

УДК 616.832-004.2-008.9-08



## ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОНИЦАЕМОСТИ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ

М. Е. Черненко

ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии» НАМН Украины

**Аннотация.** Крайне важным фактором, определяющим специфику поражений центральной нервной системы при рассеянном склерозе, является гематоэнцефалический барьер. В статье представлены особенности функционирования гематоэнцефалического барьера при рассеянном склерозе. Приведены данные комплексного обследования 135-ти больных с различными типами течения рассеянного склероза, в ходе которого были применены клинические и параклинические методы с оценкой достоверности полученных результатов. В ходе исследования выявлены особенности изменения проницаемости гематоэнцефалического барьера при разных типах течения заболевания на разных стадиях патологического процесса, что имеет большое практическое значение. Сформулированы практические рекомендации.

**Ключевые слова:** рассеянный склероз, гематоэнцефалический барьер, проницаемость, Т-лимфоциты, молекулы адгезии, центральная нервная система.

### Введение

Крайне важным фактором, определяющим специфику поражений центральной нервной системы (ЦНС) при рассеянном склерозе (РС), является гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) [1]. Основной его функцией является обеспечение гомеостаза ЦНС [2]. При РС происходит проникновение активированных клеток через ГЭБ; это многоступенчатый процесс, в начале которого активированные Т-лимфоциты взаимодействуют с молекулами адгезии. Молекулы адгезии представляют собой белки, находящиеся на поверхности клеток эндотелия сосудов. Под их воздействием происходит набухание Т-клеток и прикрепление их к эндотелиальным клеткам сосудов. Затем Т-клетки инфильтрируют сосудистую стенку и секретируют ферменты – металлопротеазы, которые разрушают ее и обеспечивают проникновение Т-лимфоцитов в ЦНС.

Проникновение через поврежденный ГЭБ большого количества аутоагрессивных Т-лимфоцитов, провоспалительных цитокинов, приводит к значительным воспалительным изменениям ЦНС. Длительно существующее повреждение ГЭБ создает условия для возникновения аутоиммунных дегенеративных процессов в ЦНС, что может приводить к накоплению неврологического дефицита и развитию неблагоприятного течения РС.

Таким образом, нормализация проницаемости ГЭБ и ее мониторинг в процессе терапии является важной задачей современной неврологии [3].

В настоящее время для постановки диагноза и оценки состояния больных РС используются клиническо-неврологические

методы и методы дополнительных исследований: МРТ головного и спинного мозга с введением контраста, ЗВП [4, 5]. В критериях постановки диагноза В. Я. МакДональд и соавт. (2010) присутствует определение олигоклональных полос иммуноглобулина G в ликворе. Однако в Украине этот метод широко не используется в силу его инвазивности, относительной дороговизны и частого нежелания пациента проводить люмбальную пункцию. Ни один из методов постановки диагноза не является специфическим для РС, и только комплексная оценка клинических и параклинических методов исследования позволяет верифицировать диагноз.

С целью оценки динамики патологического процесса, эффективности проводимой терапии используют клинические, нейровизуализационные и нейрофизиологические методы. Однако все указанные методы не дают полной и достоверной картины активности патологического процесса [6]. Клинически пациент может определенное время быть компенсирован за счет пластичности нервной системы и расположения очагов демиелинизации в «немых» зонах, что может создавать картину мнимого благополучия.

МР-томографические данные так же могут не полностью отображать активность патологического процесса. В ряде случаев существует феномен «ножниц»: наличие выраженной клинической симптоматики при отсутствии отрицательной динамики по данным МРТ и наоборот. Зрительные вызванные потенциалы (ЗВП) отражают демиелинизирующее поражение зрительного аппарата и могут быть нечувствительны к другим локациям поражения.

*Таким образом, возникает вопрос дополнительных критериев активности патологического процесса, что обусловило актуальность проведенного исследования.*

#### **Материалы и методы исследования**

Основой работы было комплексное обследование 135 больных рассеянным склерозом. Была проведена оценка неврологического статуса испытуемых с использованием шкал EDSS и FS. Во всех группах больных степень инвалидизации была обусловлена, в основном, поражением пирамидной и мозжечковой систем.

