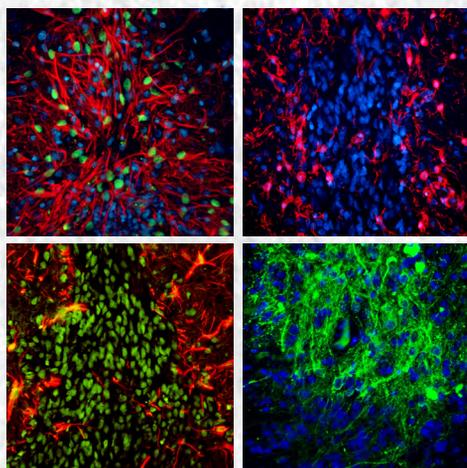


Анналы

клинической и экспериментальной

НЕВРОЛОГИИ

Том 17 № 2



Оригинальные статьи

Клиническая неврология

- Биомаркеры атерогенеза после ангиопластики и стентирования
- Летальность при инсульте, ассоциированном с COVID-19
- Моноклональные антитела в лечении мигрени
- Секвенирование экзома при умственной отсталости
- Факторы риска рецидива грыжи межпозвонковых дисков

Фундаментальная неврология

- Морфология клеток нейротрансплантата на модели болезни Паркинсона

Научный обзор

- Особенности COVID-19 у пациентов с рассеянным склерозом
- Факторы риска аневризматического субарахноидального кровоизлияния
- Анти-В-клеточная терапия в лечении демиелинизирующих заболеваний

Технологии

- Клеточно-молекулярные механизмы болезни Альцгеймера

Клинический разбор

- Стентирование внутренней сонной артерии на экстракраниальном и интракраниальном уровнях

Свидетельство о регистрации ПИ № ФС77-83204
от 12.05.2022 г.

ISSN 2075-5473 (PRINT)
ISSN 2409-2533 (ONLINE)
DOI prefix: 10.54101

Журнал открытого доступа, не берущий плату
за публикацию.

Контент доступен по лицензии Commons Attribution
International 4/0 CC-BY.

Журнал рецензируемый, выходит 4 раза в год,
тираж не ограничен.

Журнал включен в следующие международные
базы данных и информационно-справочные
системы: Scopus, CrossRef, DOAJ (Directory of Open
Access Journals), Science Index, RSCI (Russian Science
Citation Index), Google Scholar.

Решением президиума ВАК при Министерстве
науки и высшего образования Российской
Федерации журнал включён в перечень
периодических изданий, рекомендованных для
публикации работ соискателей учёных степеней.

Полные версии статей журнала доступны на сайтах:

<https://annaly-nevrologii.com/>;
<https://elibrary.ru/>; <https://cyberleninka.ru>

УЧРЕДИТЕЛЬ:

ФГБНУ «Научный центр неврологии» (ФГБНУ НЦН),
Россия, 125367 Москва, Волоколамское шоссе, д. 80.

ИЗДАТЕЛЬСТВО:

ЗАО «РКИ Соверо пресс».
Россия, 125315, Москва, ул. Усиевича, д. 1, п. 2, оф. 59.
www.soveropress.ru

Генеральный директор: В.Б. Тараторкин.
Отдел развития и распространения: +7 (916) 691-92-65,
верстка: А.А. Виноградова, редактор: М.И. Лаптева,
технический редактор: С.М. Сосновская.

РЕДАКЦИЯ:

Редакция расположена по адресу учредителя.
Руководитель редакционно-издательской группы:
О.Г. Иванова
Редактор: О.В. Устинкова
Тел.: +7(499) 740-80-79
e-mail: annaly-nevrologii@neurology.ru

Редакция не несет ответственности за содержание
рекламных материалов.

К публикации принимаются только статьи,
подготовленные в соответствии с правилами
для авторов, размещенными на сайте
www.annaly-nevrologii.com.

Направляя статью в редакцию, авторы принимают
условия договора публичной оферты.

Подписка в редакции и на сайте.

Подписные индексы в каталоге «Пресса России»:
11878 (на год), 29662 (на полгода).

Подписано в печать: 01.06.2023

На 1-й стр. обложки: фрагмент рис. 2. к статье
Д.Н. Воронкова и соавт. (с. 43).

© ФГБНУ «Научный центр неврологии», 2023



Анналы

клинической и экспериментальной

НЕВРОЛОГИИ

Annals of Clinical and Experimental Neurology
Annaly Klinicheskoy i Eksperimental'noy Nevrologii

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ

Том 17 № 2 2023

www.annaly-nevrologii.com

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Пирадов М.А. — д.м.н., проф., академик РАН (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Иллариошкин С.Н. — д.м.н., проф., академик РАН (Москва, Россия)

Танашян М.М. — д.м.н., проф., член-корр. РАН (Москва, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Сергеев Д.В. — к.м.н. (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Александров А.В. — д.м.н., проф. (Мемфис, США)

Богданов Э.И. — д.м.н., проф. (Казань, Россия)

Габибов А.Г. — д.х.н., проф., академик РАН
(Москва, Россия)

Гулевская Т.С. — д.м.н., проф. (Москва, Россия)

Зельман В.Л. — проф., иностр. член РАН,
(Лос-Анджелес, США)

Кадыков А.С. — д.м.н., проф. (Москва, Россия)

Калашникова Л.А. — д.м.н., проф. (Москва, Россия)

Лукьянов С.А. — д.б.н., проф., академик РАН (Москва,
Россия)

Мухина И.В. — д.б.н., проф. (Нижегород, Нижегород,
Россия)

Одинак М.М. — д.м.н., проф., член-корр. РАН
(Санкт-Петербург, Россия)

Пронин И.Н. — д.м.н., проф., академик РАН
(Москва, Россия)

Рейлман Р. — проф. (Мюнстер, Германия)

Ружичка Э. — проф. (Прага, Чехия)

Салмина А.Б. — д.м.н., проф. (Москва, Россия)

Селихова М.В. — д.м.н. (Бристоль, Великобритания)

Серова Н.С. — д.м.н., проф., член-корр. РАН
(Москва, Россия)

Скребицкий В.Г. — д.б.н., проф., член-корр. РАН
(Москва, Россия)

Супонева Н.А. — д.м.н., проф., член-корр. РАН
(Москва, Россия)

Терновой С.К. — д.м.н., проф., академик РАН
(Москва, Россия)

Фейгин В.Л. — д.м.н., проф., иностр. член РАН
(Окленд, Новая Зеландия)

Яхно Н.Н. — д.м.н., проф., академик РАН
(Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Бельская Г.Н. — д.м.н., проф. (Москва, Россия)

Боголепова И.Н. — д.м.н., проф., академик РАН
(Москва, Россия)

Власов П.Н. — д.м.н., проф. (Москва, Россия)

Гусев Е.И. — д.м.н., проф., академик РАН
(Москва, Россия)

Иванова Г.Е. — д.м.н., проф. (Москва, Россия)

Заялова З.А. — д.м.н., проф. (Казань, Россия)

Лихачев С.А. — д.м.н., проф. (Минск, Беларусь)

Лихтерман Л.Б. — д.м.н., проф. (Москва, Россия)

Лядов К.В. — д.м.н., проф., академик РАН
(Москва, Россия)

Манвелян О.М. — д.м.н., проф. (Ереван, Армения)

Машин В.В. — д.м.н., проф. (Ульяновск, Россия)

Новикова Л.Б. — д.м.н., проф. (Уфа, Россия)

Прокопенко С.В. — д.м.н., проф.
(Красноярск, Россия)

Скоромец А.А. — д.м.н., проф., академик РАН
(Санкт-Петербург, Россия)

Столяров И.Д. — д.м.н., проф. (Санкт-Петербург,
Россия)

Федин А.И. — д.м.н., проф. (Москва, Россия)

Хаспеков Л.Г. — д.б.н. (Москва, Россия)

Чехонин В.П. — д.м.н., проф., академик РАН
(Москва, Россия)

Шмырев В.И. — д.м.н., проф. (Москва, Россия)

Certificate of registration of the journal
FS77-83204

ISSN 2075-5473 (PRINT)
ISSN 2409-2533 (ONLINE)
DOI prefix: 10.54101

Publications is free of charge for all authors.

All accepted articles publish with the Creative Commons
Attribution International license (CC BY).

The peer-review journal publishes issues quarterly
(4 times a year)

INDEXATION:

- Scopus,
- CrossRef,
- DOAJ (Directory of Open Access Journals),
- RSCI (Russian Science Citation Index),
- Google Scholar

FOUNDER:

Research Center of Neurology
Russia, 125367 Moscow, Volokolamskoe schosse, 80

PUBLISHER:

RKI Sovero Press.
Chief Executive Officer: V.B. Taratorkin.
Department of Development and Distribution:
+7 (916) 691-92-65, makeup manager: A.A. Vinogradova,
editor: M.I. Lapteva, technical editor: S.M. Sosnovskaya.
Russia, 125315, Moscow, Usievich str., 1, p. 2, of. 59.
www.sovereignpress.ru

EDITORIAL OFFICE:

Head of the editorial and publishing group: O.G. Ivanova,
editor: O.V. Ustinkova
Russia, 125367 Moscow, Volokolamskoe schosse, 80.
Phone: +7(499) 740-80-79,
e-mail: annaly-nevrologii@neurology.ru

The editors are not responsible for the content
of advertising materials.

Only articles prepared in accordance with the guidelines
are accepted for publication. The guidelines can be found
on the website www.annaly-nevrologii.com.

By sending the article to the editor, the authors accept
the terms of the public offer agreement.

Published: 01.06.2023

On the front cover: part of the Figure 2 from the article
of D.N. Voronkov et al. (p. 43).

