

СИМАНИВ ТАРАС ОЛЕГОВИЧ

**Оптикомиелит и оптикомиелит-ассоциированные синдромы
при демиелинизирующих заболеваниях**

14.01.11 – нервные болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр неврологии»

Научный руководитель:
доктор медицинских наук

Захарова Мария Николаевна

Официальные оппоненты:

Котов Сергей Викторович, доктор медицинских наук, профессор, руководитель неврологического отделения, заведующий кафедрой неврологии факультета усовершенствования врачей государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»

Бисага Геннадий Николаевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры и клиники нервных болезней Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, руководитель Центра лечения рассеянного склероза Министерства обороны Российской Федерации

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится: «27» октября 2015г. в 13:00 на заседании диссертационного совета Д 001.006.01 при ФГБНУ НЦН по адресу:
125367, Москва, Волоколамское шоссе, 80

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ НЦН. 125367, Москва, Волоколамское шоссе, 80 и на сайте www.neurology.ru

Автореферат разослан « ___ » _____ 2015 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 001.006.01
кандидат медицинских наук

Е.В. Гнедовская

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Демиелинизирующие заболевания являются гетерогенной группой, включающей рассеянный склероз (РС), острый рассеянный энцефаломиелит (ОРЭМ), оптиконевромиелит (ОНМ), идиопатический поперечный миелит, оптический неврит. Оптиконевромиелит является довольно редким заболеванием среди европейцев, тогда как в странах Юго-Восточной Азии частота встречаемости ОНМ среди всех демиелинизирующих заболеваний достигает 20-30% (Kira, 2003). Однако улучшение диагностики, разработка критериев диагноза оптиконевромиелита заставляет по-новому оценить актуальность этой проблемы в современной неврологии.

Наибольшие трудности в дифференциальной диагностике оптиконевромиелита представляют рассеянный склероз, а также изолированные синдромы: миелит и оптический неврит (Мельников, 2012). Оптиконевромиелит в настоящее время – единственное демиелинизирующее заболевание, при котором идентифицирован молекулярный биомаркер: аутоантитела, высокоспецифичные для оптиконевромиелита (NMO-IgG), мишенью которых является водный канал аквапорин-4 (Lennon, 2004). Выявление антител к аквапорину-4 включено в диагностические критерии для оптиконевромиелита (Wingerchuk, 2006). Однако частота их выявления при оптиконевромиелите варьирует в различных исследованиях, и, по всей вероятности, зависит в том числе от этнической принадлежности изучаемой группы пациентов. Также было показано, что данные антитела выявляются и при других состояниях: при изолированных синдромах, системных заболеваниях, которые составляют спектр расстройств оптиконевромиелита (Wingerchuk, 2007).

В России в настоящее время данных по встречаемости оптиконевромиелита и ассоциированных расстройств не представлено; описаны отдельные случаи идиопатического оптиконевромиелита, характеризующегося сочетанием оптического неврита и продольного

распространенного миелита, более тяжелым течением и худшим прогнозом по сравнению с рассеянным склерозом (Тотолян, 2009). Кроме того, были описаны случаи выявления оптического неврита и миелита при системных аутоиммунных заболеваниях, манифестировавших с неврологических проявлений (Пизова, 2012), четких данных по этому вопросу в российской популяции нет, а также отсутствует понятие о спектре расстройств оптиконевромиелита. Важным аспектом ведения пациентов с демиелинизирующими заболеваниями является проведение дифференциального диагноза между оптиконевромиелитом и рассеянным склерозом, так как, несмотря на сходную клиническую картину, подходы к лечению принципиально различны, более того, классические препараты, изменяющие течение рассеянного склероза (ПИТРС), могут ухудшить состояние пациента при оптиконевромиелите (Palace, 2010).

Таким образом, исследование диагностической значимости антител к аквапорину-4 имеет большое значение для дифференциальной диагностики демиелинизирующих заболеваний ЦНС и определения тактики ведения конкретного больного.

Уже на самых ранних этапах демиелинизирующих заболеваний имеет место развитие нейродегенеративного процесса (Bjartmar, 2001). Именно развитие нейродегенерации является основой для формирования стойкого, необратимого неврологического дефицита даже в случае небольшой продолжительности заболевания (Завалишин, 1999). В настоящее время актуальной проблемой в тактике ведения пациентов с демиелинизирующими заболеваниями является оценка темпа прогрессирования и нарастания инвалидизации.

Нейродегенерация при демиелинизирующих заболеваниях не является однородным процессом, в основе её формирования участвуют следующие механизмы: митохондриальная дисфункция (приводит к энергетической недостаточности нейронов из-за повреждения дыхательных комплексов), нарушение работы ионных каналов и обмена глутамата (вызывает повышение

уровня кальция и активацию NMDA-рецепторов, что приводит к повреждению клеток по механизму эксайтотоксичности), нарушение баланса между ростовыми факторами и нейромедиаторами, а также непосредственного повреждения тел и аксонов нейронов лимфоцитами и клетками глии (Кротенко, 2009; Jin, 2010; Srinivasan, 2005).

Данные процессы приводят к накоплению большого количества свободных радикалов - активных форм кислорода, которые способствуют деструкции миелина, гибели олигодендроцитов и аксональному повреждению. Повышение уровня активных форм кислорода, которые сами по себе являются повреждающими факторами, приводит к разрушению биологических макромолекул, таких как полиненасыщенные жирные кислоты, белки и нуклеотиды в РНК и ДНК (Захарова, 2001). Важную роль также играет разрушение антиоксидантной системы астроцитов вследствие недостаточности синтеза глутатиона (Williams, 2007).

В результате действия активных форм кислорода образуется множество промежуточных продуктов окислительного стресса: малоновый диальдегид, 4-гидрокси-ноненаль, нитрозотиолы, гидроперекиси липидов и другие, различающиеся по своему происхождению и стабильности; любые биологические молекулы могут стать объектом повреждения активными кислородными метаболитами (Меньщикова, 2006). В частности, в процессе дисфункции митохондрий окислительному стрессу подвергается митохондриальная ДНК, что приводит к образованию метаболитов – окисленных нуклеотидов (Kasai, 1986). Часть из продуктов окислительного стресса могут быть использованы в качестве биомаркеров, которые бы позволили оценить степень выраженности нейродегенеративного процесса при демиелинизирующих заболеваниях ЦНС. Поиск таких маркёров позволит уточнить патогенез демиелинизирующих заболеваний, а также помочь в оценке прогрессирования и прогноза у отдельного пациента.

В связи с этим была поставлена **цель исследования**: Изучение особенностей клинической картины оптиконевромиелита в российской

популяции и исследование биохимических маркеров при оптиконевромиелите и изолированных синдромах (оптический неврит, продольный распространённый миелит), в том числе при системных аутоиммунных заболеваниях.

