УДК 616.832-004.2

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ С РЕМИТТИРУЮЩИМ И ПРОГРЕССИРУЮЩИМ ТЕЧЕНИЕМ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

Макаров С.В.

НОУ ВПО «Медицинский институт «Реавиз», Самара, e-mail: med.sm@yandex.ru

Проведена оценка экспрессирующей способности лимфоцитов\моноцитов крови к биогенным аминам в тест-системе «in vitro». В исследовании участвовали 54 больных с ремиттирующим течением рассеянного склероза, 26 пациентов со вторично-прогрессирующим и 6 с первично-прогрессирующим развитием заболевания. Большинство популяционных маркеров у больных РС реагировало увеличением экспрессирующей способности клеток на инкубацию с адреналином и в меньшей степени на присутствие в тест-системе серотонина. У больных с различной стадией ремиттирующего рассеянного склероза отмечены определенные изменения экспрессирующей способности лимфоцитов под влиянием биогенных аминов с маркерами: CD54+; CD25+; CD4+; CD8+; CD16+; CD56+; CD95+. Выявлены различия в тест-системах с биогенными аминами у больных с ремиттирующим и прогрессирующим течением рассеянного склероза, что в определенной мере является отражением иммунологической гетерогенности заболевания, связанной с реализацией компенсаторных механизмов иммунопатологического процесса. Полученные данные вносят дополнительный вклад в развитие концепции дизрегуляционной патологии иммунной системы при рассеянном склерозе. Результаты могут быть использованы при лабораторной диагностике РС.

Ключевые слова: рассеянный склероз, биогенные амины, иммунорегуляция

CLINICAL IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS PATIENTS WITH RELAPSING-REMITTING AND PROGRESSIVE MULTIPLE SCLEROSIS

Makarov S.V.

NOU VPO «Medical institute «REAVIZ», Samara, e-mail: med.sm@yandex.ru

Evaluated the ability of lymphocytes \monocytes blood expressing to biogenic amines in the test system «in vitro». The study involved 54 patients with relapsing-remitting multiple sclerosis, 26 patients with secondary progressive and 6 patients with primary progressive multiple sclerosis. Most of the population markers in patients with MS respond increase the ability of cells expressing the incubation with adrenaline and to a lesser extent in the presence of the test system serotonin. In patients with different stages of relapsing-remitting multiple sclerosis marked some changes expressing ability of lymphocytes under the influence of biogenic amines with markers: CD54+; CD25+; CD4+; CD8+; CD16+; CD56+; CD95+. Also in patients with relapsing-remitting and progressive multiple sclerosis revealed differences in test systems with biogenic amines, which to some extent is a reflection of immunological diversity of the disease related to the implementation of compensatory mechanisms immunopathological process. The data obtained further contribute to the development of the concept of pathology dysregulation immune system in multiple sclerosis. The results can be used in the laboratory diagnosis of MS.

Keywords: multiple sclerosis, biogenic amines, immunoregulation

Рассеянный склероз (РС) является хроническим прогрессирующим заболеванием нервной системы с иммунопатологическими механизмами развития, поражающим в основном людей молодого и трудоспособного возраста. В изучении вопросов патогенеза, клинического развития заболевания, терапии важная роль отводится механизмам нейроиммунных взаимодействий [4, 6, 9], что позволяет рассматривать отдельные аспекты РС с позиций дизрегуляционной патологии иммунной системы [1, 2]. Отмечено участие дофамина в формировании когнитивной дисфункции, депрессивных расстройств у больных РС [5]. Предполагается, что катехоламины являются значимым регулятором активации лимфоцитов при различном течении заболевания[6], принимают участие в механизмах прогрессирования РС [7]. Представляет интерес исследование влияния биогенных аминов на лимфоциты\моноциты клеток крови у больных РС с различным течением заболевания.

Цель исследования состояла в оценке экспрессирующей способности лимфоцитов\моноцитов крови к биогенным аминам у больных с ремиттирующим и прогрессирующим течением рассеянного склероза.