© RESEARCH CENTER OF NEUROLOGY, 2023



Анналы клинической и экспериментальной НЕВРОЛОГИИ

Annals of Clinical and Experimental Neurology
Annaly Klinicheskoy i Eksperimental'noy Nevrologii

PEER-REVIEW MEDICAL JOURNAL

Volume 17 No. 2 2023

www.annaly-nevrologii.com

EDITOR-IN-CHIEF

Piradov M.A. — Prof., D. Sci. (Med.), Full member of RAS (Moscow, Russia)

DEPUTY EDITORS-IN-CHIEF

Ilarioshkin S.N. — Prof., D. Sci. (Med.), Full member of RAS (Moscow, Russia)
Tanashyan M.M. — Prof., D. Sci. (Med.), Corr. member of RAS (Moscow, Russia)

EXECUTIVE EDITOR

Sergeev D.V. — Cand. Sci. (Med.) (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD

Aleksandrov A.V. — Prof. (Memphis, USA)
Bogdanov E.I. — Prof., D. Sci. (Med.) (Kazan, Russia)
Feigin V.L. — Prof., D. Sci. (Med.), For. Full member
of RAS (Auckland, New Zealand)
Gabibov A.G. — Prof., D. Sci. (Chem.), Full member
of RAS (Moscow, Russia)
Gulevskaya T.S. — Prof., D. Sci. (Med.),
(Moscow, Russia)
Kadykov A.S. — Prof., D. Sci. (Med.) (Moscow, Russia)
Kalashnikova L.A. — Prof., D. Sci. (Med.)
(Moscow, Russia)
Luk'yanov S.A. — Prof., Full member of RAS
(Moscow, Russia)
Mukhina I.V. — Prof., D. Sci. (Biol.)
(Nizhniy Novgorod, Russia)
Odinak M.M. — Prof., D. Sci. (Med.), Corr. member
of RAS (Saint Petersburg, Russia)
Pronin I.N. — Prof., D. Sci. (Med.), Full member
of RAS (Moscow, Russia)
Reilmann R. — Prof., MD (Muenster, Germany)
Růžička E. — Prof., MD, DSc. (Prague, Czech Republic)
Salmina A.B. — Prof., D. Sci. (Med.) (Moscow, Russia)
Selikhova M.V. — D. Sci. (Med.) (Bristol, UK)
Serova N.S. — D. Sci. (Med.), Prof., Corr. member
of RAS (Moscow, Russia)
Skrebtskiy V.G. — Prof., D. Sci. (Biol.), Corr. member
of RAS (Moscow, Russia)
Suponeva N.A. — D. Sci. (Med.), Prof., Corr. member
of RAS (Moscow, Russia)
Ternovoy S.K. — D. Sci. (Med.), Prof., Full member
of RAS (Moscow, Russia)
Yakhno N.N. — Prof., D. Sci. (Med.), Full member
of RAS (Moscow, Russia)
Zelman V.L. — Prof., D. Sci. (Med.), For. member
of RAS (Los Angeles, USA)

EDITORIAL COUNCIL

Belskaya G.N. — Prof., D. Sci. (Med.) (Moscow, Russia)
Bogolepova I.N. — Prof., D. Sci. (Med.), Full member
of RAS (Moscow, Russia)
Chekhonin V.P. — Prof., D. Sci. (Med.), Full member
of RAS (Moscow, Russia)
Fedin A.I. — Prof., D. Sci. (Med.) (Moscow, Russia)
Gusev E.I. — Prof., D. Sci. (Med.), Full member of RAS
(Moscow, Russia)
Ivanova G. Ye. — Prof., D. Sci. (Med.)
(Moscow, Russia)
Khaspekov L.G. — Prof., D. Sci. (Biol.)
(Moscow, Russia)
Likhachev S.A. — Prof., D. Sci. (Med.) (Minsk, Belarus)
Likhтерman L.B. — Prof., D. Sci. (Med.)
(Moscow, Russia)
Lyadov K.V. — Prof., D. Sci. (Med.), Full member
of RAS (Moscow, Russia)
Manvelyan O.M. — Prof., D. Sci. (Med.)
(Yerevan, Armenia)
Mashin V.V. — Prof., D. Sci. (Med.) (Ulyanovsk, Russia)
Novikova V.V. — Prof., D. Sci. (Med.) (Ufa, Russia)
Prokopenko S.V. — Prof., D. Sci. (Med.)
(Krasnoyarsk, Russia)
Shmyrev V.I. — Prof., D. Sci. (Med.) (Moscow, Russia)
Skoromets A.A. — Prof., D. Sci. (Med.), Full member
of RAS (Saint Petersburg, Russia)
Stolyarov I.D. — Prof., D. Sci. (Med.)
(Saint Petersburg, Russia)
Vlasov P.N. — Prof., D. Sci. (Med.) (Moscow, Russia)
Zalyalova Z.A. — Prof., D. Sci. (Med.) (Kazan, Russia)

В номере:

Оригинальные статьи

Клиническая неврология

Оценка биомаркерного профиля у пациентов, перенёсших каротидную ангиопластику со стентированием коронавирусной инфекцией COVID-19 5
 Танашия М.М., Аннушкин В.А., Раскуражев А.А., Лагода О.В., Шабалина А.А., Медведев Р.Б., Щипакин В.Л.
 Научный центр неврологии, Москва, Россия

Предикторы больницы летальности среди пациентов с инсультом, ассоциированным с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 16
 Рахматуллин А.Р., Кутлубаев М.А., Хайруллин А.Т.
 ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», Уфа, Россия; ГБУЗ РБ «Дюртюлинская центральная районная больница», Дюртюли, Россия

Лечение частой эпизодической и хронической мигрени моноклональным антителом к кальцитонин-ген-родственному пептиду 22
 Добрынина Л.А., Афанасьев М.А., Белопасова А.В., Губанова М.В., Байдина Е.В.
 ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия

Клиническое секвенирование экзема у пациентов с недифференцированной общей задержкой развития и интеллектуальными нарушениями 28
 И Д.В., Иокша В.А., Проскокова Т.Н.
 КГАНУ «Хабаровский центр развития психологии и детства «Психология», Хабаровск, Россия; ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет», Хабаровск, Россия

Роль медиаторов воспаления, факторов роста и остеодистрофических процессов в развитии рецидивов грыж диска поясничного отдела позвоночника 36
 Чехонацкий В.А., Древалъ О.Н., Кузнецов А.В., Чехонацкий А.А., Захарова Н.Б., Гришина Е.А., Горожанин А.В., Волна В.В.
 ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», Москва, Россия; ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского», Саратов, Россия; ГБУЗ «Городская клиническая больница имени С.П. Боткина», Москва, Россия

Фундаментальная неврология

Морфологические изменения нейрональных предшественников, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека и трансплантированных в стриатум крыс с моделью болезни Паркинсона 43
 Воронков Д.Н., Ставровская А.В., Лебедева О.С., Ли Вен, Ольшанский А.С., Гуцина А.С., Капкаева М.Р., Богомазова А.Н., Лагарькова М.А., Иллариошкин С.Н.
 ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия; ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени Ю.М. Лопухина», Москва, Россия; Китайский медицинский университет, Шеньян, Китайская Народная Республика

Научный обзор

Особенности COVID-19 у пациентов с рассеянным склерозом: основные подходы к ведению пациентов, лечению и вакцинации 51
 Малько В.А., Бисага Г.Н., Топузова М.П., Терновых И.К., Алексеева Т.М.
 ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Россия

Некоторые факторы риска аневризматического субарахноидального кровоизлияния 61
 Шнякин П.Г., Казаева И.А.
 ФГБОУ «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого», Красноярск, Россия; КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Красноярск, Россия

Анти-В-клеточная терапия в авангарде лечения демиелинизирующих заболеваний центральной нервной системы 65
 Симанив Т.О., Белкина А.А., Захарова М.Н.
 ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия

Технологии

Современные технологии изучения клеточно-молекулярных механизмов болезни Альцгеймера 75
 Мухамедьяров М.А., Ахмадиева Л.А., Нагиев К.К., Зефирова А.Л.
 ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Россия

Клинический разбор

Одномоментное стентирование внутренней сонной артерии на экстракраниальном и интракраниальном уровнях у пациента с разомкнутым Виллизиевым кругом и сопутствующей вазоренальной гипертензией 84
 Азарков М.В., Сафуанов А.А., Евреева О.С., Герцог О.Б., Сафуанова О.С., Попов В.В., Хильчук А.А.
 ГБУЗ Калининградской области «Гусевская центральная районная больница», Гусев, Россия; АНО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», Санкт-Петербург, Россия; СПб ГБУЗ «Городская больница № 40», Сестрорецк, Россия

Table of Contents:

Original articles

Clinical neurology

Assessment of biomarker profile in patients post carotid angioplasty and stenting 5
Tanashyan M.M., Annushkin V.A., Raskurazhev A.A., Lagoda O.V., Shabalina A.A., Medvedev R.B., Shchipakin V.L.
Research Center of Neurology, Moscow, Russia

Predictors of in-hospital mortality among patients with stroke associated with COVID-19 16
Rakhmatullin A.R., Kutlubayev M.A., Khayrullin T.A.
Bashkir State Medical University, Ufa, Russia; Dyurtyuli Central District Hospital, Dyurtyuli, Russia

The management of high-frequency episodic and chronic migraines with calcitonin gene-related peptide monoclonal antibody 22
Dobrygina L.A., Afanasev M.A., Belopasova A.V., Gubanova M.V., Baydina E.V.
Research Center of Neurology, Moscow, Russia

Clinical exome sequencing in patients with undifferentiated general developmental delay and intellectual disabilities 28
I.D.V., Ioksha V.A., Proskokova T.N.
Khabarovsk Center for the Development of Psychology and Childhood «Psylogia», Khabarovsk, Russia; Far-East State Medical University, Khabarovsk, Russia

