УДК 616.832-004.2-076-092

DOI: 10.17816/pmj38448-53

ДИНАМИКА ИНТЕРЛЕЙКИНА-17 У ПАЦИЕНТОВ С РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ И ДВУХФАЗНАЯ МОДЕЛЬ ПАТОГЕНЕЗА ЗАБОЛЕВАНИЯ

Т.В. Байдина¹, Н.В. Сурсякова², М.В. Данилова^{1*}, Т.Н. Трушникова¹, Е.М. Куклина³

¹Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера,

²Пермская краевая клиническая больница,

³Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Россия

DYNAMICS OF INTERLEUKIN-17 IN PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS AND TWO-PHASE MODEL OF DISEASE PATHOGENESIS

T.V. Baidina¹, N.V. Sursyakova², M.A. Danilova^{1*}, T.N. Trushnikova¹, E.M. Kuklina³

¹E.A. Vagner Perm State Medical University,

²Perm Regional Clinical Hospital,

³Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Russian Federation

Цель. Изучение концентрации провоспалительного цитокина интерлейкина-17 в сыворотке крови у больных рассеянным склерозом.

Материалы и методы. Обследовано 68 пациентов с рассеянным склерозом. Произведена оценка выраженности неврологического дефицита по EDSS и MSFC. Определена концентрация интерлейкина-17 в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа.

Результаты. Установлено, что у пациентов с рассеянным склерозом нормальная в целом по группе концентрация интерлейкина-17 в сыворотке крови обусловлена влиянием иммуномодулирующей терапии, а также снижением активности воспалительных процессов с нарастанием длительности заболевания.

© Байдина Т.В., Сурсякова Н.В., Данилова М.В., Трушникова Т.Н., Куклина Е.М., 2021

тел. +7 902 640 61 72

e-mail: m.a.danilova82@mail.ru

[Байдина Т.В. – доктор медицинских наук, профессор кафедры неврологии и медицинской генетики; Сурсякова Н.В. – врач отделения неврологии; Данилова М.А. (*контактное лицо) – кандидат медицинских наук, доцент кафедры неврологии и медицинской генетики; Трушникова Т.Н. – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры неврологии и медицинской генетики; Куклина Е.М. – доктор биологических наук, старший научный сотрудник].

© Baidina T.V., Sursyakova N.V., Danilova M.A., Trushnikova T.N., Kuklina E.M., 2021

tel. +7 902 640 61 72

e-mail: m.a.danilova82@mail.ru

[Baidina T.V. – MD, PhD, Professor, Department of Neurology and Medical Genetics; Sursyakova N.V. – physician, Neurological Unit; Danilova M.A. (*contact person) – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Neurology and Medical Genetics; Trushnikova T.N. – Candidate of Medical Sciences, Assistant, Department of Neurology and Medical Genetics; Kuklina E.M. – Doctor of Biological Sciences, senior researcher].

Выводы. Выявлено, что терапия ПИТРС наиболее эффективна на ранних этапах заболевания, на более поздних особую роль играют мероприятия, связанные с нейротрофической поддержкой.

Ключевые слова. Рассеянный склероз, иммуноферментный анализ, интерлейкин-17.

Objective. To study the concentration of the pro-inflammatory cytokine interleukin-17 in the blood serum of patients with multiple sclerosis.

Materials and methods. 68 patients with multiple sclerosis were examined. The severity of neurological deficit was assessed by EDSS and MSFC. The concentration of interleukin-17 in the blood serum was determined by the method of enzyme-linked immunosorbent assay.

Results. It was found that in patients with multiple sclerosis, the concentration of interleukin-17 in the blood serum, normal in the group as a whole, was induced by the effect of immunomodulatory therapy as well as the decrease in the activity of inflammatory processes with an increase in the duration of disease.

Conclusions. It was found that MDDMS therapy is most effective in the early stages of the disease; in the later stages, activities associated with neurotrophic support play a special role.

Keywords. Multiple sclerosis, enzyme immunoassay, interleukin-17.

ВВЕДЕНИЕ

Цитокины – информационные молекулы, которые обеспечивают дистанционное взаимодействие между клетками иммунной системы. В повреждении нервной ткани при рассеянном склерозе (РС) участвуют провоспалительные цитокины: интерлейкин (ИЛ)-2, ИЛ-12, ИЛ-23, интерферон гамма, фактор некроза опухолей альфа (ФНО- α), ИЛ-6, ИЛ-22, ИЛ-17. Эти вещества вызывают повышение проницаемости ГЭБ, миграцию клеток в очаг воспаления, повышение пролиферации аутоиммунных клеток [5]. Интересна роль ИЛ-17, который вырабатывают Th17 и минорная субпопуляция В-клеток. ИЛ-17 представляет собой цитокин, защищающий ткани организма от внеклеточных бактериальных и грибковых инфекций и играющий важную роль в воспалении [4]. ИЛ-17 индуцирует выработку гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF) и хемокинов, активирует Т-клетки и нейтрофилы. Выявлена связь содержания в нервной системе клеток, продуцирующих ИЛ-17, и активности аутоиммунных заболеваний, в том числе и РС [6]. В экспериментальных моделях была показана роль ИЛ-17 в демиелинизации посредством

активации микроглии и привлечения гранулоцитов в очаг воспаления [7].