Материал и методы исследования

Почти у 80% пациентов с РС заболевание дебютирует ремиттирующим типом течения (РРС) с периодами обострения и стабилизации клинической картины между ними. На определенном, трудно прогнозируемом этапе своего развития РРС трансформируется во вторично-прогрессирующее течение (ВПРС) с постепенным нарастанием неврологической симптоматики и возможными периодами обострения заболевания. Первично-прогрессирующее течение РС (ППРС) характеризуется неуклонным нарастанием неврологических расстройств с дебюта заболевания. Прогредиентное течение заболевания с периодами обострения как отдельная форма не рассматривалось в данном исследовании.

С достоверным диагнозом РС наблюдалось 54 больных с ремиттирующим течением РС, 26 пациентов со вторично-прогрессирующим РС и 6 с первично-прогрессирующим течением заболевания

в возрасте от 24 до 47 лет. Длительность заболевания до момента осмотра при РРС составляла от 2 до 11 лет, при ВПРС – от 6 до 19 лет, ППРС – от 3 до 7 лет. Степень инвалидизации по шкале EDSS составила от 3 до 8 баллов.

Мононуклеарные клетки венозной крови были выделены по общепринятой методике в градиенте плотности фиколл-верографина фирмы «Pharmacia Chemical» (Uppsala, Sweden). Для оценки экспрессирующей способности лимфоцитов\моноцитов периферической крови к биогенным аминам взвесь мононуклеарных клеток инкубировалась в среде 199 в концентрации $2 \cdot 10^6$ кл в 1 мл 40 мин при t 37° С в 10^{-4} М растворами серотонина (С), адреналина (А), гистамина (Г). В контрольной пробирке отсутствовали биогенные амины. Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов определяли иммуноферментным методом по уровню экспрессии мембранных маркеров: CD3+; CD4+; CD8 +; CD16+; CD56+; CD95+; CD54+; CD25+; CD20+ − с использованием моноклональных антител серии ICO НПЦ «Биомедспектр». Определялся коэффициент экспрессии (КЭ) – расчетная величина, наглядный показатель, характеризующий степень отклонения системы МНК от нормированных значений в условиях инкубирования с биогенными аминами и отражал свойства рецепторов этих клеток [3],свидетельствующих о ее модификации. Экспрессирующая способность клеток тем выше, чем ниже показатель коэффициента экспрессии. Для статистической обработки данных использовался пакет программ Statistica 6,0. Оценка внутригрупповых различий проводилась с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни, поскольку частота регистрации ряда параметров не отвечала нормальному распределению.

Результаты исследования и их обсуждение

Мононуклеарные клетки больных РС под влиянием биогенных аминов с маркером CD16+; CD20+; CD54+; CD25+; CD95+; CD4+ качественно и количественно отличались по коэффициенту экспрессии от донорских. Наблюдалось увеличение экспрессирующей способности CD56 + клеток при инкубировании с биогенными аминами как у больных РС, так и у доноров. Необходимо отметить, что большинство популяционных маркеров у больных РС реагируют увеличением экспрессирующей способности клеток на инкубацию с адреналином и в меньшей степени на присутствие в тест-системе серотонина. Этот феномен согласуется с ранее полученными результатами в ином методическом подходе. Необходимо отметить, что разброс показателей среднего значения и стандартного отклонения относительного содержания мононуклеарных клеток при РРС имеет более широкий диапазон, чем при ВПРС. Это может быть признаком иммунологической гетерогенности больных с РРС, связанной с реализацией компенсаторных механизмов иммунопатологического процесса. У больных РС с вторично-прогрессирующим типом течения заболевания (рис. 1) отмечались более высокие показатели адреночувствительности CD16+, CD20+, CD54+, CD56+ клеток. В этой группе достоверно возрастало количество клеток с маркерами CD16+, CD20+, CD56+ в тест-системах с гистамином ($p < 0,05$). По всем показателям аминергической регуляции CD25+ клеток наблюдались количественные различия в сравниваемых группах.