Role of inflammatory mediators, growth factors, and osteodystrophy in recurrent lumbar disk herniation 36
Chekhonatskiy V.A., Dreval O.D., Kuznetsov A.V., Chekhonatskiy A.A., Zakharova N.B., Grishina E.A., Gorozhanin A.V., Volna V.V.
Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia; Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia; S.P. Botkin City Clinical Hospital, Moscow, Russia

Fundamental neurology

Morphological changes in neural progenitors derived from human induced pluripotent stem cells and transplanted into the striatum of a Parkinson's disease rat model 43
Voronkov D.N., Stavrovskaya A.V., Lebedeva O.S., Li W., Olshansky A.S., Gushchina A.S., Kapkaeva M.R., Bogomazova A.N., Lagarkova M.A., Illarionov S.N.
Research Center of Neurology, Moscow, Russia; Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical and Chemical Medicine, Moscow, Russia; Health Sciences Institute, China Medical University, Shenyang, China

Reviews

COVID-19 features in patients with multiple sclerosis: main approaches to their management, treatment, and vaccination 51
Malko V.A., Bisaga G.N., Topuzova M.P., Ternovyykh I.K., Alekseeva T.M.
Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia

Several risk factors for aneurysmal subarachnoid hemorrhage 61
Shmyakin P.G., Kazadaeva I.A.
Professor V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia; Krasnoyarsk Regional Clinical Hospital, Krasnoyarsk, Russia

B cell depletion therapy as a cutting-edge treatment of demyelinating diseases of the central nervous system 65
Simaniv T.O., Belkina A.A., Zakharova M.N.
Research Center of Neurology, Moscow, Russia

Technologies

State-of-the-art technologies for studying cellular and molecular mechanisms underlying Alzheimer's disease 75
Mukhamedyarov M.A., Akhmadieva L.A., Nagiev K.K., Zefirov A.L.
Kazan State Medical University, Kazan, Russia

Clinical analysis

Single-stage extracranial and intracranial stenting of the internal carotid artery in a patient with open circle of Willis and associated renovascular hypertension 84
Agarkov M.V., Safuanov A.A., Evreeva S.T., Gertsog O.B., Safuanova O.S., Popov V.V., Khilchuk A.A.
Gusev Central District Hospital, Gusev, Russia; Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, Saint-Petersburg, Russia; City Hospital No. 40, Sestroretsk, Russia



Оценка биомаркерного профиля у пациентов, перенёсших каротидную ангиопластику со стентированием

М.М. Танащян, В.А. Аннушкин, А.А. Раскуражев, О.В. Лагода, А.А. Шабалина, Р.Б. Медведев, В.Л. Щипакин

Научный центр неврологии, Москва, Россия

Аннотация

Введение. Превалирующая основа сердечно-сосудистых заболеваний — атеросклероз, хроническое, многофакторное заболевание. Большую значимость в развитии нарушений мозгового кровообращения на фоне атеросклероза отводят изменениям в системах крови и сосудистой стенке. С целью верификации патологического действия используют биомаркеры — объективно измеряемые показатели различных процессов.

Цель исследования — оценка биомаркеров атерогенеза у пациентов, перенёсших каротидную ангиопластику со стентированием (КАС), в динамике развития цереброваскулярной патологии.

Материалы и методы. Обследовали 50 пациентов (50% мужчин и 50% женщин; средний возраст $65,4 \pm 6,4$ года) с установленным цереброваскулярным заболеванием на фоне атеросклероза сосудов головного мозга. Все обследованные имели гемодинамически значимое поражение внутренней сонной артерии: как с симптомным (стеноз 60% и более), так и с асимптомным (70% и более) стенозами, подтверждёнными с помощью дуплексного сканирования брахиоцефальных артерий головы. Всем пациентам по показаниям была проведена КАС. До и через 1 год после ангиореконструктивного вмешательства выполнены общесоматический и неврологический осмотр, магнитно-резонансная томография головного мозга, лабораторные исследования биомаркеров атерогенеза.

Результаты. Исходно у всех пациентов наблюдалось повышение проатерогенного сдвига изучаемых показателей крови, преимущественно показателей деградации внеклеточного матрикса, воспаления и биомаркеров, ассоциированных с атерогенезом (в том числе остеопротегерина и хромогранина А). Обнаружена прямая корреляционная связь остеопротегерина с качеством атеросклеротических бляшек с преобладанием гиперэхогенного компонента ($r = 0,29$; $p < 0,05$). При контрольном ультразвуковом исследовании каротидной системы через год не обнаружено развития рестеноза ни у одного из пациентов в стентированных артериях.

Через 1 год после КАС определены значимые изменения таких биомаркеров, как остеопротегерин (снижение до $1,765$ нг/мл [$1,592$; $1,937$]; $p < 0,05$) и хромогранин А (повышение до $31,3$ мкг/л [$13,9$; $90,7$]; $p < 0,05$). При повторном исследовании выявлена ассоциация изменения паттерна системы NO в сторону его улучшения (повышение NO до $38,23$ мкмоль/л [$32,95$; $43,51$]; $p < 0,001$), сдвига в морфологии атеросклеротических бляшек и биомаркерного профиля в атеропротективную сторону.

Заключение. Проспективное, в течение 1 года, наблюдение за пациентами после КАС по поводу симптомного/асимптомного гемодинамически значимого стеноза внутренней сонной артерии выявило в целом благоприятное изменение соотношения уровня биомаркеров атерогенеза (как ультразвуковых, так и показателей крови) в сторону атеропротективного спектра. Это способствовало отсутствию прогрессирования церебрального атеросклероза в период наблюдения. Возможными медиаторами этого процесса могут служить хромогранин А и остеопротегерин, что обосновывает необходимость дальнейшего их изучения в аспекте атерогенеза.

Ключевые слова: атеросклероз; каротидная баллонная ангиопластика со стентированием; ишемический инсульт; биомаркеры; воспаление; эндотелиальная дисфункция

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБНУ НЦН (протокол № 9-5/20 от 25.11.2020).

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешних источников финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Адрес для корреспонденции: 125367, Москва, Волоколамское шоссе, д. 80. ФГБНУ «Научный центр неврологии». E-mail: annushkin@neurology.ru. Аннушкин В.А.

Для цитирования: Танащян М.М., Аннушкин В.А., Раскуражев А.А., Лагода О.В., Шабалина А.А., Медведев Р.Б., Щипакин В.Л. Оценка биомаркерного профиля у пациентов, перенёсших каротидную ангиопластику со стентированием. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2023;17(2):5–15.
DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.1>

Поступила 20.02.2023 / Принята в печать 12.03.2023 / Опубликовано 25.06.2023

Assessment of Biomarker Profile in Patients Post Carotid Angioplasty and Stenting

Marine M. Tanashyan, Vladislav A. Annushkin, Anton A. Raskurazhev, Olga V. Lagoda, Alla A. Shabalina, Roman B. Medvedev, Vladimir L. Shchipakin

Research Center of Neurology, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Cardiovascular diseases are predominantly caused by atherosclerosis as a multifactorial chronic condition. Alterations in the hematological system and the blood vessel wall are considered as highly significant for onset and development of cerebrovascular disorders associated with atherosclerosis. Biomarkers as measurable indicators are to verify abnormal activity.

Objective: to assess atherogenesis biomarkers in patients after carotid angioplasty and stenting (CAS) as associated with development of cerebrovascular disease.

Materials and methods. We evaluated 50 individuals (50% men, 50% women; average age 65.4 ± 6.4 years) with established cerebrovascular disease associated with brain atherosclerosis. All of them had hemodynamically significant abnormalities in the internal carotid artery (ICA) with both symptomatic (stenosis 60% and more) and asymptomatic (stenosis 70% and more) stenoses confirmed by duplex scanning of the brachiocephalic arteries. All patients underwent CAS as indicated. Before and 1 year after the intervention, we performed clinical and neurological examinations, brain magnetic resonance imaging, and laboratory tests of atherogenesis biomarkers.

Results. At baseline, all the individuals demonstrated a pro-atherogenic shift in the assessed indicators, predominantly markers of extracellular matrix degradation, inflammation and atherogenesis (including osteoprotegerin and chromogranin A). Additionally, we established a direct correlation between osteoprotegerin levels and the characteristics of mostly hyperechoic atherosclerotic plaques ($r = 0.29$; $p < 0.05$). A year later, no signs of restenosis were shown in follow-up ultrasound assessment of stented arteries in any patient.

In 1 year post CAS, we found significant changes in the levels of osteoprotegerin (decrease to 1.765 pg/mL [1.592 ; 1.937]; $p < 0.05$) and chromogranin A (elevation to 31.3 µg/L [13.9 ; 90.7]; $p < 0.05$). Re-assessment demonstrated association between changes in the pattern of the nitrogen oxide system, which tends to improve (NO elevation to 38.23 µmol/L [32.95 ; 43.51]; $p < 0.001$), and atheroprotective shift in the morphology of atherosclerotic plaques and biomarker profile.

Conclusion. Prospective, 1-year long observation for patients who underwent CAS for symptomatic/asymptomatic hemodynamically significant ICA stenoses revealed favourable atheroprotective shift in both ultrasound and hematological atherogenesis biomarker ratio. This shift contributed to the absence of cerebral atherosclerosis progression during the follow-up. The process may be mediated by chromogranin A and osteoprotegerin, and their further research is needed from perspective of atherogenesis.

Keywords: atherosclerosis; carotid balloon angioplasty and stenting; ischemic stroke; biomarkers; inflammation; endothelial dysfunction

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Research Center of Neurology (protocol No. 9-5/20, November 25, 2020).

Source of funding. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For correspondence: 125367, Russia, Moscow, Volokolamskoye shosse, 80. Research Center of Neurology. E-mail: annushkin@neurology.ru. Annushkin V.A.

