

пато-генеза и этиологии обособленных нозологических форм невритов.

Ключевые слова: периферический отдел нервной системы, Неуробекс® Нео, реовазография, электронейромиография.

*Y. Holovchenko, O. Asaulenko, T. Kolosova,
T. Riabichenko, O. Hurmak*

Vitamin B group using in complex treatment of peripheral nervous system diseases

**Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education,
Kyiv Clinical Hospital N9**

Introduction. The problem of diseases of the peripheral nervous system (PNS) remains relevant and generates considerable interest of scientists and physicians. Unfortunately, until recently, there is no have no effective treatment of such diseases. Therefore, a we called attention to the pharmacological preparation containing eight vitamin components, which affect structural and functional restoration of the nerve fibers of the peripheral nerve.

Aim. To compare the efficacy of treatment of PNS disorders by standard drug regimens and treatment by the preparation Neurobex Neo (manufactured by Actavis Group).

Results. The analysis of pharmacotherapy, clinical and paraclinical (rheovasography, electroneuromyography) parameters in 30 patients with various diseases of the peripheral nervous system showed that Neurobex Neo enhances the therapeutic efficacy of the basic treatments.

Conclusions. Neurobex Neo enhances the therapeutic efficacy of the basic treatments of PNS pathology. The effectiveness of treatment is determined by the adequate concomitant therapy taking into account all parts of the pathogenesis and etiology of separate nosologic types of neuritis.

Key words: peripheral nervous system, neurobex neo, rheovasography, electro-neuromyography.

Відомості про авторів:

Головченко Юрій Іванович – д. мед.н., професор, завідувач кафедри неврології №1 НМАПО імені П.Л.Шупика. Адреса: Київ, вул. Ризька, 1, КМКЛ №9, тел.: (044) 440-10-44.

Асауленко Олена Ігорівна – завуч кафедри неврології №1, доцент, НМАПО імені П.Л.Шупика. Адреса: Київ, вул. Ризька, 1, КМКЛ №9, тел.: (044) 440-10-44.

Колосова Тетяна Володимирівна – доцент кафедри неврології №1 НМАПО імені П.Л.Шупика. Адреса: Київ, вул. Ризька, 1, КМКЛ №9, тел.: (044) 440-10-44.

УДК 616.832-004.2 -073.756.8:612.66

© Т. О. КОБИСЬ, 2014

Т. О. Кобись

КЛІНИКО-ІМУНОЛОГІЧНІ ПРОЯВИ АКТИВНОСТІ ДЕМІЄЛІНІЗУЮЧОГО ПРОЦЕСУ У ХВОРИХ НА РОЗСІЯНИЙ СКЛЕРОЗ

**Київський міський центр розсіяного склерозу,
Київська міська клінічна лікарня №4**

Вступ. Сучасні уявлення про патогенез розсіяного склерозу (РС) підтверджують розвиток імунопатологічних реакцій у нервовій тканині. Подальше вивчення

НЕВРОЛОГІЯ

клініко-імунологічних ознак активності демієлінізуючого процесу є надзвичайно актуальним.

Мета. Визначення взаємозв'язку між клінічними і імунологічними ознаками активності перебігу РС.

Матеріали і методи. Обстежено 72 хворих з РС. Визначали частоту загострень, рівень EDSS. Дослідження синтезу і секреції прозапальних та протизапальних цитокінів ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-10, ФНП-альфа, ІФН-гамма проводили в культурі мононуклеарів людини. За допомогою програмного пакету Statistica 10,0 проведений кореляційно-регресійний аналіз, прогностичне значення показників клінічної активності захворювання.