Задачи исследования:

1. Выявить клинические особенности поражения нервной системы при оптиконевромиелите в российской популяции
2. Изучить клинические особенности поражения нервной системы при оптиконевромиелит-ассоциированных расстройствах (оптическом неврите, поперечном миелите и при системных аутоиммунных заболеваниях).
3. Определить наличие антител к аквапорину-4 в сыворотке крови пациентов с оптиконевромиелитом, рассеянным склерозом, ОРЭМ, оптическом неврите, поперечном миелите, системных аутоиммунных заболеваниях и изучить взаимосвязь антител к аквапорину-4 и клинических и радиологических особенностей при демиелинизирующих заболеваниях ЦНС.
4. Определить уровни продуктов окисления липидов и нуклеотидов в сыворотке крови пациентов с оптиконевромиелитом, рассеянным склерозом и здоровых добровольцев и сопоставить полученные данные с клинической картиной заболевания.
5. На основании полученных данных определить диагностическую значимость исследованных маркеров.

Научная новизна

Впервые проведено комплексное клиничко-биохимическое исследование пациентов российской популяции с оптиконевромиелитом и ассоциированными расстройствами, к которым относятся изолированные синдромы (оптический неврит, продольный распространённый миелит) и демиелинизирующие расстройства ЦНС при системных аутоиммунных заболеваниях. Выполнено определение антител к аквапорину-4 в российской группе пациентов с ОНМ и аквапорин-ассоциированными синдромами; проведено сопоставление клинических и нейровизуализационных данных с результатами выявления

антител к аквапорину-4. Определена оценка чувствительности и специфичности определения антител к аквапорину-4 методом непрямой иммунофлуоресценции с клеточной презентацией антигена у пациентов с заболеваниями, относящимися к спектру расстройств оптиконевромиелита. Проведен анализ биомаркеров окислительного стресса у пациентов с демиелинизирующими заболеваниями ЦНС и сравнение их концентраций у больных РС и ОНМ и у здоровых добровольцев. Впервые в российской группе пациентов с демиелинизирующими заболеваниями был определён уровень окисленного нуклеотида 8-оксо-2'-дезоксигуанозина.

Практическая значимость

Установлено достоверное выявление антител к аквапорину-4 у пациентов с оптиконевромиелитом и ассоциированными расстройствами (продольным распространённым миелитом, оптическим невритом). Выявлено, что антитела к аквапорину-4 выявляются при демиелинизирующем процессе у пациентов с системной красной волчанкой. Показано достоверно более частое выявление антител к аквапорину-4 у пациентов с протяжёнными очагами в спинном мозге и отсутствием очагового поражения головного мозга. Показана высокая чувствительность и специфичность выявления антител к аквапорину-4 методом непрямой иммунофлуоресценции с клеточной презентацией антигена у пациентов с ОНМ, что подтверждает диагностическую ценность данного маркера. Получена тенденция к повышению 8-оксо-2'-дезоксигуанозина у пациентов с РС и ОНМ, что может использоваться в качестве маркера окислительного повреждения при демиелинизирующем процессе и служить дополнительным подтверждением развития неврологического дефицита.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Демиелинизирующие заболевания центральной нервной системы отличаются значительной гетерогенностью по клиническим, радиологическим и биохимическим показателям, что свидетельствует о различных механизмах демиелинизации и нейродегенерации.

2. В сыворотке крови выявляются антитела к аквапорину-4 у пациентов с оптиконевромиелитом, а также с изолированными синдромами: оптическим невритом, продольным распространённым миелитом, а также у пациентов с демиелинизирующим поражением центральной нервной системы при системной красной волчанке.
3. Обнаружение антител к аквапорину-4 коррелирует с протяжённостью очага демиелинизации в спинном мозге и отсутствием очагового поражения головного мозга.
4. Метод непрямой иммунофлуоресценции с клеточной презентацией антигена для определения антител к аквапорину-4 является чувствительным и специфичным в диагностике оптиконевромиелита.
5. Маркёр окислительного повреждения нуклеотидов 8-оксо-2'-дезоксигуанозин может служить дополнительным признаком развития патологического процесса (митохондриального поражения) и гибели нейронов и астроцитов при демиелинизирующих заболеваниях ЦНС.

Апробация работы

Диссертация апробирована и рекомендована к защите на расширенном заседании научных сотрудников 1, 2, 3, 5, 6 неврологических отделений, научно-консультативного отделения, отделения лучевой диагностики, отделения нейрореабилитации и физиотерапии, лаборатории ультразвуковых исследований, лаборатории клинической нейрофизиологии, лаборатории патологической анатомии, лаборатории клинической фармакокинетики ФГБНУ НЦН 2 июля 2015 года (Протокол №2).

Материалы диссертации были представлены на: VI Сибирской межрегиональной научно-практической конференции «Рассеянный склероз и другие аутоиммунные заболевания нервной системы» (Новосибирск, 2013); XIX Всероссийской конференции «Нейроиммунология. Рассеянный склероз» (Санкт-Петербург, 2013); III Национальном конгрессе «Нейроинфекции» (Москва, 2013); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Демиелинизирующие заболевания центральной и

периферической нервной системы» (Ярославль, 2014); Joint Congress of European Neurology (Istanbul, 2014); VII Сибирской всероссийской конференции с международным участием «Аутоиммунные заболевания нервной системы – единство и многообразие» (Новосибирск, 2015); XX Всероссийской конференции «Нейроиммунология. Рассеянный склероз» (Санкт-Петербург, 2015).

Внедрение результатов работы

Полученные результаты внедрены в практику работы 6 неврологического отделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр неврологии».

Публикации

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 3 печатные работы в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Личный вклад автора

Автору принадлежит определяющая роль в постановке цели и задач, обосновании основных положений, формулировании выводов и практических рекомендаций. Проведен сбор анамнеза, подробный неврологический осмотр пациентов, оценка по клиническим шкалам. Самостоятельно осваивалось и проводилось определение антител к аквапориу-4, маркеров окислительного стресса (липопротеины низкой плотности, 8-оксо-2-дезоксигуанозин). Самостоятельно проведена последующая обработка и статистический анализ полученных данных. Автором проанализировано 24 отечественных и 150 зарубежных источников литературы, подготовлены публикации по теме диссертационной работы.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 109 страницах машинописного текста, содержит 13 таблиц, и иллюстрирована 16 рисунками. Работа состоит из введения, обзора литературы, общей характеристики обследованных лиц и методов исследования, главы собственных результатов, обсуждения, выводов,

практических рекомендаций и указателя литературы. Библиографический указатель содержит 180 источников литературы, из которых 24 отечественных, 158 иностранных авторов, а также 10 работ собственного авторства.

Материал и методы исследования

Общая характеристика больных

В исследование было включено 233 пациента: 75 пациентов с ремиттирующим рассеянным склерозом (не получавшие на момент исследования ПИТРС), 14 с дебютом рассеянного склероза, 30 с оптиконевромиелитом, 10 с ОРЭМ, 49 с миелитом, 39 с оптическим невритом, 8 с СКВ с неврологическими проявлениями. В группу сравнения были включены 8 пациентов с системными заболеваниями без поражения ЦНС. В группу контроля были включены 10 здоровых добровольцев.