For citation: Tanashyan M.M., Annushkin V.A., Raskurazhev A.A., Lagoda O.V., Shabalina A.A., Medvedev R.B., Shchipakin V.L. Assessment of biomarker profile in patients post carotid angioplasty and stenting. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2023; 17(2):5–15. (In Russ.)

DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.1>

Received 20.02.2023 / Accepted 12.03.2023 / Published 25.06.2023

Введение

Сосудистые катастрофы, в том числе ишемический инсульт, являются важнейшей, неуклонно растущей проблемой XXI в. со значимыми медицинскими и социально-экономическими последствиями [1]. Превалирующая основа сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) — атеросклероз, хроническое, многофакторное заболевание. Большую значимость в развитии нарушений мозгового кровообращения на фоне этого заболевания отводят разнообразным изменениям в системах крови и сосудистой стенки [2, 3].

С целью верификации (диагностики) того или иного патологического действия используются различные биомаркеры — количественно и объективно измеряемые показате-

тели этого процесса или ответа на фармакологическую терапию [4]. Биомаркеры атеросклероза церебральных артерий на сегодняшний день представлены в основном результатами ангиовизуализирующих методов: компьютерная томография, магнитно-резонансная ангиография и ультразвуковое исследование, в том числе с усилением контрастным веществом для определения неоангиогенеза [5]. В то же время за последние три десятилетия было определено немалое количество потенциально проатерогенных/атеропротективных биомаркеров крови. Сочетание ультразвуковых характеристик сосудистой стенки с биомаркерами крови представляется интересной моделью для эффективной стратификации риска и мониторинга прогрессирования цереброваскулярного здоровья пациента.

Ранее проведённые работы показали высокую вероятность развития сердечно-сосудистых осложнений, ассоциированных с повышением таких биомаркеров, как медиаторы воспаления и эндотелиальной дисфункции (молекулы межклеточной адгезии, P- и E-селектины, белки острой фазы (С-реактивный белок, фибриноген, амилоид А, про- и противовоспалительные цитокины и др.) [6, 7]. Наряду с вышеуказанными и другими известными биомаркерами, характеризующими нарушение липидного обмена (адипонектин, лептин), патологию гемореологии и гемостаза (ингибитор активатора плазминогена-1 (PAI-1), тканевой активатор плазминогена (t-PA)), эндотелиальной дисфункции (система оксида азота, асимметричный диметиларгинин), воспалительную реакцию (липопротеид-ассоциированная фосфолипаза А2, неоптерин, фактор некроза опухоли-α) и вносящими свой вклад в развитие атеросклероза, в последнее время появились другие индикаторы прогрессирования ССЗ.

В 2016 г. J. Verntsson и соавт. показали, что повышение сывороточного орозоумукоида коррелировало с прогрессированием церебрального атеросклероза и увеличивало частоту возникновения инсульта [8]. После обнаружения J. Kokkinos и соавт. связи между повышением фактора роста фибробластов и наличием у пациента ССЗ [9] было выдвинуто предположение о возможности использования этого показателя как маркера субклинического течения атеросклероза. Y. Сао и соавт. доказали достоверную значимость сывороточного остеопротегерина [10], а S.K. Mahata и соавт. — хромогранина А в прогрессировании атеросклероза, в том числе на животных моделях [11].

В спектре мероприятий по профилактике ишемического инсульта атеротромботического генеза важное место занимает каротидная реваскуляризация: операции каротидной эндартерэктомии (КЭЭ) и каротидной ангиопластики со стентированием (КАС) [12, 13]. Назначаемая этой категории больных антиагрегантная и липидснижающая терапия в адекватных дозах позволяет значительно снизить риск развития ишемического инсульта и замедлить прогрессирование атеросклероза. Кроме того, воздействие на модифицируемые факторы риска и увеличение приверженности лечению играет большую роль в снижении риска развития ишемического инсульта и рестеноза после хирургического вмешательства.

Несмотря на исследования эндотелиальной дисфункции, воспаления и нарушений обмена липидов, лишь малая часть из них проведена в динамике с оценкой вариантов развития и прогрессирования атеросклероза. В ряде работ фокусировались на изучении концентрации биомаркеров в качестве предикторов развития клинических проявлений атеросклероза и его прогрессирования, в других оценивались влияние и достоверное повышение провоспалительных биомаркеров после ангиореконструктивных вмешательств, в том числе с их влиянием на тромботические осложнения, что, по мнению авторов, говорит о возможности их использования для стратификации риска [14–16]. Показана существенная разница в повышении провоспалительных биомаркеров после КАС и каротидной эндартерэктомии. Отмечено более значимое повышение различных матриксных металлопротеиназ (ММП) после каротидной эндартерэктомии, что может объясняться более протяжённым повреждением всех слоёв артериальной стенки, в то время как КАС сопровождается меньшими изменениями в концентрации провоспалительных биомар-

керов, коррелирующих со снижением частоты послеоперационных осложнений (инсульт, когнитивные нарушения, рестеноз) [17].

Целью нашего исследования явилась оценка биомаркеров атерогенеза у пациентов, перенёвших стентирование сонной артерии, в динамике развития цереброваскулярной патологии.

Материалы и методы

В настоящее проспективное наблюдение были включены 50 пациентов (средний возраст $65,4 \pm 6,4$ года; 50% мужчин и 50% женщин). Критерием включения был установленный диагноз цереброваскулярного заболевания на фоне церебрального атеросклероза со стенозом внутренней сонной артерии (ВСА) — асимптомный стеноз 70% и более или симптомный стеноз 60% и более, являющийся показанием к ангиореконструктивному вмешательству. Критериями исключения стали соматические заболевания тяжёлой степени; онкологические заболевания, в том числе в анамнезе; острые инфекционные заболевания (менее 6 мес в анамнезе). Стенозы ВСА были подтверждены с помощью дуплексного сканирования брахиоцефальных артерий головы. Основные демографические и клинические характеристики пациентов представлены в табл. 1.

Всем пациентам по показаниям была проведена КАС ВСА. Средний период наблюдения составил 372 ± 28 дней (минимум — 328; максимум — 487). После проведения КАС все обследованные получали свою базовую терапию, в том числе с коррекцией гипогликемических и гипотензивных препаратов, а также в обязательном порядке двойную антиагрегантную и липидснижающую терапию.

Наряду с рутинными исследованиями, исходя из основной цели, у всех пациентов оценивали:

- параметры гемореологии и гемостаза (агрегация тромбоцитов, индуцированная адреналином и АДФ (АТ-адреналин, АТ-АДФ), фибриноген, дизентегрин-подобная металлопротеаза с мотивом тромбоспондина-1, член 13 (ADAMTS-13), t-PA, PAI-1;
- показатели жирового и липидного обмена (общий холестерин, липопротеины низкой плотности (ЛПНП), атерогенная малая субъединица (sЛПНП), липопротеины высокой плотности, адипонектин, липопротеин А, эндогенный регулятор метаболизма липидов и глюкозы семейства фактора роста фибробластов, липидзависимая фосфолипаза А2;
- показатели дисфункции эндотелия, повреждения сосудистой стенки и патологического ангиогенеза (система оксида азота (NO, NO₂, NO₃), молекула межклеточной адгезии-1, фактор роста эндотелия (VEGF-A), растворимый тромбомодулин);
- маркеры деградации внеклеточного матрикса, воспаления и маркеры ассоциированные с атерогенезом (ММП-1, ММП-9) ингибитор ММП-1, интерлейкин-1 и -6, асимметричный диметиларгинин, орозоумукоид, хромогранин А, остеопротегерин.

Оценка приверженности проведена с использованием стандартизованных отечественных опросников: Российский универсальный опросник количественной оценки приверженности лечению и отечественный Опросник приверженности терапии. Подобные исследования выполня-

Таблица 1. Общая характеристика пациентов

Table 1. General patients' characteristics

Параметры Parameters	Больные с цереброваскулярными заболеваниями Patients with cerebrovascular disease (n = 50)	
Возраст, лет Age, years	<i>M</i> ± <i>SD</i>	65,4 ± 6,4
Пол Sex		
женщины female	<i>n</i> (%)	25 (50)
мужчины male	<i>n</i> (%)	25 (50)
Отягощённый семейный анамнез по ССЗ Family history of cardiovascular disorders	<i>n</i> (%)	20 (40%)
Артериальная гипертония Arterial hypertension	<i>n</i> (%)	47 (94)
Ишемический инсульт в анамнезе History of ischemic stroke	<i>n</i> (%)	22 (44)
Симптомный каротидный стеноз Symptomatic carotid stenosis	<i>n</i> (%)	22 (44)
Асимптомный каротидный стеноз Asymptomatic carotid stenosis	<i>n</i> (%)	28 (56)
Ишемическая болезнь сердца Ischemic heart disease	<i>n</i> (%)	20 (40)
Коронарное стентирование Coronary stenting	<i>n</i> (%)	6 (12)
Фибрилляция предсердий Atrial fibrillation	<i>n</i> (%)	1 (2)
Гипертрофия левого желудочка Left ventricular hypertrophy	<i>n</i> (%)	26 (52%)
Сахарный диабет 2-го типа Type 2 diabetes mellitus	<i>n</i> (%)	15 (30,0)
Ожирение/избыточный вес Obesity/overweight	<i>n</i> (%)	16 (32)/20 (40)
Индекс массы тела, кг/м ² Body mass index, kg/sq. m	<i>Me</i> [<i>Q</i> ₂₅ ; <i>Q</i> ₇₅]	28,59 [27,46; 29,73]
Курение Smoking	<i>n</i> (%)	20 (40,0)

лись дважды — до и через 1 год после проведённого ангио-реконструктивного вмешательства.