В группе больных с рецидивирующе-ремиттирующим типом лечения (РРТ) поражения пирамидной системы наблюдалось в 100% случаев, признаки поражения мозжечка наблюдались у 70,51% больных, нарушение в когнитивной сфере – у 89,99% больных. В группе больных с вторично-прогредиентным типом лечения (ВРТ) поражение пирамидной системы наблюдалось в 100% случаев, поражение мозжечковой системы и нарушение ментальной системы так же наблюдалось у 100,00% больных. У пациентов с первично-прогредиентным типом лечения (ППТ) поражения пирамидной и мозжечковой системы, признаки астении, общей слабости наблюдалось у 100% больных. Обращало на себя внимание нарастание выраженности когнитивных нарушений у больных с ВРТ (3,2 балла) и ППТ (4,1 балла) по сравнению с РРТ (1,5 балла).

Параклинические методы исследования включали в себя МР-томографическое исследование головного мозга, определение уровня альбумина в сыворотке крови и в ликворе, качественное определение иммуноглобулина G в ликворе, определение уровня иммуноглобулина G в крови и в ликворе, определение уровня матриксных металлопротеиназов (ММП-9) в сыворотке крови, исследование ликвора на наличие ДНК нейротропных вирусов.

МРТ была проведена на магнитно-резонансном томографе Sigma, имеющем резистивный магнит с индукцией основного магнитного поля 1,5 Тл. Для контрастного усиления использовалось контрастное вещество «Гадовист».

Качественный состав белков в ликворе был исследован с помощью метода диск-электрофореза в пластинах полиакриламидного геля.

Исследование содержания альбумина в сыворотке крови проводили фотокалориметрическим методом. Выводы о проницаемости гематоэнцефалического барьера и о степени активности воспалительных процессов

делались с помощью расчета альбуминового коэффициента.

Выявление нейротропных вирусов осуществлялось с помощью метода полимеразной цепной реакции.

Для оценки достоверности различий по одному признаку между несколькими выборками одновременно применялся однофакторный дисперсионный анализ ANOVA (Analysis of Variance, анализ вариативности). Для вычисления и сравнения степени влияния (на исследуемые показатели) нескольких факторов одновременно, использовалась многофакторная модель дисперсионного анализа (MANOVA).

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

На «активных» стадиях патологического процесса – обострения и прогрессирования заболевания – наблюдалось снижение уровня альбумина в сыворотке крови при РРТ ( $28,77 \pm 0,70$ ) и нормальные значения на стадиях прогрессирования при ВРТ и ППТ РС. Коэффициент Фишера-Снедекора (F), характеризующий степень влияния стадии заболевания на содержание альбумина, равен  $97,68$  ( $p < 0,001$ ), в то время как при расчете влияния типа течения заболевания на содержание альбумина он равен  $11,94$  ( $p < 0,001$ ). Таким образом, был сделан вывод о том, что стадия заболевания оказывает значительно большее влияние на проницаемость ГЭБ по сравнению с типом течения заболевания.

Нарушения проницаемости ГЭБ при РРТ РС, при котором доминируют воспалительные процессы, более выражены по сравнению с ВРТ и ППТ РС. Содержание иммуноглобулина G на стадиях обострения и прогрессирования заболевания было повышенным до  $1,03 \pm 0,06$  при РРТ РС,  $0,22 \pm 0,03$  – при ВРТ РС и  $0,07 \pm 0,02$  при ППТ РС. При расчете коэффициента F влияния стадии заболевания на содержание иммуноглобулина G  $F = 9,158$ ,  $p < 0,0017$ . Коэффициент влияния типа течения заболевания  $9,468$ ,  $p < 0,001$ .

