0,001$

при сравнении с показателями контрольной группы; # — $p < 0,01$ при сравнении показателей I и II стадий ХИМ

Исследование антител к нейроглиальному белку S-100 выявило не столь скачкообразное, как в случае ЭП и NSE, но все же увеличение уровня аутоантител в основной группе. Хотя среднее значение не выходило за пределы нормальных значений (норма — менее 90,0 нг/мл) по данным литературы [10, 14, 16, 17], но превышало данный показатель в контрольной группе в 1,7 раза ($p < 0,001$). В основной группе минимальное значение составило

34,20 нг/мл, максимальное — 232,30 нг/мл, медиана составила 68,42 нг/мл. В контрольной группе разброс значений был небольшой (от 29,60 до 66,50 нг/мл) и медиана значимо не отличалась от среднего значения ($M_e = 48,32$ нг/мл). Анализ уровня ААТ к S-100 по стадиям показал, что у больных ХИМ I стадии титры не превышали литературной нормы, а у 21% больных II стадии титры были выше 90 нг/мл. Средний уровень аутоантител к S-100 в сыворотке крови больных

II стадии превышал на 135% данный показатель при I стадии ($p < 0,01$).

При анализе нейроиммунного статуса в контрольной группе в 100% случаев уровни нейротропных аутоантител не выходили за пределы нормальных значений, медианы значимо не отличались от средних значений.

Проведенный корреляционный клиничко-иммунологический анализ выявил наличие прямой связи между неврологическим дефицитом (стадией заболевания) и уровнем всех нейротропных аутоантител ($r = 0,38-0,61$; $p < 0,01$).

Проанализирована зависимость между маркером эндотелиальной дисфункции и степенью поражения вещества мозга по уровню аутоантител. Выявлена положительная корреляционная связь между количеством циркулирующих десквамированных эндотелиоцитов и нейронспецифическими антителами ($r = 0,32-0,58$; $p < 0,01$). Более выражена данная связь в отношении аутоантител к энцефалитогенному протеину (рис. 3). Возможно, данная связь объясняется меньшей эффективностью ауторегуляции мозгового кровообращения в белом веществе по сравнению с серым и, соответственно, большим повреждением миелина, чем нейронов и нейроглии, при хронической ишемии мозга. Полученная зависимость может свидетельствовать о ключевой роли эндотелиальной дисфункции в запуске реакций повреждения гематоэнцефалического барьера и последующего нейроаутоиммунного каскада. Основываясь на полученных данных, можно предположить, что решающая роль в сдерживании инфильтрации мозга эффекторными клетками иммунной системы принадлежит эндотелиоцитам.

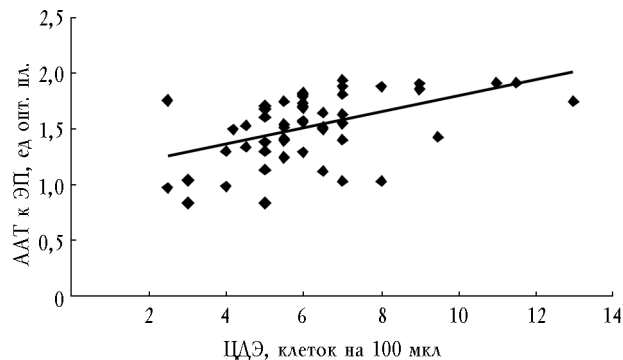


Рис. 3. Корреляция между степенью дисфункции эндотелия и степенью повреждения, г/м

Закключение

Таким образом, проведенное исследование показало, что уже на ранних стадиях хронической ишемии мозга имеют место иммунопатологические нарушения в виде повышения содержания нейротропных аутоантител. Уже на начальных стадиях ХИМ при относительно минимальных клинических и инструментальных симптомах развивается генерализованная аутоиммунизация к структурным компонентам нервной ткани. Степень повреждения вещества мозга прямо коррелирует с выраженностью эндотелиальной дисфункции. Полученные данные могут использоваться в качестве раннего маркера ХИМ и учитываться при выборе своевременной патогенетической терапии. Применяемый при этом иммуноферментный анализ является доступным методом исследования.