Критерием включения являлось соответствие диагноза критериям для соответствующей нозологии: РС – критерии McDonald, 2005; миелит – Transverse Myelitis Consortium Working Group, 2002; ОРЭМ - диагностические критерии Международной группы экспертов по дифференциальной диагностике рассеянного склероза, 2008. Диагноз ОНМ был установлен на основании диагностических критериев оптиконевромиелита 2008 года (Miller, 2008), при этом один из малых критериев: положительный результат анализа сыворотки крови или ЦСЖ на NMO-IgG (антитела к аквапорину-4) не принимался в расчёт, т. к. данный критерий являлся объектом настоящего исследования.

Критерием оценки неврологического дефицита являлся балл по расширенной шкале оценки степени инвалидизации EDSS (Kurtzke, 1983).

Всем пациентам, которые были включены в исследование, проводился неврологический осмотр, а также выполнялась МРТ головного и спинного мозга до включения в исследование.

Несмотря на то, что все пациенты были сопоставимы между собой по полу и возрасту, группу оптиконевромиелита составили больные более

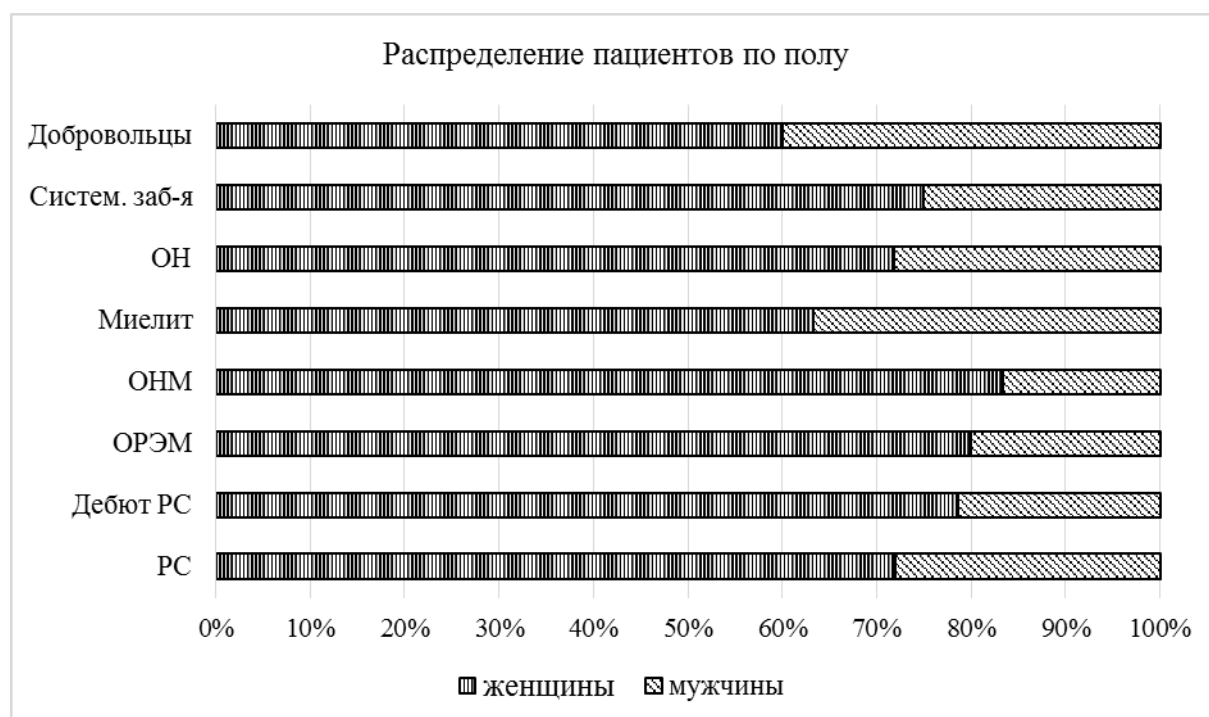
старшего возраста, по сравнению с РС. Кроме того, в данной группе отмечено преобладание женщин.

Основные характеристики исследуемых групп представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

Таблица 1. Общая характеристика пациентов

	Количество пациентов	Пол женщины/мужчины	Возраст М [Q1; Q2]
РС	75	54/21	29,5 [23,5; 36,5]
Дебют РС	14	11/3	25 [21; 35]
ОРЭМ	10	8/2	33 [22; 56]
ОМ	30	25/5	36 [30; 55]
Миелит	49	31/18	29 [21; 38]
Оптический неврит	39	28/11	29 [21; 42]
Системные заболевания	16	12/4	37 [32; 42]
Всего пациентов	233	169/64	32 [23; 42]
Добровольцы	10	6/4	28 [25; 33]
Всего	243	175/68	32 [24; 40]

Рисунок 1. Сопоставление пациентов по полу.



Забор и подготовка биологического материала

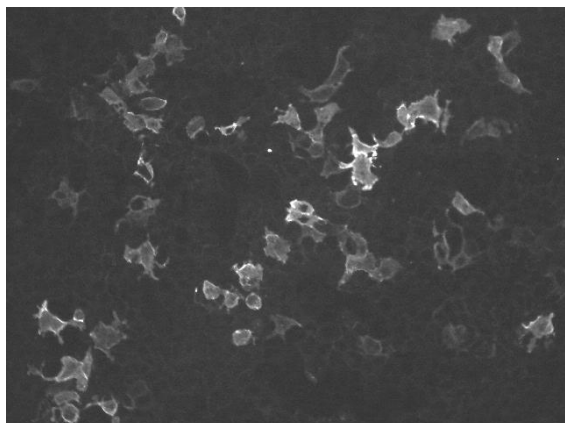
Образцы сыворотки крови были получены во время стационарного и амбулаторного обследования у пациентов ФГБНУ НЦН. Забор крови осуществлялся из локтевой вены в утренние часы, натощак в пробирки с активатором свертывания (Vacutainer, BD). Сыворотку отделяли от клеток крови путем центрифугирования в течение 10 минут при 1500 g при комнатной температуре. Полученную надосадочную жидкость переносили в отдельные пробирки, образцы хранились при температуре – 70°C до момента выполнения исследования.