В настоящее время принята двухфазная модель патогенеза РС. В первой фазе значительно преобладают процессы воспаления с частыми обострениями и ремиссиями и появлением множества очагов на магнитно-резонансной томографии (МРТ). Показано, что уже на этом этапе и даже в самой дебютной его фазе – на стадии клинически изолированного синдрома – имеется аксональное повреждение. Однако оно выражено незначительно и частично обратимо. Во второй же фазе превалируют нейродегенеративные процессы, проявляющиеся в неуклонном прогрессировании неврологических расстройств, отсутствии (или снижении) активности процесса по данным МРТ, нарастающей атрофии головного и спинного мозга. Взаимосвязь нейродегенерации и воспаления обсуждается в литературе [1, 3]. Рассматриваются различные механизмы развития нейродегенерации [2]. Безусловный интерес представляет определение преобладающего компонента повреждения нервной ткани на каждом этапе заболевания у конкретного пациента, так как терапевтические возможности в отношении коррекции воспаления и нейродегенерации различны.

Цель исследования – определить динамику концентрации ИЛ-17 в сыворотке крови пациентов с РС, сопоставить ее с клиническими проявлениями заболевания и оценить возможность использования этого показателя в качестве маркера трансформации его патогенеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего обследован 81 человек, из них 68 – пациенты с диагнозом РС и 13 – здоровые доноры. Для исследования был использован дизайн открытого поперечного контролируемого исследования. Обследование пациентов было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава РФ. Все пациенты были осведомлены о целях и методах работы, возможных рисках и подписали информированное согласие перед исследованием.

Критериями включения в основную группу были: возраст от 18 до 60 лет, ремиттирующе-рецидивирующий тип течения РС, отсутствие обострения РС в период исследования и за 30 дней до него, достоверный диагноз РС соответственно критериям McDonald (2010), подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения из основной группы: возраст моложе 18 и старше 60 лет, первично-прогрессирующий и вторично-прогрессирующий тип РС, установленная беременность на момент исследования, сопутствующие аутоиммунные, онкологические и тяжелые соматические заболевания, острые воспалительные заболевания или обострение РС на момент исследования, прием глюкокортикоидной терапии менее чем за 30 дней до исследования.

Все пациенты с диагнозом РС, принявшие участие в исследовании, удовлетворяли критериям включения.

Достоверный диагноз РС основывался на критериях McDonald (2010), данных анамнеза, клинического обследования и результатов МРТ-исследований головного и спинного мозга. Критерии диагностики доказывали распространенность процесса во времени и пространстве при исключении альтернативных диагнозов. Клиническое обследование пациентов включало сбор данных о длительности заболевания, частоте обострений, симптомов в дебюте заболевания. Всем пациентам с РС была проведена оценка неврологического статуса по шкале EDSS (Expanded Disability Status Scale). Тестирование функциональных возможностей верхних и нижних конечностей, а также когнитивных функций проводилось по MSFC (Multiple Sclerosis Functional Composite). В исследуемой группе было 40 (59 %) женщин и 28 (41 %) мужчин в возрасте 20–57 лет. Средняя продолжительность заболевания составила 6,0 (3,0;10,0) г., частота обострений 0,60 (0,38;1,00) в год, среднее значение EDSS – 3,00 (2,00; 4,00) балла с диапазоном индивидуальных значений 1,00–6,00 балла. В зависимости от характера терапии выделено четыре группы пациентов:

– 1-я группа – 19 человек, принимавших интерфероны бета в течение не менее 6 месяцев (Интерферон бета-1a по 12 000 000 МЕ (44 мкг) 0,5 мл внутримышечно три раза в неделю, интерферон бета-1a по 6 000 000 МЕ (30 мкг) 1 мл внутримышечно один раз в неделю, интерферон бета-1b 9 600 000 МЕ (30 мкг) по 1 мл внутримышечно через день);

– 2-я группа – 18 человек, которые принимали глатирамера ацетат в течение не менее 6 месяцев по 20 мг один раз в день в виде инъекции;

– 3-я группа – 20 человек, получавших натализумаб в течение не менее 6 месяцев (300 мг в виде внутривенной инфузии один раз в 28 дней);

– 4-я группа – 11 человек, не получающие препараты, изменяющие течение РС (ПИТРС), в течение как минимум 6 месяцев до начала исследования. В эту группу вошли пациенты, которым диагноз РС был поставлен недавно, и иммуномодулирующая терапия только планировалась, либо пациенты, отказавшиеся от ПИТРС по различным соображениям (плохая переносимость, личные особенности пациентов).