Литература

1. Алмазов В.А., Беркович О.А., Ситникова М.Ю. и др. Эндотелиальная дисфункция у больных с дебютом ишемической болезни в разном возрасте // Кардиология. 2001. № 5. С. 26–29.
2. Бычкова О.И., Лукьянчиков М.К. Особенности метаболической устойчивости эндотелиоцитов у больных артериальной гипертензией и сахарным диабетом // Воен.-мед. журн. 2006. Т. 327. № 12. С. 34–35.
3. Воробьев Р.И. Рационализаторское предложение № 791 2005. Определение количества десквамированных эндотелиоцитов в плазме крови.
4. Ганнушкина И.В. Иммунологические аспекты травмы и сосудистых поражений мозга. М.: Медицина, 1994.
5. Жданов Г.Н., Герасимова М.М. Оценка роли аутоиммунной воспалительной реакции в патогенезе церебральной ишемии // Невролог. вестн. 2003. Т.

Шумахер Г.И., Воробьёва Е.Н., Нечунаева Е.В. и др. Роль дисфункции эндотелия в запуске иммунопатологических реакций...

35. № 3—4. С. 13—17.
6. Мартынова Г.И. Клинико-иммунологические сопоставления при хронической ишемической болезни мозга атеросклеротического генеза // Журн. неврологии и психиатрии. Прил. «Инсульт». 2001. Вып. 2. С. 40—44.
7. Петрищев Н.Н., Беркович О.А., Власов Т.Д. и др. Диагностическая ценность циркулирующих эндотелиальных клеток в крови // Клинич. лаб. диагностика. 2001. № 1. С. 50—52.
8. Ребенко Н.М., Аутеншлюс А.И., Абрамов В.В., Козлов В.А. Уровни антител к энцефалитогенному протеину как критерий степени тяжести у больных с острым ишемическим инсультом // Нейроиммунология: Исследования. Клиника. Диагностика. Лечение: Ежекварт. науч.-практ. рецензир. журн. 2003. Т. 1. № 4. С. 23—26.
9. Скворцова В.И., Шерстнёв В.В., Константинова Н.А. и др. Участие аутоиммунных механизмов в развитии ишемического повреждения головного мозга // Журн. неврологии и психиатрии. 2005. Т. 105. № 8. С. 36—40.
10. Хаджиева М.Х., Скворцова В.И., Шерстнёв В.В. и др. Изучение нейротрофических факторов и аутоантител к ним у больных с хронической ишемией головного мозга // Современные подходы к диагностике и лечению нервных и психических заболеваний. СПб., 2000. 341 с.
11. Чехонин В.П., Дмитриева Т.Б., Жирков Ю.А. Иммунохимический анализ нейронспецифических антигенов. М., 2000.
12. Шмидт Е.В. Сосудистые заболевания головного и спинного мозга. М.: Медицина, 1985. 259 с.
13. Dimmeler S., Hermann C., Zeiher A.M. Apoptosis of endothelial cells. Contribution to the pathophysiology of atherosclerosis? // Eur. Cytokine Netw. 1998. V. 9. P. 697—698.
14. Fagnart O.C., Sindic C.M.J., Laterre C. Particle counting immunoassay of S-100 protein in serum. Possible relevance in tumors and ischemic disorders of the central nervous system // Clin. Chem. 1988. V. 34. P. 1387—1391.
15. Hladovec J. Circulating endothelial cells as a sign of vessel wall lesions // Physiol. Bohemoslov. 1978. V. 27. № 2. P. 140—144.
16. Lamers K.J.B., van Engelen B.G.M., Gabreels F.J.M. et al. Cerebrospinal neuron-specific enolase, S-100 and myelin basic protein in neurological disorders // Acta Neurol. Scand. 1995. V. 92. P. 247—251.
17. Missler U., Wiesmann M., Friedrich C. et al. S-100 protein and neuron-specific enolase concentrations in blood as indicators of infarction volume and prognosis in acute ischemic stroke // Stroke. 1997. V. 28. P. 1956—1960.