Биохимические методы исследования

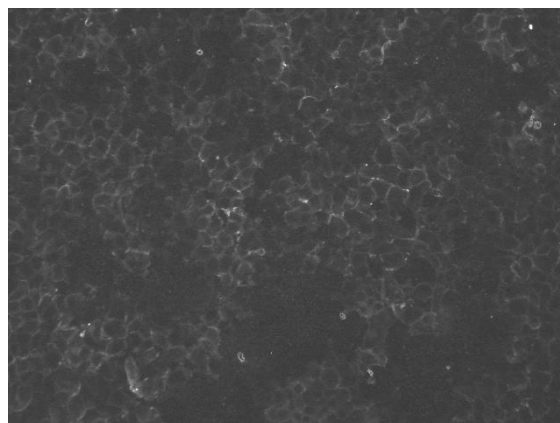
Анализ на антитела к аквапорину-4 выполнялся методом непрямой иммунофлуоресценции с клеточной презентацией антигена (cell-based assay). Для проведения анализа сыворотки крови на антитела к аквапорину-4 использовались тест-наборы FA-1128 производства EUROIMMUN AG (Германия). В данных наборах использован стандартный субстрат с трансфицированными и нетрансфицированными клетками (EU 90). Процедура исследования выполнена согласно технике TITERPLANE. Учёт результатов производился с помощью флуоресцентного микроскопа: В случае наличия в сыворотке антител к аквапорину-4, они реагируют с трансфицированными клетками субстрата, что приводит к формированию равномерного свечения (Рисунок 2).

Рисунок 2 Выявление антител к аквапорину-4:

А) Положительный результат;



Б) отрицательный результат.



При полуколичественном анализе титр антител оценивался по результатам флуоресценции, полученным при различных разведениях образца, критерии оценки отражены в таблице 2.

Таблица 2. Оценка титра антител

Флуоресценция при разведении образца				Титр антител
1:10	1:100	1:1000	1:1000	
Слабая	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	1:10
Умеренная	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	1:32
Сильная	Слабая	Отсутствует	Отсутствует	1:100
Сильная	Умеренная	Отсутствует	Отсутствует	1:320
Сильная	Сильная	Слабая	Отсутствует	1:1000
Сильная	Сильная	Умеренная	Отсутствует	1:3200
Сильная	Сильная	Сильная	Слабая	1:10000

Для определения уровня маркеров окислительного повреждения в сыворотке были использованы следующие коммерческие наборы для выполнения ИФА:

- 8-оксо-2'-дезоксигуанозин – HT 8-oxo-dG ELISA Kit (Trevigen, Inc., США)
- Окисленные ЛНП – Mercodia Oxidized LDL ELISA (Mercodia AB, Швеция)

Исследование было проведено по протоколам производителей, измерения образцов проводили в двух параллельных пробах, калибровочную кривую строили по измерениям стандартных растворов.

Содержание малонового диальдегида оценено по реакции с тиобарбитуровой кислотой, в результате которой образуется триметиновый комплекс, содержащий одну молекулу МДА и две молекулы тиобарбитуровой кислоты (Владимиров, 1972), количество образовавшегося триметинового комплекса оценивалось по регистрации оптической плотности при длине волны 532 нм.

Статистическая обработка результатов

Описательная статистика данных включала в себя следующие параметры: общее количество пациентов, среднее, стандартное отклонение, медиана (M), 25 и 75 процентиля (M [Q1; Q2]).

Сравнение двух групп по количественному признаку выполнено с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферрони, множественное сравнение – с использованием непараметрического критерия Крускалла-Уоллиса.

Корреляционный анализ выполнен с использованием теста ранговой корреляции Спирмена.

Различия считали статистически значимыми при уровне ошибки $p < 0,05$.

Расчет данных выполнен на персональном компьютере с использованием приложения Microsoft Excel 2013 и пакета статистического анализа данных Statistica 10.0 for Windows (StatSoft Inc., USA).

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ НЦН (протокол №14/12 от 12.12.2012 г.). Все пациенты перед выполнением исследовательских процедур прошли процедуру подписания информированного согласия.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Работа была выполнена по модели поперечного (одномоментного) исследования в параллельных группах пациентов.

Группа пациентов, в клинической картине которых наблюдались зрительные нарушения и/или поражения спинного мозга, являлась клинически неоднородной (таблица 3).

Таблица 3. Клиническая характеристика больных

	Количество обострений M [Q1; Q2]	Балл по шкале EDSS M [Q1; Q2]	Длительность течения, месяцы M [Q1; Q2]
РС	4 [2; 5]	3 [2; 3,5]	22 [12; 36]
Дебют РС	1 [1; 1]	2 [1,5; 3,5]	2 [1; 3,5]

ОРЭМ	1 [1; 1]	3 [2,5; 4]	1,5 [1; 2]
ОНМ	2,5 [2; 4]	4 [3; 5,5]	24 [5; 72]
Миелит	2 [1; 2]	4,5 [3; 6,0]	12 [8; 26]
Оптический неврит (ОН)	1 [1; 3]	1 [0; 2]	12 [8;18]
СКВ + миелит/ОН	2 [1; 4]	2,5 [2; 4]	10 [2; 12]

Среди пациентов с ОНМ у 6 пациентов (4 женщины, 2 мужчин) отмечено монофазное течение (20% пациентов). Среди пациентов с миелитом у 5 пациентов (3 женщины) отмечены рецидивы заболевания (10% пациентов). Среди пациентов с ОН у 3 пациентов (3 женщины) отмечены рецидивы заболевания (7,7% пациентов).

Проанализирована структура неврологических нарушений по функциональным системам у обследованных пациентов (таблица 4).

Таблица 4. Распределение неврологических нарушений у пациентов

	РС	ОНМ	ОРЭМ	Миелит	ОН	СКВ
Функции зрения	69,7%	100%	60%	0%	100%	12,5%
Мозжечковые функции	65,3%	16,6%	70%	0%	0%	12,5%
Стволовые функции	45,8%	13,3%	80%	0%	0%	37,5%
Пирамидная система	73%	100%	90%	77,6%	0%	87,5%
Чувствительность	60,6%	100%	40%	59,1%	0%	87,5%
Функции тазовых органов	35,9%	100%	20%	42,9%	0%	87,5%
Церебральные функции	12,3%	0%	100%	0%	0%	0%

У обследованных пациентов дополнительно отмечены следующие клинические особенности (Таблица 5):

А. особенности течения миелита

1) Наличие либо отсутствие поперечного миелита – поражения спинного мозга с развитием центральных парезов, расстройств чувствительности по проводниковому типу и нарушением функций тазовых органов.

2) локализация поражения по данным МРТ: шейный или грудной отдел

3) монофазное либо рецидивирующее течение

Б. особенности течения оптического неврита

- 1) одностороннее или двустороннее поражение
- 2) монофазное либо рецидивирующее течение

Таблица 5. Особенности течения оптического неврита и миелита в исследуемых группах пациентов.

		РС	ОНМ	ОРЭМ	Миелит	ОН	СКВ
миелит	поперечный	10,1%	100%	0%	30,6%		62,5%
	без поперечного поражения	73%	0%	40%	69,4%		25%
	шейный	64%	26,6%	30%	24,5%		37,5%
	грудной	5,6%	30%	0%	61,2%		12,5%
	шейный+грудной	13,5%	43,3%	10%	14,3%		37,5%
	монофазный	52,8%	33,3%	40%	89,8%		62,5%
	рецидивирующий	30,3%	66,7%	0%	10,2%		25%
оптический неврит	односторонний	50,6%	26,6%	60%		74,4%	0%
	двусторонний	19,1%	73,3%	0%		25,6%	12,5%
	монофазный	43,8%	63,3%	60%		92,3%	0%
	рецидивирующий	25,8%	36,7%	0%		7,7%	12,5%

При оценке клинических проявлений установлено, что у всех пациентов с оптиконевромиелитом наблюдались чувствительные, двигательные и тазовые нарушения, то есть формировался синдром поперечного поражения спинного мозга, что отличает его от РС, при котором нарушение данных систем не является облигатным, что соотносится с литературными данными (Karussis, 2014). Существенных отличий в клинике оптического неврита у пациентов с рассеянным склерозом и оптиконевромиелитом в нашем исследовании выявлено не было.