Во всех тест-системах у больных с ППРС отмечаются статистически значимые более высокие показатели CD4+ клеток, чем при ВПРС течении. Обращают внимание также существенно более высокие значения CD25+ клеток в тест-системах с гистамином и адреналином при ВПРС, что подтверждает существующее представление об участии активационных маркеров в воспалительном и иммунопатологических механизмах при этом типе течения заболевания. Следует отметить, что по уровню экспрессии мембранных маркеров под влиянием биогенных аминов ВПРС отличается от ППРС за исключением клеток с феноменом CD8+, CD20+, CD95+. При ВПРС в тест-системах с адреналином значительно уменьшалось количество CD3+, CD4+ клеток. Однако у больных с ППРС в этой же тест-системе наблюдался больший прирост клеток с маркером CD16+. Под влиянием гистамина выявлено увеличение экспрессирующей способности CD4+, CD56+ клеток в большей мере при ВПРС. Серотонинергическая регуляция, судя по коэффициенту экспрессии, мало различалась между описываемыми группами, за исключением клеток с маркером CD4+, CD25+, CD56+. Необходимо отметить, что при ППРС падает экспрессирующая способность CD25 + клеток во всех тест-системах с биогенными аминами.

В период обострения при ремиттирующем течении заболевания у больных отмечалось нарастание или появление новой очаговой неврологической симптоматики, преимущественно в координаторной и двигательной сферах. Наблюдалась дисфункция тазовых органов, чувствительные нарушения, снижение зрения. Показатель EDSS возрастал на 0,5–1,5 балла. В отличие от стадии ремиссии выявлены более низкие значения показателей клеток с маркерами: CD4+, CD8+, CD56+. В тест-системе с биогенными аминами в период обострения при РРС в отличие от ремиссии отмечалось увеличение клеток с маркерами CD8+. Под влиянием адреналина и гистамина с нарастанием неврологического дефицита увеличивалась экспрессирующая способность CD16+, CD20+, CD56+, CD54+ клеток (рис. 2).