В этот же период проводили повторное дуплексное сканирование брахиоцефальных артерий (для оценки экзогенности структуры атеросклеротической бляшки (АСБ) и динамического наблюдения за просветом оперированной и контрольной артерий после стентирования). За прогрессирование атеросклероза было принято считать нарастание степени стеноза на 20% и более за период не менее 6 мес от предыдущего исследования [18].

Все исследования проведены в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинской декларации 1964 г. и её последующих обновлениях и одобрены локальным этическим комитетом ФГБНУ НЦН (протокол № 9-5/20 от 25.11.2020).

Статистический анализ выполнен в программе «Statistica v. 12» («StatSoft Inc.») и на языке программирования R (версия 4.2.1) в программной оболочке «RStudio v. 2022.12.0» (подключаемые модули: «tidyverse», «Hmisc», «corr», «corrplot», «ggstatsplot»). Соответствие распределения количественных переменных нормальному закону оценивали с использованием теста Колмогорова–Смирнова с поправкой Лиллиефорса, анализа эксцесса и асимметрии. Количественные переменные представлены в виде среднего арифметического (*M*) и стандартного отклонения (*SD*) либо в виде медианы (*Me*) и межквартильного интервала [*Q*₂₅; *Q*₇₅]. Различия между двумя группами оценивали с использованием *t*-критерия Стьюдента для зависимых групп, а также *W*-критерия Вилкоксона при ненормальном распределении. Категориальные переменные представлены

в виде абсолютных частот и относительных долей. Динамику в таблицах сопряжённости оценивали с помощью критерия Мак-Немара. Для оценки совместной изменчивости количественных и порядковых переменных использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Пороговым уровнем статистической значимости считали при *p* < 0,05.

Результаты

Наиболее частыми коморбидными состояниями у обследованных пациентов с верифицированным атеросклерозом являлись артериальная гипертония (94%), ишемическая болезнь сердца (40%), сахарный диабет (30%), избыточная масса тела и ожирение (72%).

Средний стаж артериальной гипертонии исходно составил 7,5 года. Средняя длительность сахарного диабета составляла 5,4 года. У 14 пациентов ишемическая болезнь сердца проявлялась стенокардией напряжения, у 6 пациентов в анамнезе наблюдался инфаркт миокарда.

Большая часть включённых в исследование пациентов постарались, согласно рекомендациям, уменьшить нагрузку факторов риска ССЗ. Так, средний индекс массы тела с $28,59 \pm 3,98$ кг/м² [27,46; 29,73] в среднем уменьшился за год на 1,82 единицы по сравнению с исходными значениями (*p* < 0,001); 16 (23%) пациентов отметили изменения образа жизни, в том числе 2 пациента полностью отказались от курения. При контрольном визите через 1 год пациенты в 2,25 раза чаще отмечали увеличение потребления фруктов и овощей (*p* = 0,023) и в 2,89 раза чаще — увеличение физической активности (*p* = 0,008).

Таблица 2. Ультразвуковые характеристики каротидной системы

Table 2. Ultrasound parameters of the carotid system

Показатель Parameter		Степень стеноза Stenosis type		p
		до КАС pre CAS	через 1 год после КАС 1 year post CAS	
Симптомный стеноз Symptomatic stenosis	(n = 22), Me [Q ₂₅ ; Q ₇₅]	75,23 [66,25; 85]	0	
Асимптомный стеноз Asymptomatic stenosis	(n = 28), Me [Q ₂₅ ; Q ₇₅]	77,5 [70; 81,25]	0	
Контралатеральный стеноз ВСА ICA contralateral stenosis	(n = 37), Me [Q ₂₅ ; Q ₇₅]	52,6 [49,1; 56,0]	53,5 [50; 57,1]	> 0,05
Типы бляшек Plaque types				
однородная гипоэхогенная homogenous hypoechoic	n (%)	3 (6%)	0 (0%)	
гетерогенные, преимущественно гипоэхогенная heterogenous mostly hypoechoic	n (%)	16 (32%)	16 (32%)	0,368
гетерогенные, преимущественно гиперэхогенная heterogenous mostly hyperechoic	n (%)	26 (52%)	29 (58%)	
кальцинированная calcified	n (%)	5 (10%)	5 (10%)	

Чрезвычайно важным для определения тактики ведения пациента, в том числе с отягощённым семейным анамнезом по сердечно-сосудистым заболеваниям (а их в исследовании было 40%), является уточнение приверженности к лечению. Проведённое с помощью Российского универсального опросника количественной оценки приверженности лечению и отечественного Опросника приверженности терапии тестирование установило высокие показатели приверженности как в целом к лечению, так и медицинскому сопровождению, лекарственной терапии и модификации образа жизни — и на дооперационном этапе, и сохранившееся в период повторного визита. Так, показатель приверженности к лекарственной терапии составлял $76,3 \pm 8,1\%$, к медицинскому сопровождению — $87,2 \pm 9,2\%$, к модификации образа жизни — $81,8 \pm 8,9\%$. Итоговый интегральный показатель приверженности лечению, таким образом, составил $79,99 \pm 5,33\%$.

Ультразвуковое исследование сосудистой системы выявило различные характеристики каротидного атеросклероза (табл. 2). Наряду с исследованием заинтересованной стороны обнаружено наличие стеноза и в контралатеральной ВСА у 37 (74%) пациентов. Отмечено 30–49% сужение просвета контралатеральной ВСА у 16 (32%) пациентов, 50–70% — у 21 (42%) пациентов, стеноз более 70% в контралатеральной артерии не встречался. Сочетанное поражение каротидного и коронарного бассейнов отмечено у 17 (34%) пациентов.

При контрольном ультразвуковом исследовании каротидной системы через год не обнаружено развития рестеноза ни у одного из пациентов в стентированных артериях. Однако в 34 (74%) случаях отмечено без значимого изменения типа АСБ переформатирование её структуры в сторону преобладания гиперэхогенного компонента. Не обнаружено дополнительных случаев перехода АСБ на устьевые участки артерий. Исследование каротидных артерий на контралатеральной операции стороне также не выявило признаков прогрессирования каротидного стеноза.

Детальный и многосторонний сравнительный анализ изученных биомаркеров крови до и после операции выявил статистически значимое изменение ряда показателей.

Ангиореконструктивное вмешательство в отдалённом периоде было сопряжено с улучшением в целом по группе биомаркеров гемореологии и гемостаза (табл. 3). Отмечено статистически значимое снижение ($p < 0,001$) агрегационных параметров тромбоцитов (АТ-адреналин — на 5,9%, АТ-АДФ — на 10,3%), фибриногена — в среднем на 0,5 г/л, что свидетельствует об уменьшении тромбогенного потенциала крови. Это сочеталось с некоторой тенденцией к нормализации фибринолитического звена системы гемостаза (повышение t-РА и снижение PAI-1).

Другим важным пулом исследованных в динамике биомаркеров являлись показатели липидного обмена: «классические» (холестерин, ЛПНП и т.д.) и относительно новые (табл. 4). Обращает на себя внимание значимое снижение уровня показателей липидного профиля: общего холестерина — в среднем на 1,2 ммоль/л, триглицеридов — в среднем на 0,6 ммоль/л, ЛПНП — в среднем на 0,48 ммоль/л. Отдельного внимания заслуживает увеличение на 0,2 мкг/мл другого важного медиатора жировой ткани — адипонектина, предположительно выполняющего атеропротективную роль. Помимо этого маргинально значимым оказалось снижение в динамике такого маркера липидного обмена, как α -липопротеин (21,4 и 19,9; $p = 0,06$).

Показатели, отражающие активность сосудистой стенки, являются одними из главных в оценке процессов атерогенеза: это и маркеры эндотелиальной дисфункции (в первую очередь, система NO), повреждения эндотелия (VEGF-A), его активации (табл. 5). В динамике после КАС было отмечено значительное изменение паттерна системы NO в сторону его улучшения: увеличение NO₃ в среднем на 23,9 мкмоль/л ($p < 0,001$), NO₂ — в среднем на 14,6 мкмоль/л ($p = 0,002$), NO — в среднем на 9,4 мкмоль/л ($p < 0,001$). Помимо этого, статистически значимо снизились и такие

Таблица 3. Результаты показателей гемореологии и гемостаза, Ме [Q₂₅; Q₇₅]Table 3. Hemorheology and hemostasis markers, Me [Q₂₅; Q₇₅]

Показатель Parameter	До КАС Pre CAS	Через 1 год после КАС 1 year post CAS	<i>p</i>
АТ-адреналин Epinephrine-induced platelet aggregation	45 [40,6; 49,5]	39,2 [36; 42,3]	< 0,001
АТ-АДФ ADP-induced platelet aggregation	46,4 [43,7; 49,1]	36,1 [33,9; 38,3]	< 0,001
Фибриноген, г/л Fibrinogen, g/L	3,96 [3,73; 4,18]	3,45 [3,33; 3,57]	< 0,001
t-PA, нг/мл I ng/mL	2,23 [1,56; 7,35]	3,39 [2,3; 6,83]	0,367
PAI-1, ЕД/мл I U/mL	37,39 [33,71; 41,07]	34,85 [31,85; 37,84]	0,06
t-PA/PAI-1	8,89 [4,65; 18,97]	11,97 [6,61; 17,85]	0,144
ADAMTS-13, ЕД/мл I U/mL	1,3 [1,2; 1,4]	1,35 [1,14; 1,48]	0,39

Таблица 4. Результаты показателей липидного обмена, Ме [Q₂₅; Q₇₅]Table 4. Lipid metabolism markers, Me [Q₂₅; Q₇₅]

Показатель Parameter	До КАС Pre CAS	Через 1 год после КАС 1 year post CAS	<i>p</i>
Холестерин, ммоль/л Cholesterol, mmol/L	5,67 [5,27; 6,08]	4,48 [4,28; 4,67]	< 0,001
Триглицериды, ммоль/л Triglycerides, mmol/L	1,89 [1,61; 2,17]	1,29 [1,17; 1,41]	< 0,001
Лipoproteины высокой плотности, ммоль/л High-density lipoproteins, mmol/L	1,63 [1,5; 1,77]	1,59 [1,49; 1,69]	0,321
ЛПНП, ммоль/л Low-density lipoproteins, mmol/L	1,89 [1,64; 2,14]	1,41 [1,3; 1,52]	< 0,001
Адипонектин, мкг/мл Adiponectin, µg/mL	6,4 [3,8; 10,1]	6,6 [5,3; 9,4]	0,347
Фактор роста фибробластов, пг/мл Fibroblast growth factor, pg/mL	7,42 [6,88; 7,95]	7,99 [7,25; 8,72]	0,203
Липидзависимая фосфолипаза А2, нг/мл Lipoprotein-associated phospholipase A2, ng/mL	99,9 [64,8; 177]	97,8 [67,6; 197]	0,367
sЛПНП, мг/дл Small dense low-density lipoprotein, mg/dL	38,4 [33,9; 42,9]	37,1 [32,7; 41,5]	0,285
α-Лipoprotein, мг/дл α-Lipoprotein, mg/dL	21,43 [19,04; 23,82]	19,85 [17,49; 22,21]	0,06

маркеры повреждения сосудистой стенки, как молекула межклеточной адгезии-1 (482,4 и 468,9; $p < 0,001$) и фактор роста эндотелия (137,5 и 114,3; $p = 0,016$).