Среди обследованных пациентов отдельно была выделена группа высокого риска ОНМ; в неё вошли пациенты с миелитом, очаг демиелинизации в спинном мозге у которых составлял три и более позвоночных сегмента (21 пациент); пациенты с изолированным оптическим невритом, у которых в

патологический процесс были вовлечены оба зрительных нерва или пациенты с рецидивирующим оптическим невритом (11 пациентов), а также пациенты с СКВ с проявлениями миелита или оптического неврита. Остальные пациенты, соответственно, составили группу низкого развития оптиконевромиелита.

Среди пациентов с ОНМ в 26 случаях определены антитела к аквапорину-4, что составило 86,7% (26/30). У 4 пациентов с ОНМ не выявлены NMO-IgG; в данной группе пациентов соотношение мужчин и женщин было одинаковым, клиническая картина характеризовалась одновременным вовлечением в патологический процесс поражения зрительного нерва и спинного мозга. У данных пациентов отсутствие NMO-IgG может быть объяснено недостаточной чувствительностью метода непрямой иммунофлуоресценции с клеточной презентацией антигена, либо низкой концентрацией антител в сыворотке данных пациентов. Однако, что более вероятно, данные случаи относятся к так называемым серонегативным формам оптиконевромиелита.

В подгруппе пациентов высокого риска развития оптиконевромиелита получены следующие распределения по статусу наличия NMO-IgG:

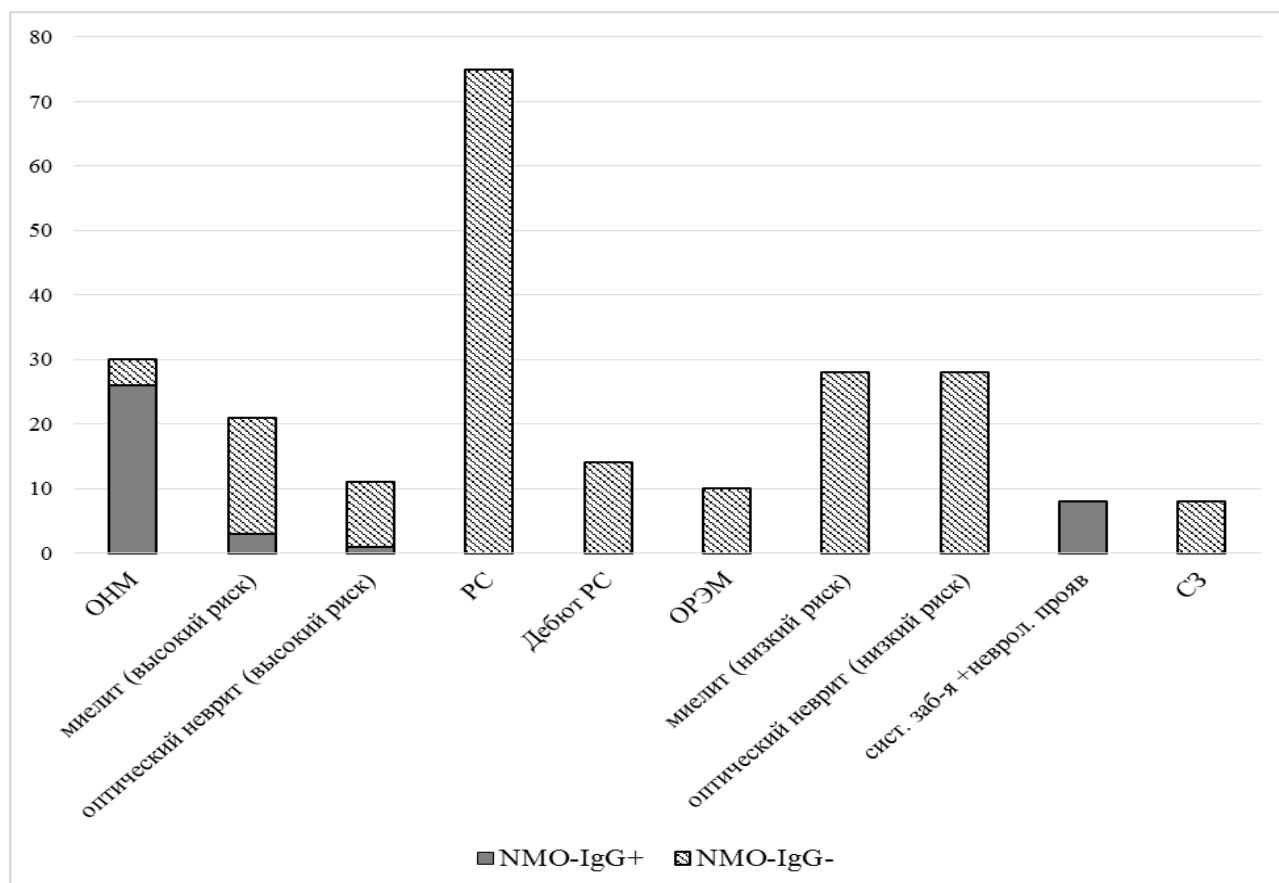
У пациентов с продольным миелитом, очаг демиелинизации в спинном мозге которых был 3 и более сегмента, антитела к аквапорину-4 были обнаружены у 3 из 21 пациентов (14,2 %); У пациентов с двусторонним и/или рецидивирующим оптическим невритом антитела к аквапорину-4 были выявлены у 1 из 11 больных (9 %); среди пациентов с системной красной волчанкой антитела к аквапорину-4 были выявлены у всех 8 пациентов (100%) с синдромом продольного распространённого миелита (7 больных) или двустороннего рецидивирующего оптического неврита (1 пациент).

Таким образом, антитела к аквапорину-4 в нашем исследовании были выявлены ещё у 12 пациентов, состояние которых можно отнести к оптиконевромиелит-ассоциированным расстройствам. Встречаемость антител к аквапорину-4 среди пациентов с изолированными формами достаточно низкая, возможно, это связано с малым количеством наблюдений и недостаточной для ОНМ выраженностью клинических проявлений. У пациентов с системными

заболеваниями соединительной ткани, NMO-IgG выявлялись только в случае наличия соответствующих неврологических проявлений, что подтверждает роль данных антител в развитии патологического процесса. Так как в нашем исследовании была настороженность у пациентов в отношении наличия системных аутоиммунных заболеваний, было рекомендовано серологическое исследование на маркёры данных заболеваний всем больным. У пациентов с оптическим невритом/продольным распространённым миелитом, ассоциированным с системной красной волчанкой были выявлены антинуклеарный фактор и антитела к двуспиральной ДНК.