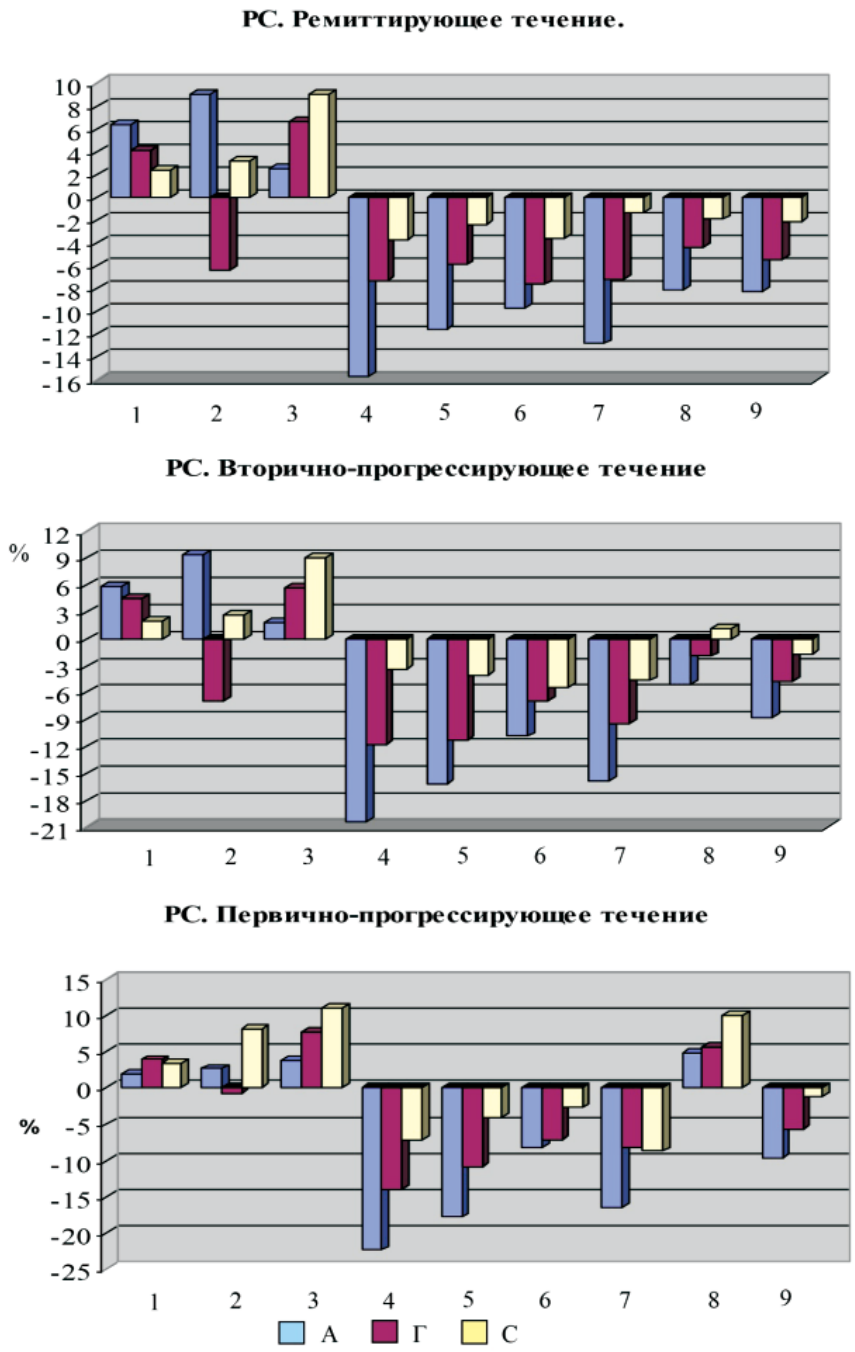

Рис. 1. Коэффициент экспрессии CD3+(1); CD4+(2); CD8+(3); CD16+(4); CD20+(5); CD54+(6); CD56+(7); CD25+(8); CD95+(9) клеток под влиянием биогенных аминов у больных РС с различным течением заболевания

Не выявлено динамики при инкубации лимфоцитов/моноцитов с серотонином в сравниваемых периодах развития заболевания, за исключением CD8+, где экспрессирующая способность снижается в стадии ремиссии ($p < 0{,}045$). Иная картина наблюдалась в период выхода из обострения. Новых симптомов не появлялось, отчетливо уменьшалась выраженность имеющихся неврологических признаков. У большинства больных в клинической картине имелась тенденция к снижению показателя EDSS, признаков атаксии и пирамидной недостаточности. Они в меньшей степени жаловались на чувствительные расстройства. Выявлена определенная динамика изменения экспрессирующей способности МНК. Именно в этот период происходило снижение гистаминергической и серотонинергической чувствительности CD8 + клеток.