Результаты оценки биомаркеров воспаления и деградации внеклеточного матрикса в отдалённом послеоперационном периоде, в том числе относительно новых и мало изученных остеопротегерина и хромогранина А, продемонстрировали разнонаправленные изменения (табл. 6). Так, отмечено снижение значений остеопротегерина (на 0,308 пг/мл; $p = 0,009$) и повышение уровня хромогранина А (на 9,6 мкг/л; $p = 0,001$). При этом выявлено увеличение концентрации маркеров дестабилизации внеклеточного

матрикса и воспаления: MMP-1 — на 71 нг/мл ($p = 0,003$) и MMP-9 — на 60 нг/мл ($p = 0,027$).

Для выяснения возможных взаимосвязей гематологических и ультразвуковых биомаркеров в прогрессировании каротидного атеросклероза был проведён корреляционный анализ между ними. По данным дуплексного сканирования брахиоцефальных артерий АСБ были морфологически разделены на 4 категории:

- однородные гипоэхогенные с наличием или без плотной покрышки;
- гетерогенные, преимущественно гипоэхогенные (менее 50% эхопозитивных включений);

Таблица 5. Результаты показателей дисфункции эндотелия, повреждения сосудистой стенки и патологического ангиогенеза, Ме [Q₂₅; Q₇₅]
Table 5. Markers of endothelial dysfunction, vascular wall damage, and abnormal angiogenesis, Me [Q₂₅; Q₇₅]

Показатель Parameter	До КАС Pre CAS	Через 1 год после КАС 1 year post CAS	<i>p</i>
NO ₃ , мкмоль/л μmol/L	130,13 [122,77; 137,49]	154,05 [142,27; 165,83]	< 0,001
NO ₂ , мкмоль/л μmol/L	101,26 [95,85; 106,66]	115,82 [105,54; 126,11]	0,002
NO, мкмоль/л μmol/L	28,87 [24,31; 33,44]	38,23 [32,95; 43,51]	< 0,001
Молекула межклеточной адгезии-1, нг/мл Intercellular adhesion molecule 1, ng/mL	482,4 [448,6; 505]	468,9 [447,3; 503,2]	0,0004135
VEGF-A, пг/мл pg/mL	137,5 [59,3; 280,1]	114,3 [68; 156,5]	0,016
Растворимый тромбомодулин, пг/мл Soluble thrombomodulin, pg/mL	5,15 [3,7; 7,2]	5,8 [4,79; 8,5]	0,725

Таблица 6. Результаты биомаркеров деградации внеклеточного матрикса, воспаления и ассоциированных с атерогенезом, Ме [Q₂₅; Q₇₅]
Table 6. Markers of extracellular matrix degradation, inflammation, and atherogenesis, Me [Q₂₅; Q₇₅]

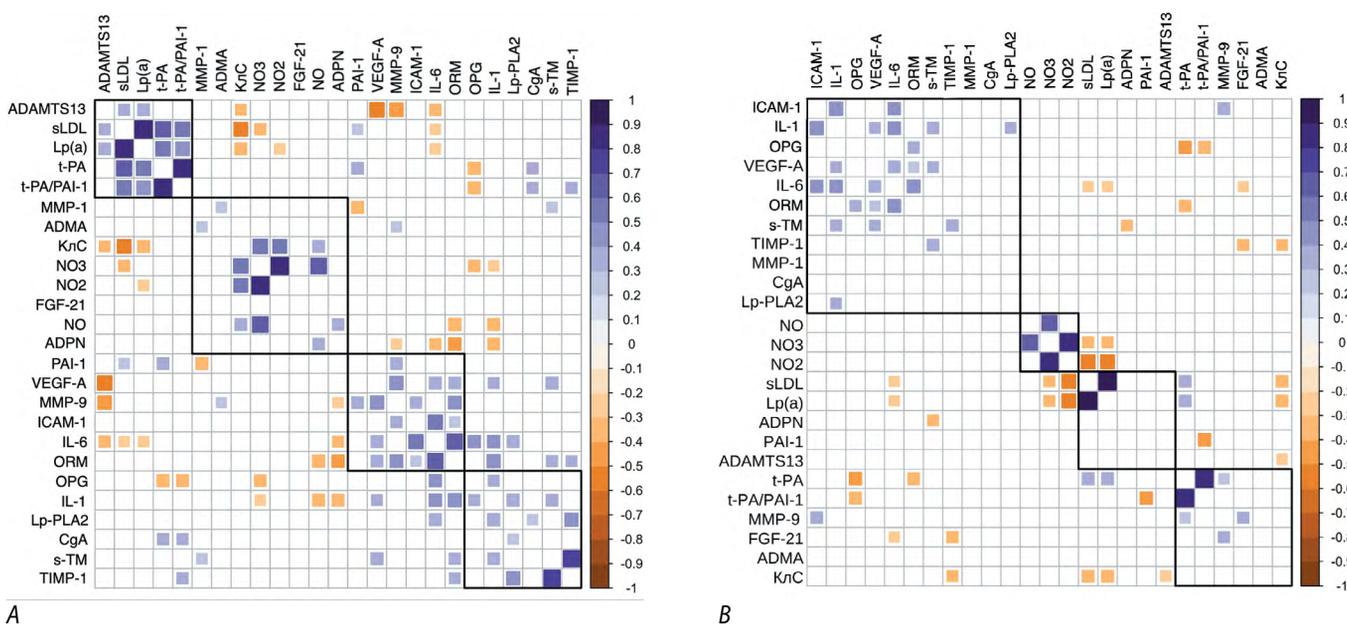
Показатель Parameter	До КАС Pre CAS	Через 1 год после КАС 1 year post CAS	<i>p</i>
MMP-1, нг/мл ng/mL	320,2 [284,8; 355,6]	391,2 [350; 432,3]	0,003
MMP-9, нг/мл ng/mL	458,7 [416,1; 501,4]	518,5 [477,4; 559,7]	0,027
Ингибитор MMP-1, нг/мл MMP-1 inhibitor, ng/mL	234,6 [212,8; 256,4]	241,8 [217,8; 265,6]	0,646
Интерлейкин-1, пг/мл Interleukin 1, pg/mL	0,06 [0,05; 0,203]	0,069 [0,05–0,108]	0,320
Интерлейкин-6, пг/мл Interleukin 6, pg/mL	1,157 [0,659; 3,301]	1,647 [0,738; 3,2]	0,478
Асимметричный диметиларгинин, мкмоль/л Asymmetric dimethylarginine, μmol/L	0,381 [0,329; 0,507]	0,421 [0,383; 0,479]	0,138
Хромогранин А, мкг/л Chromogranin A, μkg/L	21,7 [9,8; 42,6]	31,3 [13,9; 90,7]	0,001
Орозомукоид, мг/дл Orosomucoid, mg/dL	131,4 [116,9; 145,9]	123,2 [114,3; 132,1]	0,176
Остеопротегерин, пг/мл Osteoprotegerin, pg/mL	2,073 [1,842; 2,303]	1,765 [1,592; 1,937]	0,009

- гетерогенные, преимущественно гиперэхогенные (более 50% эхопозитивных включений);
- кальцинированные с интенсивной акустической тенью.

Установлено, что повышение уровня остеопротегерина ассоциировано с гетерогенными бляшками с преобладанием гиперэхогенного компонента и кальцинированными АСБ с акустической тенью ($r = 0,29$ и $r = 0,46$ соответственно; $p < 0,05$). В то же время при преобладании гипозоногенного компонента АСБ отмечена обратная корреляция с этим биомаркером ($r = -0,5$; $p < 0,05$). Помимо этого, выявлена прямая корреляционная связь остеопротегерина с MMP-1 ($r = 0,29$; $p < 0,05$) и обратная корреляция с интерлейкином-6. Отмечается прямая корреляция хромогранина А с t-РА и липидзависимой фосфолипазой А2. Остеопротегерин имеет обратную

корреляцию с t-РА, NO₃ и прямую корреляцию с интерлейкинами-1 и -6. Повышение уровня орозомукоида ассоциировано со снижением адипонектина ($r = -0,4$; $p < 0,05$); обнаружена также прямая сильная корреляция этого биомаркера с интерлейкинами-1 и -6 и MMP-9, растворимым тромбомодулином, обратная корреляция с NO. Выявлена прямая корреляция уровня орозомукоида с показателями общим холестерином и фибриногеном, что может указывать на проатерогенное действие. Отмечается прямая корреляция контрлатерального стеноза и адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов ($r = 0,56$; $p < 0,05$).