В подгруппе пациентов низкого риска развития ОНМ, у пациентов с системными заболеваниями соединительной ткани без неврологических проявлений, а также у здоровых добровольцев антитела к аквапорину-4 обнаружены не были (рисунок 3). Это имеет принципиальное значение для назначения терапии, так как назначение ПИТРС при ОНМ может провоцировать нарастание частоты обострений и количества и объема очагов.

Рисунок 3. NMO-IgG при демиелинизирующих заболеваниях ЦНС.



По результатам исследования на наличие антител к аквапорину-4 все пациенты были разделены на две группы: положительные, в сыворотке которых обнаружены NMO-IgG, и отрицательные. У данных групп пациентов сравнивались пол и возраст; клинические характеристики: количество обострений и степень инвалидизации по шкале EDSS, а также изменения, выявленные на МРТ: наличие очагов в головном мозге, длина очагов в спинном мозге (по позвоночным сегментам), а также наличие очагов в спинном мозге, длина которых составила три и более сегментов (таблица 6).

Таблица 6. Сравнение больных с положительными и отрицательными NMO-IgG.

Критерий	NMO-Ig+	NMO-Ig–	Статистическая значимость, p
Количество пациентов	38	195	
Пол (жен./муж.)	33/4	136/60	0,1984
Возраст M [Q1; Q2]	36 [29,5;49]	32 [23;43]	0,2442
Количество обострений M [Q1; Q2]	3,5 [2;4]	2,5 [1;3]	0,1654
EDSS M [Q1; Q2]	3,75 [3;4,5]	3 [2;3,5]	0,1838
Очаги в головном мозге (есть/нет)	7/31	132/63	0,0106
Очаги в спинном мозге протяжённостью 3 и более сегмента (есть/нет)	33/5	41/154	0,0001
Длина очагов в спинном мозге M [Q1; Q2]	4 [3;6]	1 [0;2]	0,0002

В обеих группах преобладают женщины; также группы серопозитивных и серонегативных пациентов сопоставимы между собой по возрасту. По количеству обострений и степени инвалидизации статистически значимых различий не было. Это может быть объяснено тем, что пациенты обращались к

нам на достаточно ранних стадиях заболевания, когда удавалось эффективно купировать обострения оптиконевромиелита.

Были выявлены статистически значимые различия по МР-картине: у положительных по наличию антител к аквапорину-4 пациентов чаще выявляются более протяжённые очаги в спинном мозге, а также реже выявляются очаговые изменения в головном мозге. Длина очага (в сегментах) в спинном мозге у пациентов, в сыворотке которых выявлялись антитела к аквапорину-4, была статистически значимо выше по сравнению с пациентами без данных антител (рисунки 4 и 5). Это даёт основания считать, что у пациентов с продольным распространённым миелитом и относительной сохранностью головного мозга потенциально может развиваться оптиконевромиелит. Таким пациентам в обязательном порядке показано проведение анализа на антитела к аквапорину-4, кроме того, должна сохраняться настороженность в отношении ОНМ и в случае отрицательного результата. Согласно данным литературы в 6,5% случаев не удаётся найти иную причину развития продольного распространённого миелита в случае отрицательного анализа на антитела к аквапорину-4 (Kitley, 2013).

Рисунок 4. Поражение спинного и головного мозга (данные МРТ) и наличие антител к аквапорину-4.

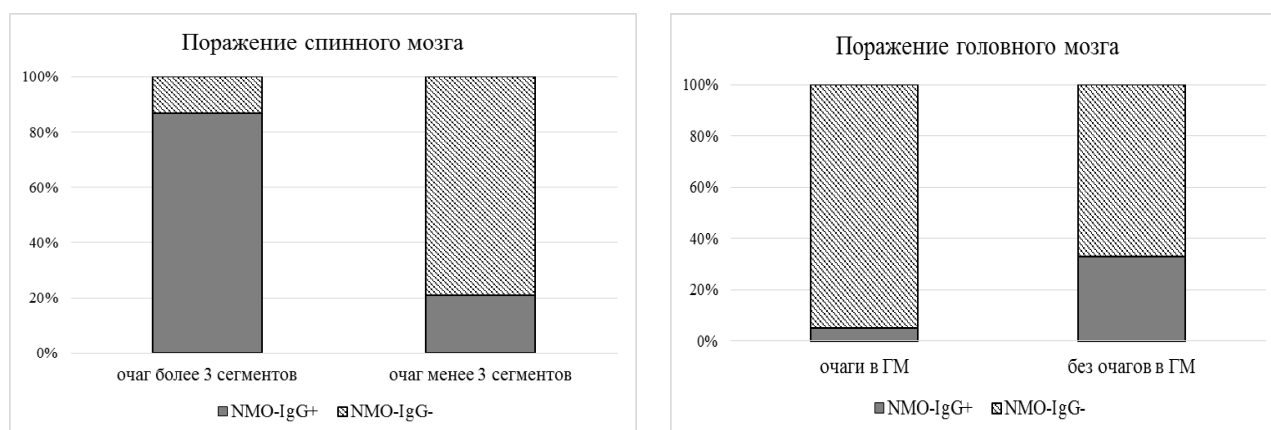
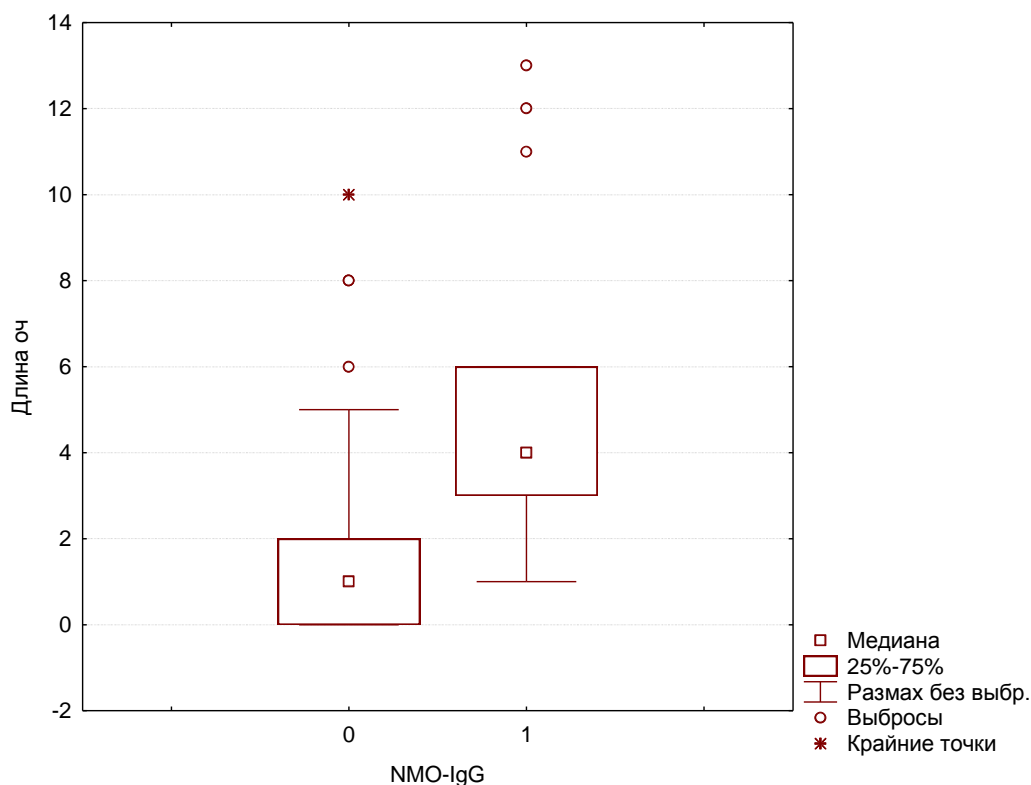