Эти четыре группы не отличались между собой по возрасту, половому составу, длительности заболевания, частоте обострений и значению EDSS. Однако пациенты без лечения ожидаемо отличались от пациентов с ПИТРС в целом по данным трех последних показателей.

В сыворотке крови была исследована концентрация ИЛ-17 с помощью набора «ИФА- ИЛ-17А» производства ООО «Цитокин», Россия, методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., USA). Ввиду небольшого объема выборок и неправильного распределения значений были использованы непараметрические статистические методы. Для описания количественных признаков использовался формат с указанием медианы, первого и третьего квартиля – Me (UQ ; LQ). Сравнительный анализ полученных в ходе исследования количественных данных в двух независимых группах был выполнен с использованием U -критерия Манна – Уитни, в трех и более – по анализу ANOVA, а в случае сравнения по-

казателей в группе использовался критерий Уилкоксона. Корреляционный анализ произведен при помощи рангового коэффициента Спирмена (R). Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У пациентов с РС уровень ИЛ-17 в сыворотке крови был 39,75 (18,6; 70,81) пг/мл, а у здоровых добровольцев – 48,05 (39,75; 124,48) пг/мл, разница между ними оказалась статистически не значимой ($p = 0,150$). Нормальное значение воспалительного цитокина в группе в целом у пациентов с воспалительным характером заболевания объясняется результатами предпринятого анализа.

Прием терапии первой линии одинаково влиял на продукцию ИЛ-17, приближая ($p < 0,05$) его концентрацию в сыворотке крови к значению здоровых доноров: интерфероны бета – 51,62 (11,63; 70,80) пг/мл, глатирамера ацетат – 43,37 (32,67; 56,39). У пациентов, принимавших натализумаб, было отмечено более выраженное снижение ИЛ-17 – 24,45 (16,28; 37,38) пг/мл, чем у пациентов, получающих глатирамера ацетат, и было ниже, чем у пациентов без терапии – 78,06 (65,98; 175,40) пг/мл. Более того, концентрация ИЛ-17 в сыворотке крови при лечении натализумабом была даже ниже, чем у здоровых доноров, что отражает эффективность данного препарата в подавлении аутоиммунитета. Таким образом, нормальное содержание изучаемого воспалительного цитокина, отчасти, объясняется ПИТРС, которые получали пациенты, при этом натализумаб – препарат второй линии – подтвердил свой выраженный противовоспалительный эффект, превосходящий возможности препаратов первой линии.

Достоверных корреляционных связей уровня ИЛ-17 с клиническим состоянием пациентов не было выявлено. Однако установлена тенденция связи уровня ИЛ-17 с состоянием церебральной функциональной системы ($R = 0,23$; $p = 0,061$), а также со скоростью выполнения девятилуночного теста ($R = -0,21$; $p = 0,088$). Есть предположение, что данная тенденция обрела бы характер закономерности при увеличении численности обследованных либо при анализе показателей при разделении пациентов по длительности заболевания, поскольку, как это будет показано в дальнейшем, на значения концентрации ИЛ-17 существенно влияет стаж болезни.

При проведении корреляционного анализа установлена обратная связь концентрации ИЛ-17 в сыворотке с длительностью заболевания ($R = -0,26$; $p = 0,035$) – концентрация ИЛ-17 снижается в процессе течения РС. Результаты корреляционного анализа подтверждены сравнительным анализом: по содержанию ИЛ-17 пациентов разделили на две группы относительно значения медианы здоровых доноров. В первой группе значение ИЛ-17 было ниже медианы (от 0 до 48,05 пг/мл), в нее вошел 41 человек (среднее значение концентрации ИЛ-17 – 23,29 (11,64; 37,39) пг/мл), во вторую группу вошли 27 пациентов с ИЛ-17 $\geq 48,05$ пг/мл (среднее значение концентрации ИЛ-17 – 73,22 (56,40; 185,73) пг/мл). Стаж болезни был существенно ($p = 0,001$) меньше у пациентов с высокой концентрацией (4,0 (2,0;7,0) г.) по сравнению с больными с низкой концентрацией (7,0 (5,0;11,0) г.) ИЛ-17 в сыворотке крови. Выявленная закономерность объясняет нормальное значение концентрации ИЛ-17 в группе обследованных больных в целом, ибо высокая концентрация воспалительного интерлейкина на ранних этапах болезни нивелируется ее последующим снижением.