*Таким образом, был сделан вывод, что на содержание иммуноглобулина G в крови и в ликворе достоверно влияет как стадия, так и тип течения заболевания. Определение иммуноглобулина G в ликворе может быть использовано при верификации диагноза «рассеянный склероз» на разных стадиях заболевания и при разных типах течения.*

При анализе корреляций между показателями проницаемости ГЭБ и баллом инвалидизации у больных РРТ РС были получены данные с высокой степенью достоверности. Обратная корреляция с высокой достоверностью была установлена между содержанием альбумина в сыворотке крови и

баллом EDSS ( $r=-0,525$ ;  $p<0,001$ ). Между содержанием альбумина, альбуминовым коэффициентом в ликворе и баллом EDSS была определена прямая корреляция с высокой достоверностью ( $r=0,492$ ;  $p<0,001$  и  $r=0,500$ ;  $p<0,001$  соответственно). Были установлены прямые корреляции с высокой достоверностью между содержанием иммуноглобулина G в крови, в ликворе, иммуноглобулиновым коэффициентом и баллом по шкале EDSS ( $r=0,458$ ;  $p<0,001$ ,  $r=0,417$ ;  $p<0,001$  и  $r=0,406$ ;  $p<0,001$  соответственно).

В группах с прогрессивными типами течения РС статистически значимых корреляций между показателями проницаемости ГЭБ и баллом EDSS выявлено не было. Это объясняется тем, что при РРТ РС более выражен аутоиммунный воспалительный процесс, при нарастании активности которого на стадиях обострения заболевания увеличивается проницаемость ГЭБ, возрастает выраженность воспалительных изменений в ЦНС, что влечет за собой увеличение степени выраженности инвалидизации. При прогрессивных типах течения РС степень инвалидизации пациентов во многом обусловлена аутоиммунными нейродегенеративными компонентами заболевания, при которых проницаемость ГЭБ имеет меньшее значение.

Наибольшие значения ММП-9 наблюдались в группе больных с РРТ на стадии обострения заболевания ( $381,54\pm 22,19$ ). На стадии ремиссии уровень ММП-9 находился в пределах нормы и составлял  $122,05\pm 7,82$ . На стадиях активности заболевания при ВПТ и ППТ были получены повышенные уровни ММП-9:  $169,98\pm 15,64$  и  $147,03\pm 6,78$  соответственно.

Полученные данные подтверждают, что воспалительные реакции при ВПТ более выражены, чем при ППТ, при котором ведущую роль играют процессы нейродегенерации. При анализе уровня ММП-9 на стадиях стабилизации были получены более высокие уровни при ППТ ( $121,96\pm 10,90$ ), чем при ВПТ ( $114,64\pm 8,43$ ). Это может быть объяснено достаточно большой разницей в количестве больных в группах – в группе ППТ на стадии стабилизации в три раза меньше больных по сравнению с группой на стадии стабилизации ВПТ.

Практически все компоненты иммунной системы с возрастом подвергаются изменениям, которые ведут к снижению ее реактивности. Поэтому не исключено, что особенности течения РС у больных пожилого возраста связаны именно с возрастными особенностями иммунной системы: «старением» лимфоцитов, изменениями цитокинового, гормонального и ферментного профиля. При анализе взаимосвязи уровня ММП-9

в крови больных РС и длительности заболевания была получена обратная корреляция  $r=-0,322$  ( $p=0,0001$ ). Таким образом, чем больше длительность заболевания и возраст больного, тем меньше уровень ММП-9 и активность воспалительных реакций.

Присутствие инфекционного агента с высокой достоверностью ( $p<0,001$ ) влияет на показатели содержания альбумина и иммуноглобулина G в крови и в ликворе больных с РРТ РС и на соответствующие коэффициенты. Влияние инфекционных агентов на содержание альбуминов, иммуноглобулина G и коэффициентов альбумина и иммуноглобулина G было высоко достоверным у больных с ВПТ РС ( $p<0,001$ ). У больных ППТ на содержание альбумина в крови, иммуноглобулина G крови и ликвора инфекционные агенты оказывали достоверное влияние ( $p<0,01$ ); влияние на содержание альбуминов ликвора и альбуминовый коэффициент было также достоверным ( $p<0,001$ ). Статистически значимого влияния на иммуноглобулиновый коэффициент инфекционные агенты при ППТ РС не оказывали.

При проведении анализа показателей МРТ при ремитирующем типе течения заболевания была выявлена диссоциация в виде отсутствия в ряде случаев соответствия периода обострения и увеличения количества «активных» очагов и/или увеличение зоны воспалительных изменений «старых» очагов. Также отмечено периодическое несоответствие периода ремиссии с явлениями «затухания» МРТ-признаков активности процесса (симптом «отсрочки»).