Рисунок 5. Длина очага в спинном мозге (данные МРТ) и наличие антител к аквапорину-4.



У отдельной группы пациентов с оптиконевромиелитом, с положительными NMO-IgG произведен полуколичественный анализ антител. В группу вошли 11 больных, в каждом случае произведено определение антител в различных разведениях сыворотки. Проведён корреляционный анализ между титром антител и показателями: длиной очага в спинном мозге, длительностью заболевания и степенью инвалидизации, выраженной в балле по шкале EDSS. Статистически значимых корреляций в данном исследовании выявлено не было. Скорее всего, это объясняется малой выборкой пациентов, которым была произведена полуколичественная оценка титра антител к аквапорину-4. По данным других исследований с участием большего количества пациентов также отсутствуют данные о взаимосвязи концентрации NMO-IgG и наличия обострения/ремиссии и степени выраженности неврологического дефицита у больных с оптиконевромиелитом (Chanson, 2013; Isobe, 2012).

Расчет чувствительности и специфичности метода непрямой иммунофлуоресценции с клеточной презентацией антигена для определения NMO-IgG приведен в таблице 7.

Таблица 7. Определение чувствительности и специфичности выявления антител к аквапорину-4.

	ОНМ+	ОНМ-	N	
Положительные NMO-IgG	26	12	38	+PV=26/38 =0,68
Отрицательные NMO-IgG	4	191	195	-PV= 191/195 =0,98
N	30	203	233	
	Se=26/30=0,867	Sp=191/203=0,941	P=30/233=0,1288	
	+LR= (26/30)/(12/203) =14,69	-LR= (4/30)/(191/203) =0,141		

Чувствительность (Se) метода непрямой иммунофлуоресценции с клеточной презентацией антигена составила 86,7%. Специфичность (Sp) составила 94,1%. Прогностическая ценность (PV) положительного результата, т.е. доля правильных положительных результатов диагностического теста составила 68%. Прогностическая ценность отрицательного результата – 98%.

Если в нашем исследовании оценивать специфичность не для оптиконевромиелита, а для всего спектра оптиконевромиелит-ассоциированных расстройств, то специфичность данного метода составит 100%. Таким образом, положительная предсказуемая ценность исследования сыворотки крови на антитела к аквапорину-4 методом непрямой иммунофлуоресценции с клеточной презентацией антигена для диагноза ОНМ-ассоциированного расстройства также составит 100%, что позволяет рекомендовать данный метод для практического применения.

Определение окисленных ЛНП и 8-оксо-2'-дезоксигуанозина выполнялось у 39 человек: у 12 пациентов с ОНМ, все из которых были положительные по антителам к аквапорину-4, у 19 пациентов с РС и у 8 здоровых добровольцев.

Концентрации окисленных ЛНП в крови больных оптиконевромиелитом, РС и здоровых добровольцев составили $49,83 \pm 17,55$; $53,33 \pm 18,67$; $55,37 \pm 10,81$

Ед/л соответственно. Статистически значимых различий между исследуемыми группами по данному параметру выявлено не было, также не выявлены статистически значимые различия между совокупной группой пациентов с демиелинизирующими заболеваниями и здоровыми добровольцами.

Концентрации 8-оксо-2'-дезоксигуанозина в крови больных оптиконевромиелитом, РС и здоровых добровольцев составили $84,49 \pm 18,82$; $80,06 \pm 15,15$ и $69,56 \pm 11,54$ нмоль/л соответственно. Статистически значимых различий между исследуемыми группами по данному параметру выявлено не было, однако имелась тенденция к более низкой концентрации 8-оксо-2'-дезоксигуанозина в крови здоровых добровольцев (в сравнении с РС $p=0,09$; в сравнении с оптиконевромиелитом – $p=0,07$).

Определение малонового диальдегида выполнялось у 19 пациентов с РС и у 8 здоровых добровольцев. Концентрации малонового диальдегида в крови больных РС и здоровых добровольцев составили $2,945 \pm 0,47$ и $3,180 \pm 0,66$ ммоль/л соответственно. Статистически значимых различий между исследуемыми группами выявлено не было.

Также был проведен корреляционный анализ по каждому из маркёров окислительного стресса со степенью инвалидизации по шкале EDSS, корреляции выявлено не было.

Результаты исследования маркёров окислительного стресса у пациентов с демиелинизирующими заболеваниями центральной нервной системы и у здоровых добровольцев приведены в таблице 8.

Таблица 8. Показатели окислительного стресса при демиелинизирующих заболеваниях ЦНС.

	РС	ОНМ	Здоровые добровольцы	Значимость
Малоновый диальдегид, ммоль/л	$2,945 \pm 0,47$	Не определялся	$3,180 \pm 0,66$	$p=0.81$
Окисленные	$53,33 \pm 18,67$	$49,83 \pm 17,55$	$55,37 \pm 10,81$	$p=0.67$ (ОНМ)

ЛНП, Ед/л				p=0.91 (РС)
8-оксо-2'- дезоксигуанозин, нмоль/л	80,06±15,15	84,49±18,82	69,56±11,54	p=0.07 (ОНМ) p=0,09 (РС)

В отношении маркёров окислительного стресса, в отличие от литературных данных, статистически значимых различий по исследуемым показателям в группах ОНМ, РС и в группе здоровых добровольцев выявлено не было. Возможно, это связано, во-первых, с небольшой выборкой пациентов. Во-вторых, с локализацией патологического процесса в центральной нервной системе, в связи с чем целесообразным представляется исследование данных показателей в ЦСЖ. В-третьих, концентрация метаболитов – маркёров окислительного стресса в сыворотке крови весьма низка, возможно, интерес будет представлять их определение в моче и слюне. В нашем исследовании выявлена тенденция к повышению концентрации 8-оксо-2'-дезоксигуанозина в группах пациентов с ОНМ и РС по сравнению с добровольцами. Это может косвенно свидетельствовать о преобладании митохондриального повреждения при демиелинизирующих заболеваниях ЦНС, то есть гибели нейронов и астроцитов. Хотя в данном исследовании не обнаружено взаимосвязи между клиническими данными и концентрацией 8-оксо-2'-дезоксигуанозина, он может являться маркёром нейродегенерации и требует дальнейшего изучения.