Результати. Було виявлено прямий сильний кореляційний взаємозв'язок між рівнем ІЛ-1, ІФН- γ і кількістю зареєстрованих загострень на рік ($r_s = 0,753$ і $r_s = 0,7$ ($p < 0,05$) відповідно). Кореляційний зв'язок між рівнем інтерлейкінів і ступенем інвалідації пацієнтів за шкалою EDSS був відсутній. У хворих з низьким рівнем загострень (< 2 на рік) зберігається достовірно високий ($p < 0,05$) рівень цитокіну ІЛ-10 ($6,06 \pm 0,45$ пг/мл) порівняно з пацієнтами, які мають більш активний перебіг захворювання ($2,1 \pm 0,33$ пг/мл), що підтверджує його протизапальну функцію.

Висновки. Імунопатологічний процес при РС має безперервний перебіг, на що вказує стійке підвищення прозапальних цитокінів у хворих з активним перебігом захворювання і сильний кореляційний зв'язок рівня цитокінів з кількістю загострень захворювання на рік.

Ключові слова: рецидивуюче-ремітуючий розсіяний склероз, частота загострень, цитокіни

ВСТУП

Розсіяний склероз (РС) - хронічне запальне автоімунне демієлінізуюче захворювання ЦНС. При РС активовані Т-лімфоцити долають гематоенцефалічний бар'єр і призводять до утворення характерних запальних вогнищ в головному мозку. З імунологічної точки зору хронічне запалення при РС представляється запальним процесом з невизначеним строком закінчення [2]. Одним з факторів персистенції запального інфільтрату в ЦНС є продукція *in situ* підтримують прозапальних факторів - цитокінів, які попереджають видалення імунокомпетентних клітин, що надійшли в ЦНС з крові [1,2].

Сучасні уявлення про патогенез РС підтверджують розвиток імунопатологічних реакцій у нервовій тканині. Зміни імунного статусу у пацієнтів з РС знаходяться в залежності від стадії захворювання та характеру його перебігу. Особливу увагу дослідники приділяли вивченню рівня в крові хворих РС вмісту Т-хелперів і Т-супресорів [2]. Теоретично передбачалося, що у хворих РС повинно бути зменшений вміст Т-супресорів і підвищений вміст Т-хелперів, що і було встановлено [14, 17]. Однак, зниження рівня Т-супресорів було виявлено тільки у 50% хворих в період загострення [2,6,7].

Останнім часом у літературі обговорюється значення порушення балансу про-і протизапальних цитокінів в патогенезі РС [12]. Приділяється увага підвищенню активності Тх1 - лімфоцитів і моноцитів і продукції імунокомпетентними клітинами прозапальних цитокінів ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-12, ФНП - альфа, ІФН - гамма. У патогенезі РС важливе значення займає порушення цитокінової регуляції як інтратекальної так і периферичних механізмів імунної відповіді. Наприклад, у зразках мозку хворих РС знайдені відсутні в нормі при інших неврологічних захворюваннях незапального характеру клітинно-асоційовані форми ФНП- альфа та ІЛ - 1. Продукція ІЛ-1 була зареєстрована і в гістологічно незмінній паренхімі мозку хворих РС, але

найбільш активна продукція цього цитокіну зареєстрована саме в активних вогнищах. Гістохімічні дослідження показали, що в мозку хворих РС ІЛ-1 з'являється на макрофагах в центрі осередків і в мікроглії. Вказується, що відчутне підвищення рівня ІЛ-1 в сироватці крові та лікворі частіше спостерігається при активному перебігу захворювання [4,9]. У більшості досліджень відзначено підвищення вмісту ІЛ-6 в лікворі хворих РС. Механізми участі ІЛ-6 у патогенезі РС можуть бути пов'язані з характерними для цього захворювання ознаками поліклональної активації В-системи імунітету.

У той же час деякі дослідники вважають, що ІЛ-6 впливає на диференціювання нейронів і ремієлінізацію і підвищення його продукції має протизапальний характер. ІЛ-10 продуцирується хелперами 2 типу, в меншій мірі - макрофагами і В- клітинами [4]. Основними властивостями ІЛ-10 є стимуляція гуморального і пригнічення клітинного імунітету. Цей цитокін володіє супресорних дією на аутоантигенами презентацію, Т-клітинну - опосередковану імунну реактивність, продукцію протизапальних цитокінів макрофагами і Т-хелперами 1 типу.