Интересным оказался факт появления «новых» очагов и/или увеличения зоны воспалительных изменений «старых» очагов вне периода обострения (как показатель МРТ прогрессивности и непрерывности процесса). Наличие «черных дыр» – (по T1 взвешенных изображениях) было не характерным для рецидивирующего типа течения и встречалось значительно реже (в 9% случаев), чем при ВПТ и ППТ течения и, как правило, с длительностью заболевания более 10 лет.

При выявлении особенностей МРТ при рецидивирующем типе течения РС были выделены благоприятные и неблагоприятные варианты. К благоприятным признакам отнесены отсутствие видимых очагов демиелинизации без явлений внутренней и наружной гидроцефалии; перивентрикулярные зоны свечения в области задних рогов боковых желудочков без наличия других МРТ-признаков РС. К неблагоприятным томографическим признакам отнесены наличие выраженных атрофических изменений с небольшим количеством очагов; наличие «черных дыр» (по

T1 в/и); значимые атрофические изменения на начальных этапах развития заболевания (в т.ч. мозолистого тела и мозжечка); отсутствие периодов «затухания» МРТ-признаков.

При суммировании результатов по группе больных с вторично-прогредиентным типом течения были выявлены неблагоприятные и благоприятные варианты изменений на МРТ. К благоприятным вариантам нами отнесены незначительные атрофические изменения в области полушарий мозга, малое количество очагов в мозолистом теле с незначительными явлениями его гипотрофии, отсутствие атрофических изменений мозжечка, малое количество «черных дыр» по T1 в/и. К неблагоприятным вариантам были отнесены явления быстро нарастающей внутренней и наружной гидроцефалии атрофического характера, большое количество очагов в стволовых отделах мозга и мозжечке, нарастающая атрофия мозолистого тела и мозжечка, большое количество «черных дыр» (по T1 взвешенных изображений).

Когда речь идет о пациентах с ППТ течением, несомненно, неблагоприятными вариантами МРТ-признаков являются наличие выраженных атрофических изменений больших полушарий мозга, мозолистого тела и мозжечка уже на начальных стадиях развития процесса, большое количество «черных дыр» (по T1 в/и) уже на ранних этапах развития заболевания, быстрое нарастание атрофических изменений мозга. К благоприятным МР-томографическим признакам относятся менее выраженные атрофические изменения полушарий головного мозга.

В настоящее время существует достаточно большое количество препаратов, влияющих на проницаемость ГЭБ. К ним относятся глюкокортикостероиды, которые влияют на молекулы адгезии и уменьшают содержа-

ние ММП-9. Из препаратов группы модифицирующей терапии (ПИТРС) на проницаемость ГЭБ влияют интерфероны бета за счет блокирования молекул адгезии и уменьшения концентрации матриксных протеиназ. К препаратам второй линии, уменьшающим проницаемость ГЭБ, относится натализумаб («Тизабри»), который блокирует взаимодействие молекул адгезии и лимфоцитов.

С учетом исследования проницаемости ГЭБ, нами были сформулированы следующие *практические рекомендации*:

1. При наличии биохимических признаков активности воспалительного процесса при РС (даже при отсутствии клинических и томографических признаков) необходимо провести пульс-терапию ГКС.

2. Длительность кортикостероидной терапии определяется с учетом параметров проницаемости ГЭБ. Сохраняющиеся изменения проницаемости ГЭБ (альбуминовый коэффициент), высокие показатели активности воспалительного процесса (иммуноглобулиновый коэффициент, высокие показатели ММП-9) служат основанием для увеличения длительности пульс-терапии ГКС.

3. При превалировании нейродегенеративных процессов над воспалительными назначение препаратов группы интерферонов представляется менее целесообразным.

4. Верификация инфекционного возбудителя является своеобразным маркером дисфункции иммунной системы. Верифицированный нейротропный агент является показанием к проведению адекватной специфической терапии.

5. Длительно сохраняющиеся признаки повышения проницаемости ГЭБ, нарастание явлений атрофии по данным МРТ являются показанием к эскалации терапии: перехода от препаратов первой линии к препаратам второй линии или комбинированной терапии.