Кроме того, установленная закономерность подтверждает современное представление о снижении значения воспалительных механизмов в развитии заболевания на его поздних этапах. Для определения клинических коррелятов, соответствующих снижению значения воспаления и встраиванию нейродегенеративных механизмов в патогенез заболевания, было проведено сравнение концентрации ИЛ-17 в сыворотке крови у пациентов с разным уровнем EDSS. Для этого всех пациентов с РС поделили на три группы. В первую вошли 18 пациентов с минимальными проявлениями заболевания (EDSS до 2 баллов включительно), во вторую – 25 больных со значениями EDSS от 2,5 до 3,5 балла, а в третью – 25 человек с EDSS, равной или превышающей 4 балла. Средние значения концентрации ИЛ-17 в этих группах составили соответственно 57,60 (18,61; 175,42); 49,24 (25,62; 70,80) и 27,97 (16,28; 39,75) пг/мл. При сравнении методом ANOVA установлено достоверно высокое содержание ИЛ-17 у пациентов с небольшим баллом по EDSS ($p = 0,049$) с последующим снижением.

Выводы

1. У пациентов с РС нормальное среднее значение ИЛ-17 объясняется корригирующим влиянием иммуномодулирующей терапии, особенно препаратом второй линии – натализумабом, а также существенным снижением этого провоспалительного цитокина в процессе развития заболевания, когда уменьшается значение воспалительных механизмов в прогрессировании РС, и основную роль начинают играть механизмы нейродегенерации.
2. Эта трансформация патогенеза заболевания происходит достаточно рано – уже при достижении EDSS значения 2 баллов.

3. Вследствие этого терапия ПИТРС наиболее эффективна на ранних этапах заболевания, на более поздних – особое значение приобретают мероприятия, связанные с нейротрофической поддержкой.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кичерова О.А., Рейхерт Л.И., Ревнивых М.Ю. Нейродегенерация при рассеянном склерозе и способы ее коррекции. Академический журнал Западной Сибири 2019; 15 (4–81): 46–47.

2. Трушников Т.Н., Медведева Е.Л., Байдина Т.В., Данилова М.А. Мозговой и цилиарный нейротрофические факторы у больных рассеянным склерозом. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова 2014; 114 (10–2): 33–36.

3. Шмидт Т.Е. Нейродегенерация при рассеянном склерозе и нейропротективное действие глатирамера ацетата (обзор литературы). Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. 2012; 112 (9–2): 123–128.

4. Beringer A., Noack M., Miossec P. IL-17 in Chronic Inflammation: From Discovery to Targeting. *Trends in Molecular Medicine* 2016; 22 (3): 230–241.

5. Dendrou C.A., Fugger L., Friese M.A. Immunopathology of multiple sclerosis. *Nature Reviews Immunology* 2015; 15: 545–558.

6. Zenobia C., Hajishengallis G. Basic biology and role of interleukin-17 in immunity and inflammation. *Periodontol* 2015; 69: 142–159.

7. Zimmermann J., Emrich M., Krauthausen M. IL-17A Promotes Granulocyte Infiltration, Myelin Loss, Microglia Activation, and Behavioral Deficits During Cuprizone-Induced demyelination. *Molecular neurobiology* 2018; 55 (2): 946–957.

REFERENCES

1. Kicherova O.A., Reykbert L.I., Revniykh M.Yu. Neurodegeneration in multiple sclerosis and methods of its correction. *Akademicheskiiy zhurnal Zapadnoy Sibiri* 2019; 15 (4–81): 46–47 (in Russian).

2. Trushnikova T.N., Medvedeva E.L., Baydina T.V., Danilova M.A. Brain and ciliary neurotrophic factors in patients with multiple sclerosis. *Journal of Neurology and Psychiatry C.C. Korsakov* 2014; 114 (10–2): 33–36 (in Russian).

3. Schmidt T.E. Neurodegeneration in multiple sclerosis and the neuroprotective effect of glatiramer acetate (literature review). *Journal of Neurology and Psychiatry C.C. Korsakov. Special issues* 2012; 112 (9–2): 123–128 (in Russian).

4. Beringer A., Noack M., Miossec P. IL-17 in Chronic Inflammation: From Discovery to Targeting. *Trends in Molecular Medicine* 2016; 22 (3): 230–241.

5. Dendrou C.A., Fugger L., Friese M.A. Immunopathology of multiple sclerosis. *Nature Reviews Immunology* 2015; 15: 545–558.

6. Zenobia C., Hajishengallis G. Basic biology and role of interleukin-17 in immunity and inflammation. *Periodontol* 2015; 69: 142–159.

7. Zimmermann J., Emrich M., Krauthausen M. IL-17A Promotes Granulocyte Infiltration, Myelin Loss, Microglia Activation, and Behavioral Deficits During Cuprizone-Induced demyelination. *Molecular neurobiology* 2018; 55(2): 946–957.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Материал поступил в редакцию 10.08.2021