Таким чином, ІЛ-10 має виражену протизапальну дію. Однак, суперечливі результати, які отримані при дослідженні динаміки експресії ІЛ-10 клітинами крові та ліквору хворих РС, залишають відкритим питання про значення цього цитокіну в патогенезі РС [7,8]. ФНП-альфа є цитотоксическим для олигодендроцитів і може надавати безпосередньо шкідливу дію на мієлін. Продукція ФНП-альфа в тканинах мозку характерна для РС і досягає максимуму в хронічних вогнищах з реактивацією процесу по краях Макрофаги в центрі осередків і мікроглія в гістологічно незміненій паренхімі також здатна виробляти ФНП-альфа. Дослідження проукції ФНП-альфа культурами клітин крові виявляє більш високий рівень порівняно з контролем [7]. ІФН-γ є плейотропних цитокіном, який синтезується, головним чином, активованими Т-хелперами 1 типу в результаті стимуляції Т-клітинними митогенами і специфічними вірусними агентами . Пік вироблення ІФН-γ становить 72 години після антигенної стимуляції [6].

У кінцевому результаті ми не маємо жодного параметра, який би остаточно визначав ступінь активності захворювання. Існує дисоціація клінічних та МРТ проявів активності захворювання. Клінічно безсимптомні гострі поразки є частим явищем, яке спостерігається за даними різних авторів [2,10,11,13] в 5-10 разів частіше, ніж рецидиви. Тому, подальше вивчення взаємозв'язку клініко-імунологічних ознак активності демієлінізуючого процесу у хворих на розсіяний склероз протягом тривалого періоду спостереження за пацієнтами є надзвичайно актуальним.

Мета. Визначення взаємозв'язку між клінічними і імунологічними ознаками активності перебігу РС.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Обстежено 72 хворих (40 жінок і 32 чоловіків) з рецидивуюче - ремітуючим типом перебігу РС, які спостерігалися в Київському міському центрі розсіяного склерозу на базі міської клінічної лікарні № 4 протягом 2005 - 2013 рр. Діагноз РС встановлювався на підставі критеріїв McDonald et al., 2005 р. Вираженість неврологічних симптомів оцінювали за шкалою EDSS (Kurtzke J., 1983 р.)

Дослідження синтезу і секреції прозапальних та протизапальних цитокінів ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-10, ФНП-альфа, ІФН-гамма проводили в культурі мононуклеарів людини. Останні були отримані зі свіжої культури

НЕВРОЛОГІЯ

гепаринізованої крові шляхом центрифугування в градієнті щільності «Histopaque -1077» («Sigma», США). 5×10^6 /мл клітин були суспендізовані в збагаченому культурному середовищі RPMI - 1640 («Gibco», США) з 5 % термоінактивованою сироваткою телят (FNS) і інкубували при 37°C протягом 1 години. Неагрегантні клітини були відмиті з культурального планшета, а залишилися клітини в збагаченому середовищі RPMI - 1640 з додаванням 10 мкг / мл ліпополісахариду («Sigma», США) протягом 6 годин.

Статистичну обробку отриманих даних, проводили з використанням програмного пакету Statistica 10.0 ("StatSoft, Inc.", США) і Microsoft® Excel 2010 ("Microsoft Corporation", США).

Вік обстежених коливався від 18 до 53 років із середнім значенням $32,7 \pm 0,92$ року. Тривалість захворювання становила від 0,5 до 11,25 років, в середньому - $3,64 \pm 0,27$ року. Інвалідизація хворих за шкалою EDSS становила в середньому $3,32 \pm 0,12$ бала (від 1,5 до 5,5 балів).