ВЫВОДЫ

1. Впервые установлено, что особенностями оптиконевромиелита в российской популяции являются: преобладание женщин, относительно поздний возраст дебюта, развитие полного поперечного миелита с поражением шейного и грудного отделов спинного мозга, рецидивирующего течения, а также наличие двустороннего оптического неврита с монофазным течением.

2. Впервые выявлена группа высокого риска развития оптиконевромиелита у больных с изолированным продольным распространённым миелитом и двусторонним и рецидивирующим оптическим невритом. Впервые выявлена и охарактеризована группа пациентов с

аквапорин-ассоциированными синдромами при системных заболеваниях соединительной ткани.

3. Антитела к аквапорину-4 выявляются при оптиконевромиелите и заболеваниях из спектра оптиконевромиелит-ассоциированных расстройств (продольный распространённый миелит, оптический неврит, в том числе ассоциированный с системными аутоиммунными заболеваниями), при этом они отсутствуют в сыворотке пациентов с рассеянным склерозом и острым рассеянным энцефаломиелитом. Данные антитела ассоциированы с более протяженными очаговыми изменениями (3 и более позвоночных сегмента) в спинном мозге ($p=0,0001$) и отсутствием очагового поражения головного мозга по данным магнитно-резонансной томографии ($p=0,0106$). Уровень антител к аквапорину-4 не коррелирует с длительностью заболевания, количеством обострений, степенью инвалидизации и изменениями по данным магнитно-резонансной томографии.

4. Уровни продуктов окисления липидов в сыворотке пациентов с оптиконевромиелитом, рассеянным склерозом и здоровых добровольцев достоверно не различались. Уровни продукта окисления нуклеотидов (8-оксо-2'-дезоксигуанозина) в сыворотке пациентов с оптиконевромиелитом, рассеянным склерозом и здоровых добровольцев достоверно не различались, однако имелась тенденция к повышению данного показателя у пациентов с демиелинизирующими заболеваниями. Корреляции между уровнем маркёров окислительного стресса и клинической картиной заболевания выявлено не было.

5. Определение антител к аквапорину-4 является чувствительным (86,7%) и специфичным (94,1%) маркёром оптиконевромиелита и ассоциированных заболеваний.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Определение антител к аквапорину-4 является рекомендуемым методом при дифференциальной диагностике демиелинизирующих заболеваний центральной нервной системы. Целесообразно проведение данного

исследования всем пациентам со зрительными нарушениями, поражением спинного мозга, а также при изолированных синдромах и при отсутствии типичных клинических и нейровизуализационных проявлений рассеянного склероза.

2. Необходимо быть настороженным в отношении неврологических проявлений системных заболеваний соединительной ткани и в случае выявления антител к аквапорину-4 проводить поиск маркёров системных заболеваний соединительной ткани.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Симанив Т.О., Второва Н.В., Воробьева А.А., Зигангирова Н.А., Захарова М.Н. Диагностическое значение антител к аквапорину-4 при заболеваниях центральной нервной системы // **Нейрохимия**. 2014; №3. С. 246–253.
2. Симанив Т.О., Воробьева А.А., Смирнова Н.В., Зигангирова Н.А., Захарова М.Н. Оптикомиелит и аквапорин-ассоциированные синдромы // **Журнал неврологии и психиатрии имени С.С.Корсакова**. 2015; №2, Вып. 2, С. 31-37
3. Нероев В.В., Елисеева Е.К., Зуева М.В., Лысенко В.С., Захарова М.Н., Цапенко И.В., Семенова Н.А., Симанив Т.О. Демиелинизирующий оптический неврит: Корреляция данных оптической когерентной томографии и мультифокальной электроретинографии. // **Анналы клинической и экспериментальной неврологии**. 2014. № 2. С. 22-26.
4. Симанив Т.О., Васильев А.В., Воробьева А.А., Захарова М.Н., Переседова А.В. Алгоритм диагностики оптиконевромиелита (болезнь Девика) // **Нервные болезни**. 2014. № 2. С. 6-11.
5. Воробьева А.А., Симанив Т.О., Захарова М.Н., Завалишин И.А., Переседова А.В. Опыт применения натализумаба (Тизабри) в Научном центре неврологии // **Эффективная фармакотерапия**. 2014. № 58. С. 4-11.
6. Васильев А.В., Симанив Т.О., Захарова М.Н. Оптиконевромиелит. // Глава в книге «Аутоиммунные заболевания в неврологии». Клиническое руководство. Том. 1, М.:РООИ «Здоровье человека», 2014, С. 30-47.

7. Захарова М.Н., Симанив Т.О., Васильев А.В., Воробьёва А.А. Оптикомиелит // Глава в книге «Неврология и нейрохирургия». Клинические рекомендации, 2-е изд., М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015, С. 173-187.
8. Симанив Т.О., Захарова М.Н., Зигангирова Н.А., Завалишин И.А. Оптикомиелит Девика: клинические и патогенетические аспекты // Сборник материалов III всероссийской конференции с международным участием «Нейроинфекции». 2013. С. 34-36. (тезисы).
9. Симанив Т. О., Воробьева А. А., Второва Н. В., Зигангирова Н. А., Захарова М. Н. Оптикомиелит и аквапорин-ассоциированные синдромы. // Нейроиммунология. 2013. Том XI, №1-2, С. 118-119 (тезисы XIX Всероссийской конференции «Нейроиммунология. Рассеянный склероз»).
10. Симанив Т. О., Коновалова Г. Г., Ланкин В. З., Захарова М. Н. Биомаркеры окислительного стресса при рассеянном склерозе и оптиконевромиелите. // Нейроиммунология. 2015. Том XII, №1-2, С. 85-86 (тезисы XX Всероссийской конференции «Нейроиммунология. Рассеянный склероз»).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АОСРС – азиатский оптикоспинальный рассеянный склероз
 ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
 ЛНП – липопротеины низкой плотности
 ОН – оптический неврит
 ОНМ – оптиконевромиелит
 ОРЭМ – острый рассеянный энцефаломиелит
 ПИТРС – препараты, изменяющие течение рассеянного склероза
 ПРМ – продольный распространённый миелит
 РС – рассеянный склероз
 РНК – рибонуклеиновая кислота
 мРНК – Матричная РНК
 СКВ – системная красная волчанка
 ЦНС – центральная нервная система
 ЦСЖ – цереброспинальная жидкость
 АQP - Аквапорин
 АQP4 – Аквапорин-4
 EAAT - Excitatory amino acid transporter
 EDSS - Expanded Disability Status Scale

HRP – horseradish peroxydaze

NMO – Neuromyelitis optica

NMO-IgG – Антитела к аквапорину-4