Следующим этапом корреляционного анализа была оценка изменения паттерна биомаркеров в динамике после КАС. Обращает на себя внимание уменьшение числа значимых



Корреляции между биомаркерами у пациентов до (А) и через год после КАС (В). Показаны только корреляции с $p < 0,05$. Площадь квадратов пропорциональна модулю коэффициента корреляции, а цвет соответствует направлению взаимосвязи.

Biomarker correlation before (A) and one year after (B) CAS ($p < 0.05$). The square area is proportional to the correlation coefficient while their color depends on the relationship direction.

корреляций в долгосрочном послеоперационном периоде. Так, исходно (рисунок, А) у пациентов наблюдалась значительная ассоциация неблагоприятных маркеров липидного спектра (сЛПНП и α -липопротеин, $r = 0,83$; $p < 0,05$). Помимо этого определялись такие проатерогенные корреляции, как: ассоциация маркеров деградации внеклеточного матрикса и гемостаза — MMP-9 и PAI-1 ($r = 0,36$; $p < 0,05$); взаимосвязь MMP-9 и орозомукоида ($r = 0,43$; $p < 0,05$); прямая корреляция MMP-9 и VEGF-A ($r = 0,47$; $p < 0,05$). Достаточно показательна и корреляция такого значимого маркера воспаления, как интерлейкин-6, и орозомукоида ($r = 0,62$; $p < 0,05$).

Через 1 год после КАС картина корреляций была иной (рисунок, В): уменьшились или исчезли ранее выявлявшиеся ассоциации MMP-9 с другими биомаркерами; более чётко определялась взаимосвязь системы NO с уменьшением показателей липидного спектра — отрицательные корреляции NO₃ с сЛПНП ($r = -0,33$; $p < 0,05$), α -липопротеином ($r = -0,33$; $p < 0,05$), NO₂ ($r = -0,51$; $p < 0,05$). Отмечены появление прямой корреляции остеопротегерина с орозомукоидом и сохранение и усиление обратной корреляции с t-РА. Обращает на себя внимание отсутствие значимых корреляций у хромогранина А.

Обсуждение

Каротидный атеросклероз и его различные клинические проявления как значимой сосудисто-мозговой патологии являются предметом активного и всестороннего изучения. Важным этапом их превентивной диагностики и мониторинга служит определение биомаркеров: как ультразвуковых, так и лабораторных. Особый интерес представляет когорта пациентов, перенёсших ангиореконструктивные операции, состояние их оперированной/контралатеральной артерий, тромбогенного потенциала крови, возмож-

ности их детекции и воздействия с целью профилактики дальнейших клинических обострений цереброваскулярного заболевания. Подобные исследования крайне немногочисленны и охватывают небольшой период наблюдения [16], что не позволяет получить чёткие ориентиры тактики ведения этих пациентов, число которых прогрессивно увеличивается в связи с внедрением новых технологий.

Рассмотрение в динамике (интервал 1 год) основных биомаркеров атерогенеза у пациентов, перенёсших КАС по поводу значимого стеноза артерии, позволило получить ряд новых фактов о развитии цереброваскулярной патологии.

Эхогенность и возможность прогнозировать состав каротидной АСБ (а также состав эмболического материала после КАС [19]) является общепризнанным показателем уязвимости бляшки [20]. Известны прогностически неблагоприятные факторы, провоцирующие рестеноз стентированной ВСА: сахарный диабет, ожирение, курение, контралатеральный стеноз, артериальная гипертония и дислипидемия [21]. Описаны значительные факты биомаркерной сопряжённости и прогрессирования церебрального атеросклероза со стороны как показателей гемореологии и гемостаза, так и маркеров воспаления и эндотелиальной дисфункции. Известны гемореологические и гемостазиологические изменения при каротидном атеросклерозе [22], возможности их диагностики, а также подходов к коррекции [23]. Важный вклад в прогрессирование каротидного атеросклероза принадлежит воспалительному пулу биомаркеров. На поздних стадиях атеросклероза большое количество воспалительных цитокинов инфильтрируют стенку сосуда, разрушая коллагеновые волокна во внеклеточном матриксе бляшки, что приводит к разрыву бляшки, кровотечению и тромбозу [24].

Относительно новый и малоизученный в ангионеврологии биомаркер крови остеопротегерин представляет собой физиологически мощный ингибитор остеокластогенеза и кальцификации сосудов. Повышенная концентрация и корреляция с наличием кальцинированной АСБ может свидетельствовать о значимом влиянии на её обызвествление и использоваться как предиктор этого процесса. И наоборот, в случае снижения концентрации остеопротегерина можно говорить о менее стабильной бляшке и использовать как ориентир для выработки дальнейшей тактики ведения пациентов с вероятным решением вопроса о повышении дозы статинов для стабилизации и уменьшения прогрессирования атеросклероза [25].

Изменение морфологических признаков каротидного атеросклероза, коррелировавших с остеопротегерином, соотносится с единичными данными мировой литературы [16]. Интересен полученный нами факт, что через 1 год после ангиореконструктивного вмешательства и медикаментозного лечения концентрация остеопротегерина снизилась, причём кальцификация АСБ повысилась. Отчасти такое изменение концентрации можно объяснить проведением баллонной ангиопластики со стентированием. Распространённые и обширные АСБ действуют как постоянно продуцирующие источники медиаторов воспаления, поступающих прямо в кровоток и ускоряющих дальнейшую дестабилизацию других АСБ и прогрессирование атеросклероза [26]. Таким образом, стентирование сонных артерий не только снижает уровень протромбогенных и деструктивных биомаркеров за счёт разрушения АСБ на стороне вмешательства, но и стабилизирует прогрессирование контрлатерального стеноза ВСА, благодаря уменьшению их продукции и системной циркуляции.

Орозомукоид участвует в противовоспалительных, иммуномодулирующих и ангиогенных путях. Продуцируемый эндотелиальными клетками, он индуцирует ангиогенез и усиливает миграцию эндотелиальных клеток и образование капиллярных трубок. Повышение уровня орозомукоида в плазме крови связано с ишемической болезнью сердца, инсультом, атеросклерозом сонных артерий [27]. Выявленные в нашей работе корреляции орозомукоида с провоспалительными маркерами (в частности, интерлейкинами-1 и -6), а также его ассоциация со снижением значимого антиатерогенного фактора — адипонектина подтверждают ранее определённые клинико-лабораторные связи орозомукоида с атерогенезом.

В качестве одного из благоприятных признаков отсутствия прогрессирования атеросклероза можно считать выявленное в нашей работе снижение VEGF-A. При его значимом повышении принято говорить о неоваскулогенезе, который способствует дестабилизации и прогрессированию АСБ [28]. Отмеченное статистически значимое снижение уровня VEGF-A можно расценить как следствие увеличения гиперэхогенности АСБ и отсутствия неоангиогенеза, который в свою очередь вызывает дестабилизацию бляшки и возникновение сосудистого события.

Снижение протромботического состояния крови за счёт уменьшения агрегации тромбоцитов и фибриногена, а также незначимого повышения t-PA — важного элемента антитромбогенной эндотелиальной активности, может являться в том числе результатом липидснижающей и двойной антиагрегантной терапии после ангиоремодели-

рующего лечения. При ингибировании фибринолиза и повышении концентрации PAI-1 значительно повышается риск тромбозов. В нашей работе отмечается незначительное снижение PAI-1, роль которого неоднократно продемонстрирована в работах по изучению прогрессирования атеросклероза. Снижение агрегации тромбоцитов, вероятно, обусловлено также повышением NO вследствие «активирующего» после стентирования действия сосудистой стенки [29].

NO является значимым сосудорасширяющим агентом и снижает не только агрегацию тромбоцитов. В спектр его действий входит и замедление адгезии моноцитов и лейкоцитов к эндотелию, и ингибирование пролиферации гладкомышечных клеток [30].

В полученных нами результатах интересно отметить повышение MMP-1 и -9, которые секретируются многими типами клеток, включая макрофаги [31]. Считается, что они опосредуют прогрессирование стабильных АСБ до нестабильного уровня. Имеются данные о значительном повышении MMP после хирургического вмешательства на сонных артериях, однако период наблюдения составлял менее 1 нед [16]. Повышенный уровень MMP, вероятно, сохраняется из-за воспаления в месте имплантации стента, что нельзя оставить без внимания и можно рассматривать как один из значимых предикторов прогрессирования атеросклероза.

Представитель циркулирующих секреторных белков хромогранин А, высвобождаемый нейроэндокринной системой, может регулировать тонус сосудов и ангиогенез. Является предшественником нескольких функциональных пептидов, включая катестатин, вазостатин-1, вазостатин-2, оказывающих ангиопротективное действие, и подавлять вазоконстрикцию сосуда. Этот биомаркер может модулировать адгезию гладкомышечных клеток и фибробластов, а также белков, участвующих во внеклеточном матриксе и межклеточной адгезии эндотелия [32, 33]. В то же время имеются данные и о его проатерогенной роли [34, 35], однако, учитывая, что в нашем исследовании у пациентов после КАС через 12 мес определялось статистически значимое повышение хромогранина А, можно считать (при отсутствии данных за прогрессирование атеросклероза за то же время) это косвенным подтверждением его атеропротективной роли.

К ограничениям данного исследования в первую очередь стоит отнести относительно небольшую выборку пациентов, невозможность учёта всех возможных факторов, которые могли повлиять как на изменение сосудистой стенки, так и на концентрацию биомаркеров в крови. Кроме того, учитывая коморбидность данных возрастных групп, необходимо чётко дифференцировать и исключать пациентов с возможным хроническим воспалением для исключения ложноположительного результата.