РЕЗУЛЬТАТИ І ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Основною клінічною характеристикою активності перебігу РРРС є частота загострень. У групі спостереження перебували хворі з частотою загострень від 0,39 до 6 на рік. Середня частота загострень була $1,66 \pm 0,12$ на рік. Залежно від частоти спостерігалися загострень пацієнти були розподілені на дві групи з частотою < 2 і ≥ 2 на рік. При подальшому розвитку захворювання у 47 пацієнтів спостерігалось до 2 загострень захворювання на рік, у 25 - 2 і більше загострень на рік.

Проведено дослідження рівня цитокінів у хворих з РС (рис. 1). Середній рівень ІЛ-1 у хворих з РС був $4,2 \pm 0,39$ пг/мл з розмахом значень від 0,71 до 10,7 пг/мл, рівень ІЛ-4 - $2,4 \pm 0,14$ пг/мл з мінімальним і максимальним значенням 0,23 і 4 пг/мл відповідно, рівень ІЛ - 6 становив $2,82 \pm 0,19$ пг/мл з розмахом значень від 0,5 до 5,9 пг / мл, ІЛ-10 - 4 , $68 \pm 0,39$ пг/мл із значеннями від 0,6 до 11,4 пг/мл. У хворих РС визначені значення таких важливих прозапальних цитокінів як ФНП та ІФН- γ . Середній показник для ФНО був $2,32 \pm 0,17$ пг/ мл, а для ІФН- γ - $4,38 \pm 0,4$ пг /мл.

Рівень цитокінів досліджений у двох групах пацієнтів - із частотою загострень < 2 в рік і з частотою загострень ≥ 2 загострень на рік. Різниця показників для груп пацієнтів з різною частотою загострень було статистично достовірним для ІЛ-1 , ІЛ- 10, ІФН- γ . У пацієнтів з кількістю загострень ≥ 2 в рік рівень прозапальних цитокінів ІЛ-1 і ІФН- γ становив $7,9 \pm 0,47$ пг/мл і $7,89 \pm 0,47$ пг/мл відповідно ($p < 0,05$). Дослідження рівня цитокінів у пацієнтів з РС проводили як в стадії загострення так і ремісії захворювання. Для пацієнтів з кількістю загострень < 2 в рік рівень даних цитокінів був меншим і становив відповідно $2,19 \pm 0,21$ пг/мл і $2,5 \pm 0,26$ пг/мл ($P < 0,05$). Таким чином, за результатами наших досліджень було виявлено, що функціональна напруженість імунітету залишається підвищеною у хворих з активним перебігом захворювання в різні фази захворювання, що може свідчити про те, що імунопатологічний процес має безперервний перебіг при РС. Висока проникність гематоенцефалічний бар'єру, можливо, сприяє субклінічній появі нових вогнищ демієлінізації у таких хворих. У хворих з низьким рівнем загострень (< 2 на рік) зберігається достовірно високий ($p < 0,05$) рівень цитокіну ІЛ-10 ($6,06 \pm 0,45$ пг/мл) порівняно з пацієнтами, які мають більш активний перебіг захворювання ($2,1 \pm 0,33$ пг/мл), що підтверджує його протизапальну функцію.