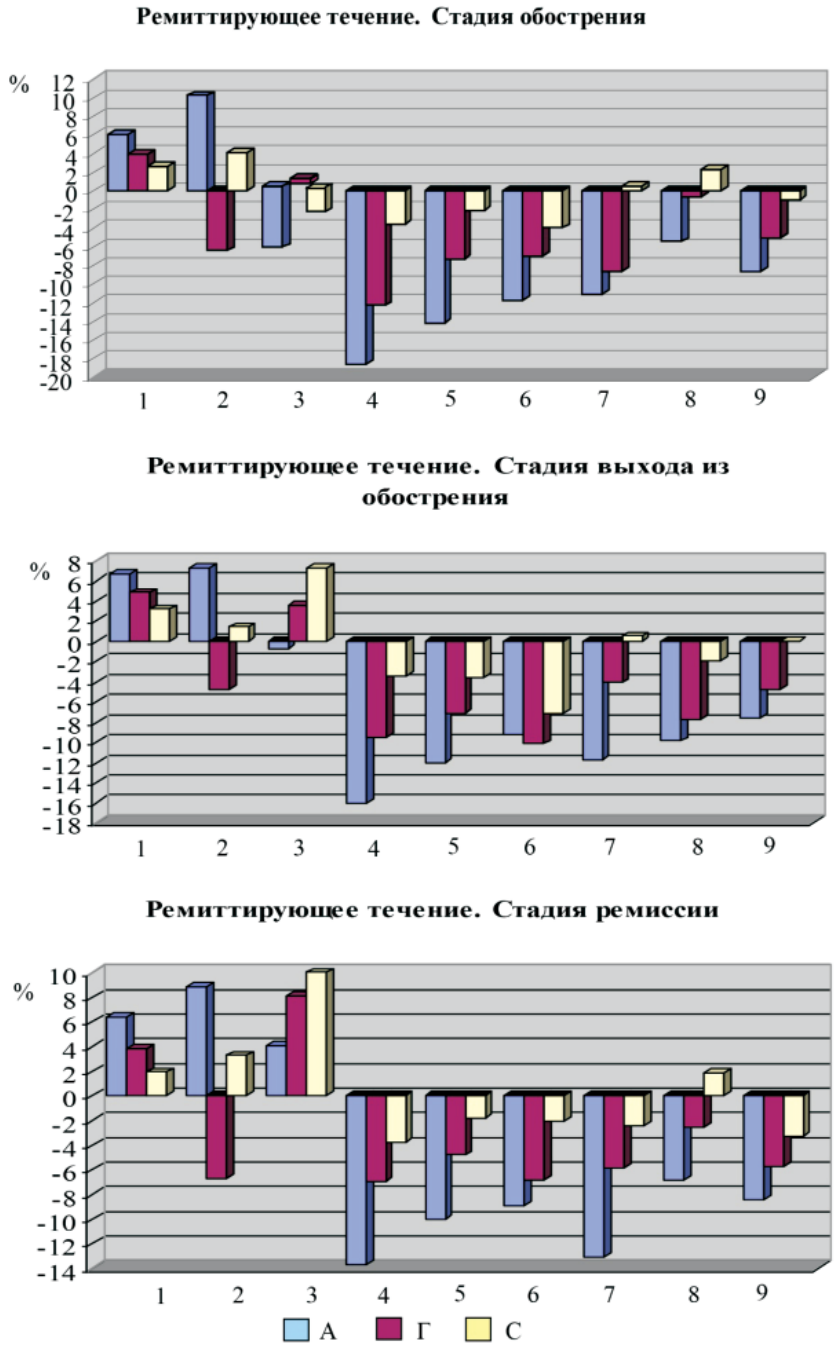

Рис. 2. Коэффициент экспрессии CD3+(1); CD4+(2); CD8+(3); CD16+(4); CD20+(5); CD54+(6); CD56+(7); CD25+(8); CD95+(9) клеток под влиянием биогенных аминов у больных РС с ремиттирующим течением РС

Также отмечено незначительное повышение экспрессии мембранных маркеров при инкубации с гистамином и серотонином CD54+ лимфоцитов, а CD25+ клеток со всеми аминами. С формированием ремиссии значительно снижается в периферической крови количество клеток с маркером CD54+ не только в контроле, но и в нагрузочных тестах по сравнению с периодом выхода из обострения. Характерной особенностью следует считать, что в период ремиссии увеличивается дисбаланс МНК с фенотипом ЕК: CD16+ стремится в коридор нормированных значений, а уровень CD56 + возрастает. С формированием клинической ремиссии изменяется и коэффициент экспрессии мембранных маркеров субпопуляции: CD8+, CD54+, CD25+ прежде всего в тест-системе с гистамином, что может рассматриваться как дополнительный

клинико-лабораторный тест. В этот период в большей мере снижается экспрессирующая способность лимфоцитов с маркером CD8+ во всех тест-системах. В период ремиссии отмечено также уменьшение клеток с маркером CD16+ в нагрузочном тесте с гистамином. Под влиянием гистамина и серотонина снижается экспрессирующая способность CD54+, CD25+ клеток, а серотонинчувствительность CD95+ лимфоцитов возрастает. Полученные данные согласуются с результатами[8], подтвердившими ингибирующий эффект гистамина через рецепторы H1и H2 на активированные к миелину аутореактивные Т-клетки в модели рассеянного склероза. Необходимо отметить отсутствие изменений популяций клеток CD3 + при инкубации со всеми биогенными аминами в динамике иммунопатологических реакций при РРС, что свидетельствует об отсутствии регуляции этого фенотипа клеток биогенными аминами при ремиттирующем течении заболевания.

Заключение

Таким образом, совокупность выявленных клеточных иммунологических изменений у больных РС с различным клиническим проявлением указывает на заинтересованность и полифункциональный характер аминорегуляторных механизмов при этой патологии. Полученные данные могут быть учтены при лабораторной диагностике РС. Необходимо дальнейшее исследование с целью выяснения дискриминирующей возможности биогенных аминов в решении вопросов диагностики и прогнозирования развития заболевания, оценке иммунопатологических механизмов и функциональной активности системы естественной цитотоксичности, а также взаимосвязи аминов с формированием демиелинизирующего, воспалительного и нейродегенеративного компонентов заболевания.