## Литература

1. Dzyuba A. N., Frolov V. M., Peresadin N. A. Patogeneticheskaya rol' tsirkuliruyushchikh immunnykh kompleksov pri РС [The pathogenic role of circulating immune complexes in the РС]. Zhurnal nevropatologii i psikiatrii im. S. S. Korsakova, 1994, issue 2, pp. 53-55. (In Russ.)
2. Gol'dshteyn N. I., Gol'dshteyn R., Terterov D., Kamenskiy A. A., Kovalev G. I., Zolotarev Yu. A. Gematoentsefalicheskiy bar'er otkryt [Blood-brain barrier is opened]. Biokhimiya, 2012, vol. 77, issue 5, pp. 525-532. (In Russ.)
3. Voloshina N. P., Vasilovskiy V. V., Chernenko M. E. Vliyaniye infektsionnogo faktora na sostoyaniye gematoentsefalicheskogo bar'era u bol'nykh rasseyannym sklerozom [Influence of infectious factors on the condition of the blood-brain barrier in multiple sclerosis patients]. Ukrai'ns'kyj visnyk psyhonevrologii', 2013, vol. 21, issue 1(74), pp. 5-6. (In Russ.)
4. Voloshina N. P., Negreba T. V., Levchenko I. L., Shestopalova L. F., Tereshchenko L. P., Fedoseev S. V., Vasilovskiy V. V., Lekomtseva E. V., Gaponov I. K., Chernenko M. E., Borodavko O. A., Vel'kovskaya L. I., Vorob'eva T. G. Gendernyye osobennosti raznykh tipov techeniya rasseyannogo skleroza [Gender characteristics of the different types of MS disease]. Ukrai'ns'kyj visnyk psyhonevrologii', 2012, vol. 20, issue 3(72), pp. 13-18. (In Russ.)
5. Negrych T. I., Sorokin B. V., Jevtushenko S. K. Diagnostyka ta terapiya rozsiyanogo sklerozu [Diagnosis and therapy of multiple sclerosis]. Mezhdunar. nevrolog. zhurnal, 2012, no. 3(49), pp. 158-161. (In Ukr.)
6. Grigorova I. A., Spivak V. G. Rasprostranennost' rasseyannogo skleroza v Khar'kovskoy oblasti [The prevalence of multiple sclerosis in the Kharkiv region]. Eksperymental'na i klinichna medycyna, 2003, no. 1, pp. 104-106. (In Russ.)

**ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОНИКНОСТІ ГЕМАТОЕНЦЕФАЛІЧНОГО БАР'ЄРУ ПРИ РОЗСІЯНОМУ СКЛЕРОЗІ**

М. Є. Черненко  
ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології» НАМН України

**Анотація.** Гематоенцефалічний бар'єр є важливим фактором, що визначає специфіку уражень центральної нервової системи при розсіяному склерозі. У статті наведено особливості функціонування гематоенцефалічного бар'єру при розсіяному склерозі. Представлено дані комплексного обстеження 135-ти хворих з різними типами перебігу розсіяного склерозу, в ході якого було застосовано клінічні та параклінічні методи з оцінкою достовірності отриманих результатів. Під час дослідження виявлено особливості змін проникності гематоенцефалічного бар'єру при різних типах перебігу захворювання на різних стадіях патологічного процесу, що має велике практичне значення. Сформульовано практичні рекомендації.

**Ключові слова:** розсіяний склероз, гематоенцефалічний бар'єр, проникність, Т-лімфоцити, молекули адгезії, центральна нервова система.

**BLOOD-BRAIN BARRIER PERMEABILITY STUDY IN MULTIPLE SCLEROSIS**

M. E. Chernenko  
GI Institute of Neurology, Psychiatry and Addiction Medical Sciences of Ukraine

**Summary.** Blood-brain barrier is an important factor in determining the specificity of the central nervous system lesions in multiple sclerosis. In the article were described the features of functioning of the blood-brain barrier in multiple sclerosis (MS). The data of complex examination of 135 patients with different types of MS, which have been applied clinical and paraclinical methods with evaluation of reliability of the results. The study identified particular changes in permeability of the blood brain barrier at different types of the disease at different stages of the pathological process, that had great practical importance. Practical recommendations were formulated.

**Keywords:** multiple sclerosis, blood-brain barrier permeability, T-lymphocytes, adhesion molecules, the central nervous system.