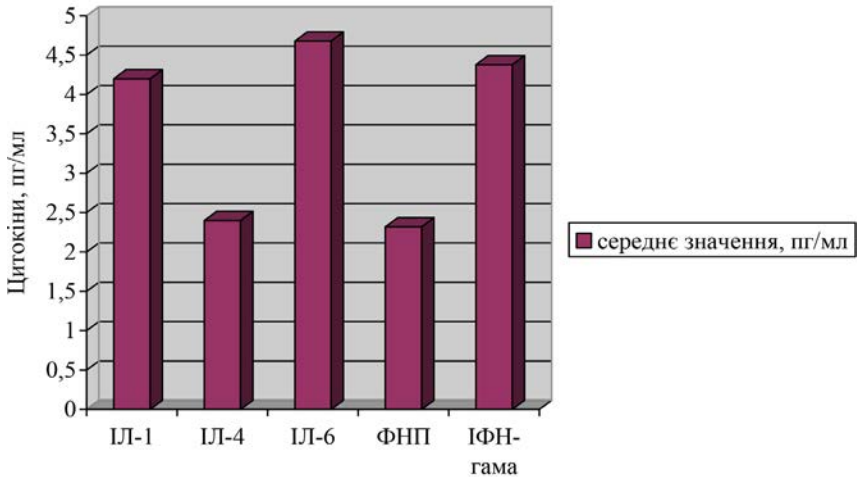


Рис. 1. Середній рівень цитокінів у хворих з PPPS, пг/мл

Для визначення взаємозв'язку рівня цитокінів з клінічною активністю захворювання був проведений кореляційний аналіз між рівнем прозапальних цитокінів і рівнем загострень (рис. 2, 3). Було виявлено прямий сильний кореляційний взаємозв'язок між рівнем ІЛ-1, ІФН- γ і кількістю зареєстрованих загострень на рік ($r_s = 0,753$ і $r_s = 0,7$ ($p < 0,05$) відповідно). Також була виявлено прямий середній кореляційний зв'язок рівня ІЛ-6, ФНП-альфа з кількістю загострень на рік ($r_s = 0,515$ і $r_s = 0,474$ ($p < 0,05$) відповідно), що також підтверджує безперервність імунопатологічного процесу при РС.

Кореляційний зв'язок між рівнем інтерлейкінів і ступенем інвалідизації пацієнтів за шкалою EDSS був відсутній.

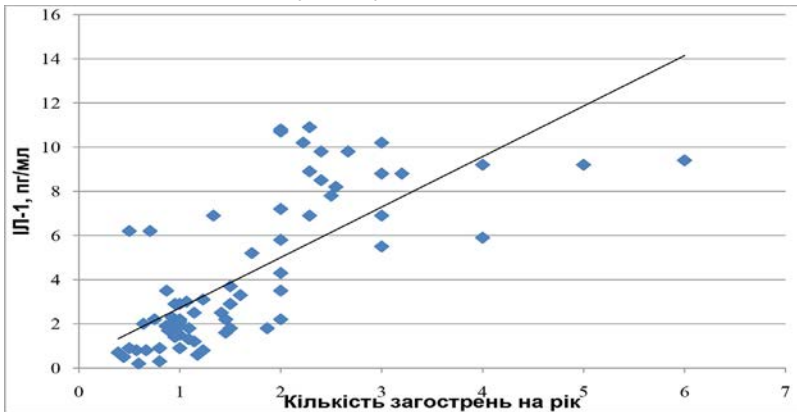


Рис. 2. Кореляційний зв'язок між рівнем ІЛ-1 і кількістю загострень на рік ($r_s = 0,753$)