Список литературы

1. Макаров С.В. Некоторые аспекты дизрегуляционной патологии иммунной системы при рассеянном склерозе // Нейроиммунопатология: материалы VI Российской конференции: Москва, 1–2 июня 2010 г. – М., 2010. – С. 51–52; Патогенез. – 2010. – Т. 8. – № 1.

2. Нейроиммунопатология : руководство / Г.Н. Крыжановский, С.В. Магаева, С.В. Макаров, Р.И. Сепиашвили. – М., 2003. – 438 с.

3. Перспективы изучения процессов аминергической регуляции в тест-системах в неврологической клинике / И.П. Балмасова [и др.] // Паллиатив. медицина и реабилитация. – 2003. – № 2. – С. 51–52.

4. Рассеянный склероз: избр. вопр. теории и практики / под ред. И.А. Завалишина, В.И. Головкина. – М., 2000. – 637 с.

5. Роль дофамина в регуляции взаимодействия нервной и иммунной систем при рассеянном склерозе / Е.В. Орлова [и др.] // Журн. неврологии и психиатрии. – 2012. – Вып. 2. – С. 34–40.

6. β-Adrenergic receptor density and function of peripheral blood mononuclear cells are increased in multiple sclerosis : a regulatory role for cortisol and interleukin-1 / Y. Zoukos [et al.] // Annals of Neurology. – 1992. – Vol. 31, № 6. – P. 657–662.

7. Catecholamine levels in peripheral blood lymphocytes from multiple sclerosis patients / C. Rajda [et al.] // Journal of Neuroimmunology. – 2002. – Vol. 124, № 1/2. – P. 93–100.

8. Histamine regulates autoreactive T cell activation and adhesiveness in inflamed brain microcirculation / M. Lapilla [et al.] // Journal of Leukocyte Biology. – 2011. – Vol. 89, № 2. – P. 259–267.

9. Therapy with interferon-β modulates endogenous catecholamines in lymphocytes of patients with multiple sclerosis / M. Zaffaroni [et al.] // Experimental Neurology. – 2008. – Vol. 214, № 2. – P. 315–321.

References

1. Balmasova I.P., Makarov S.V., Tanaeva N.I., Grishina G.V., Kozupitsa G.S. *Palliativ. meditsina i reabilitatsiya*. 2003. no. 2. pp. 51–52.

2. Kryzhanovskiy G.N., Magaeva S.V., Makarov S.V, Sepiashvili R.I. Neyroimmunopatologiya: rukovodstvo. M., 2003. 438 p.

3. Makarov S.V. *Materialy VI Rossiyskoy konferentsii «Neyroimmunnopatologiya»*: M., 1–2 iyunya 2010 g. M., 2010. pp. 51–52; Patogenez. 2010. T. 8. no. 1.

4. Orlova E.V., Paschenkov E.V., Davydovskaya M.V. [i dr.] *Zhurn. nevrologii i psikhiatrii.* 2012. Vyp. 2. pp. 34–40.

5. Rasseyannyy skleroz : izbr. vopr. teorii i praktiki / pod red. I. A. Zavalishina, V. I. Golovkina. M., 2000. 637 p.

6. β-Adrenergic receptor density and function of peripheral blood mononuclear cells are increased in multiple sclerosis: a regulatory role for cortisol and interleukin-1 / Y. Zoukos [et al.] // Annals of Neurology. 1992. Vol. 31, no. 6. pp. 657–662.

7. Catecholamine levels in peripheral blood lymphocytes from multiple sclerosis patients / C. Rajda [et al.] // Journal of Neuroimmunology. 2002. Vol. 124, no. 1/2. pp. 93–100.

8. Histamine regulates autoreactive T cell activation and adhesiveness in inflamed brain microcirculation / M. Lapilla [et al.] // Journal of Leukocyte Biology. 2011. Vol. 89, no. 2. pp. 259–267.

9. Therapy with interferon-β modulates endogenous catecholamines in lymphocytes of patients with multiple sclerosis / M. Zaffaroni [et al.] // Experimental Neurology. 2008. Vol. 214, no. 2. pp. 315–321.

Рецензенты:

Кухтевич И.И., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой неврологии, ГБОУ ДПО «Пензенский институт усовершенствования врачей» Минздрава России, г. Пенза;

Калуцкий П.В., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии, ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России. г. Курск.

Работа поступила в редакцию 03.04.2014.