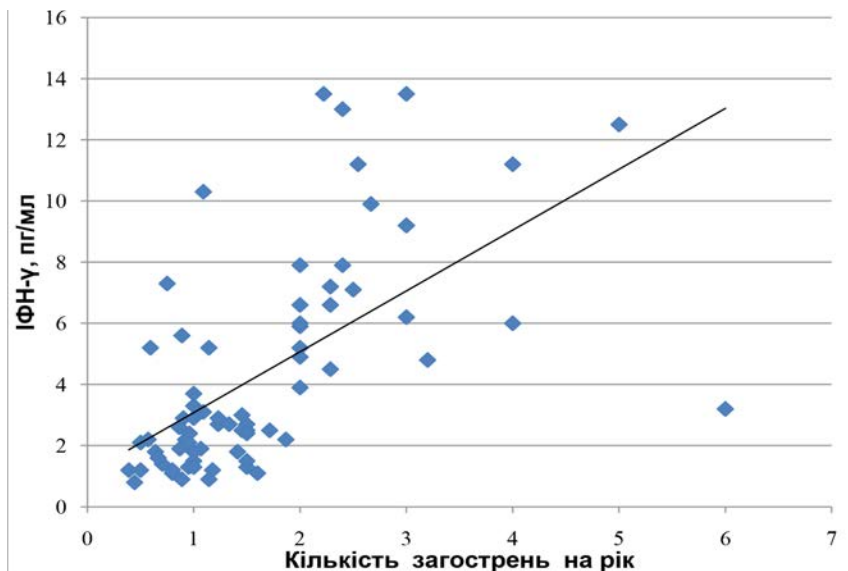


Рис. 3. Кореляційний зв'язок між рівнем ІФН-γ і кількістю загострень в рік ($r_s = 0,7$)

ВИСНОВКИ

1. Оцінка активності демієлінізуючого процесу при РС повинна проводитись з урахуванням як клінічних, так і лабораторних методів моніторингу.

2. Імунопатологічний процес при розсіяному склерозі має безперервний перебіг, на що вказує стійке підвищення прозапальних цитокінів у хворих з активним перебігом захворювання і сильний кореляційний зв'язок рівня цитокінів з кількістю загострень захворювання на рік.

3. Визначення клініко-лабораторних маркерів активності перебігу РС в кінцевому підсумку має значення для контролю ефективності патогенетичної терапії та подальшої тактики лікування пацієнтів.

Література

1. Паєнок А.В. 14-й конгрес Європейської федерації неврологічних товариств, м. Женева, 25-28 вересня 2010 р. / Паєнок А.В., Яворська Н.П., Євтушенко С.К. // Міжнародний неврологічний журнал. – 2011. – №3(41). – с.136—141.

2. Шмидт Т. Е. Рассеянный склероз / Шмидт Т. Е., Яхно Н. Н. – М.: МЕДпресс-информ, 2012. – 272 с.

3. Bornsen L. Osteopontin concentrations are increased in cerebrospinal fluid during attacks of multiple sclerosis / Bornsen L., Khademi M., Olsson T. // MS Journal. – 2006. – Vol. 17, № 9. – P.1113—1121.

4. Dobson R. An under-studied source of biomarkers in Multiple Sclerosis / Dobson R. // MS and related disorders. – 2012. – Vol. 1. – P.76—80.

5. The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis brains / Frisher J. M., Bramow S., Dal-Bianco A. [et al.] // Brain. —2009.—№132.—P. 1175-1189.

6. Fox E. Immunopathology of multiple sclerosis / Fox E. // J. Neurology. – 2004. – Vol. 63. – P. 3-7.
7. Tumour necrosis factor-induced death of adult human oligodendrocytes is mediated by apoptosis inducing factor / Jurewicz A. [et al.] // Brain.—2005.— Vol. 128.—P. 2675-2688.
8. Miller A. Translation towards personalized medicine in Multiple Sclerosis / Miller A., Aidan N., Tzunz-Henig N. // J. of the Neurolog. Sc. – 2012. –Vol. 274. – P.68—75.
9. Inflammation in multiple sclerosis: the good, the bad, and the complex / Martino G., Adorini L. [et al.] // Lancet Neurology. – 2010. – Vol. 1., Issue 8. – P. 499-509.
10. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria / Polman C.H., Reingold S.C., Banwell B. [et al.] // Ann. Neurol. – 2011. –Vol.69. – P.292—302.
11. Ramagopalan S.P. Multiple sclerosis: risk factors, prodromes, and potential causal pathways / Ramagopalan S.P., Dobson R., Meier U.C. // Lancet Neurol. – 2010. –Vol. 9. – P. 727—739.
12. Trofta P.P. Cytokines // Amer. J. Reprod. Immunol. —2011.— Vol.25.—P. 1734-1741.
13. Ziemssen T. A new era in multiple sclerosis: new consideration for therapeutic approaches / Ziemssen T., Tintore M. // Elsevier. – 2010. – 94 p.

Т.А.Кобысь

Клинико-иммунологические проявления активности демиелинизирующего процесса у больных рассеянным склерозом

**Киевский городской центр рассеянного склероза,
Киевская городская клиническая больница №4**

Введение. Современные представления о патогенезе рассеянного склероза (РС) подтверждают развитие иммунопатологических реакций в нервной ткани. Дальнейшее изучение клинико-иммунологических признаков активности демиелинизирующего процесса является чрезвычайно актуальным.

Цель. Определение взаимосвязи между клиническими и иммунологическими признаками активности течения РС.

Материалы и методы. Исследовано 72 больных с РС. Определяли частоту обострений, уровень EDSS. Исследование синтеза и секреции про-воспалительных и противовоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО-альфа, ИФН-гамма проводили в культуре мононуклеаров человека. С помощью программного пакета Statistica 10,0 проведен корреляционно-регрессионный анализ, прогностическое значение показателей клинической активности заболевания.

Результаты. Было обнаружена прямая сильная корреляционная взаимосвязь между уровнем ИЛ-1, ИФН-γ и количеством зарегистрированных обострений в год ($r_s = 0,753$ и $r_s = 0,7$ ($p < 0,05$) соответственно). Корреляционная связь между уровнем интерлейкинов и степенью инвалидизации пациентов по шкале EDSS отсутствовала. У больных с низким уровнем обострений (<2 в год) сохраняется достоверно высокий ($p < 0,05$) уровень цитокина ИЛ-10 ($6,06 \pm 0,45$ пг / мл) по сравнению с пациентами, которые имеют более активное течение заболевания ($2,1 \pm 0,33$ пг / мл), что подтверждает его противовоспалительную функцию.

Выводы. Иммунопатологический процесс при РС имеет непрерывный характер, на что указывает стойкое повышение провоспалительных цитокинов у больных с активным течением заболевания и сильная корреляционная связь уровня цитокинов с количеством обострений заболевания в год.

Ключевые слова: рецидивирующее-ремитирующий рассеянный склероз, частота обострений, цитокины

T. Kobys

Clinical and immunological presentation of demyelinating process activity in multiple sclerosis patients

**Kyiv City Center of Multiple Sclerosis,
Kyiv City Clinical Hospital № 4**

Introduction. Present understanding of the pathogenesis of multiple sclerosis (MS) confirms the development of immunopathological reactions in the nervous tissue. Further studying of clinical and immunological features of active demyelinating process is extremely important.

Aim. To determine the relationship between clinical and immunological features of MS course.

Materials and methods. We examined 72 MS patients. There were determined the relapse frequency and EDSS level. Synthesis and secretion of proinflammatory and antiinflammatory cytokines IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ were studied in the culture of human mononuclear cells. Using the Statistica 10.0 software we conducted a correlation and regression analysis and determined prognosis values of disease clinical activity.

Results. We found a strong direct correlation between the level of IL-1, IFN- γ and the number of registered relapses per year ($r_s = 0.753$ and $r_s = 0,7$ ($p < 0.05$) respectively). There was no correlation between the level of interleukins and degree of disability of patients as measured on EDSS scale.

Conclusion. The immunopathological process in multiple sclerosis is continuous one, as indicated by the steady increase of proinflammatory cytokines in patients with active disease course and a strong correlation of cytokine levels with the number of relapses per year.

Key words: relapsing-remitting multiple sclerosis, relapse frequency, cytokines.

Відомості про автора:

Кобись Тетяна Олександрівна - к.мед.н., керівник Київського міського центру розсіяного склерозу, Київська міська клінічна лікарня №4. Адреса: Київ, вул. Соломенська, 17, тел.: (044) 245-78-27.