Заключение

Проспективное, в течение 1 года, наблюдение за пациентами после КАС по поводу симптомного/асимптомного гемодинамически значимого стеноза ВСА выявило в целом благоприятное изменение соотношения уровня биомаркеров атерогенеза (как ультразвуковых, так и показателей крови) в сторону атеропротективного спектра, что способ-

ствовало отсутствию прогрессирования церебрального атеросклероза за этот период времени.

Подтверждены старые и обнаружены новые корреляции ряда биомаркеров крови с ультразвуковыми характеристиками, отражающими прогрессирование цереброваскулярного процесса. Так, отмечены значимые корреляции остеопротегерина и сдвига в морфологии АСБ, изменение концентрации хромогранина А, что позволяет предполо-

жить чувствительность и, соответственно, диагностическую ценность данных биомаркеров. Потенциал их использования в контексте оценки риска прогрессирования атеросклероза требует дальнейших когортных исследований.

Высокая приверженность к терапии (антиагрегантной, липидснижающей) является хорошим прогностическим признаком для снижения риска возникновения периоперационных осложнений и прогрессирования атеросклероза.

Список источников / References

- Zorowitz R.D., Chen E., Tong K.B., Laouri M. Costs and rehabilitation use of stroke survivors: a retrospective study of Medicare beneficiaries. *Top. Stroke Rehabil.* 2009;16(5):309–320. doi: 10.1310/tsr1605-309
- Танащян М.М., Лагода О.В., Гулевская Т.С. и др. Прогрессирующий церебральный атеросклероз: клинические, биохимические и морфологические аспекты. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2013;7(4):4–9.
- Tanashyan M.M., Lagoda O.V., Gulevskaya T.S. et al. Progressive cerebral atherosclerosis: clinical, biochemical, and morphological aspects. *Annals of Clinical and Experimental Neurology.* 2013;7(4):4–9. (In Russ.)
- Суслина З.А., Танащян М.М., Ионова В.Г. Ишемический инсульт: кровь, сосудистая система, антиромботическая терапия. М.; 2005.
- Sushina Z.A., Tanashyan M.M., Ionova V.G. Ischemic stroke: blood, vascular system, antithrombotic therapy. Moscow; 2005. (In Russ.)
- Дон Е.С., Тарасов А.В., Эпштейн О.И., Тарасов С.А. Биомаркеры в медицине: поиск, выбор, изучение и валидация. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2017;62(1):52–59.
- Don E.S., Tarasov A.V., Epshtein O.I., Tarasov S.A. The biomarkers in medicine: search, choice, study and validation. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics.* 2017;62(1):52–59. (In Russ.) doi: 10.18821/0869-2084-2017-62-1-52-59
- Евдокименко А.Н., Четчектин А.О., Друина Л.Д., Танащян М.М. Оценка неоваскуляризации атеросклеротической бляшки каротидного синуса с помощью контраст-усиленного УЗИ. *Вестник РГМУ.* 2019;(4):25–33.
- Evdokimenko A.N., Chechetkin A.O., Druina L.D., Tanashyan M.M. Evaluation of neovascularization of atherosclerotic plaque of the carotid sinus using contrast-enhanced ultrasound. *Bulletin of RSMU.* 2019;(4):25–33. (In Russ.) doi: 10.24075/vrgmu.2019.057
- Шербак С.Г., Лисовец Д.Г., Сарана А.М. и др. Биомаркеры сердечно-сосудистых заболеваний. Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация. 2019;1(2):60–76.
- Scherbak S.G., Lisovets D.G., Sarana A.M. et al. Biomarkers of cardiovascular disease. *Physical and rehabilitation medicine, medical rehabilitation.* 2019;1(2):60–76. (In Russ.) doi: 10.36425/2658-6843-19190
- Naka K.K., Bechlioullis A., Marini A. Interleukin-1 genotypes modulate the long-term effect of lipoprotein(a) on cardiovascular events: The Ioannina Study. *J. Clin. Lipidol.* 2018;12(2):338–347. doi: 10.1016/j.jacl.2017.12.004
- Berntsson J., Östling G., Persson M. et al. Carotid plaque, and incidence of stroke. *Stroke.* 2016;47(7):1858–1863. doi: 10.1161/STROKEAHA.116.013374
- Kokkinos J., Tang S., Rye K.A., Ong K.L. The role of fibroblast growth factor 21 in atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2017;257:259–265. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.11.033
- Cao Y., Cui C., Zhao H. et al. Plasma osteoprotegerin correlates with stroke severity and the occurrence of microembolic signals in patients with acute ischemic stroke. *Dis. Markers.* 2019;3090364. doi: 10.1155/2019/3090364
- Mahata S.K., Corti A. Chromogranin A and its fragments in cardiovascular, immunometabolic, and cancer regulation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2019;1455(1):34–58. doi: 10.1111/nyas.14249
- Wang J., Bai X., Wang T. et al. Carotid stenting versus endarterectomy for asymptomatic carotid artery stenosis: a systematic review and meta-analysis. *Stroke.* 2022;53(10):3047–3054. doi: 10.1161/STROKEAHA.122.038994
- Saw J. Carotid artery stenting for stroke prevention. *Can. J. Cardiol.* 2014;30(1):22–34. doi: 10.1016/j.cjca.2013.09.030
- Hwang S.J., Ballantyne C.M., Sharrett A.R. et al. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Circulation.* 1997;96(12):4219–4225. doi: 10.1161/01.cir.96.12.4219
- Wu Y.W., Yang W.S., Chen M.F. et al. High serum level of matrix metalloproteinase-1 and its rapid surge after intervention in patients with significant carotid atherosclerosis. *J. Formos. Med. Assoc.* 2008;107(1):93–98. doi: 10.1016/S0929-6646(08)60015-7
- Nagy B., Woth G., Mérei Á. Perioperative time course of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), its tissue inhibitor TIMP-1 & S100B protein in carotid surgery. *Indian J. Med. Res.* 2016;143(2):220–226. doi: 10.4103/0971-5916.180212
- Mérei Á., Nagy B., Woth G. et al. Comparison of the perioperative time courses of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and its inhibitor (TIMP-1) during carotid artery stenting (CAS) and carotid endarterectomy (CEA). *BMC Neurol.* 2018;18(1):128. doi: 10.1186/s12883-018-1133-1
- Максюткина Л.Н. Цереброваскулярные заболевания и церебральный атеросклероз: биомаркеры воспаления: автореф. дис. ... к.м.н. М.; 2013. 28 с.
- Maksyutkina L.N. Cerebrovascular disease and cerebral atherosclerosis: biomarkers of inflammation: Abstract for the Thesis med. sci. degree. Moscow; 2013. 28 p. (In Russ.)
- Танащян М.М., Медведев Р.Б., Гемдзян Э.Г. и др. Патент РФ на изобретение № 2786477 «Способ прогнозирования состава эмболического материала в системе дистальной противоэмболической защиты мозга после транслюминальной баллонной ангиопластики со стентированием внутренней сонной артерии». 2022.
- Tanashyan M.M., Medvedev R.B., Gemdzyan E.G. et al. RF Patent No 2786477 for invention “A method for predicting the composition of embolic material in the system of distal anti-embolic protection of the brain after transluminal balloon angioplasty with stenting of the internal carotid artery.” 2022 (In Russ.)
- Reiter M., Effenberger I., Sabeti S. et al. Increasing carotid plaque echolucency is predictive of cardiovascular events in high-risk patients. *Radiology.* 2008;248(3):1050–1055. doi: 10.1148/radiol.2483071817
- Bonati L.H., Gregson J., Dobson J. Restenosis and risk of stroke after stenting or endarterectomy for symptomatic carotid stenosis in the International Carotid Stenting Study (ICSS): secondary analysis of a randomised trial. *Lancet Neurol.* 2018;17(7):587–596. doi: https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30195-9
- Raskurazhev A.A., Kuznetsova P.I., Shabalina A.A., Tanashyan M.M. MicroRNA and hemostasis profile of carotid atherosclerosis. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(18):10974. doi: 10.3390/ijms231810974
- Atiq F., van de Wouw J., Sorop O. et al. Endothelial dysfunction, atherosclerosis, and increase of von Willebrand Factor and Factor VIII: a randomized controlled trial in Swine. *Thromb. Haemost.* 2021;121(5):676–686. doi: 10.1055/s-0040-1722185
- Liu Y., Yu H., Zhang Y., Zhao Y. TLRs are important inflammatory factors in atherosclerosis and may be a therapeutic target. *Med. Hypotheses.* 2008;70(2):314–316. doi: 10.1016/j.mehy.2007.05.030
- Kwon A., Choi Y.S., Choi Y.W. et al. Serum osteoprotegerin is associated with calcified carotid plaque: a stroboscopic observational study. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(15):3381. doi: 10.1097/MD.00000000000003381
- Kadoglou N.P., Gerasimidis T., Kapelouzou A. et al. Beneficial changes of serum calcification markers and contralateral carotid plaques echogenicity after combined carotid artery stenting plus intensive lipid-lowering therapy in patients with bilateral carotid stenosis. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2010;39(3):258–265. doi: 10.1016/j.ejvs.2009.11.013
- Lindberg G., Råstam L., Nilsson-Ehle P. et al. Serum sialic acid and sialoglycoproteins in asymptomatic carotid artery atherosclerosis. ARIC Investigators. Atherosclerosis risk in communities. *Atherosclerosis.* 1999;146(1):65–69. doi: 10.1016/s0021-9150(99)00130-6
- Евдокименко А.Н., Куличенкова К.Н., Гулевская Т.С., Танащян М.М. Особенности регуляции ангиогенеза в атеросклеротических бляшках каротидного синуса на поздних стадиях развития атеросклероза. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 2022;108(5):649–666.
- Evdokimenko A.N., Kulichenkova K.N., Gulevskaya T.S., Tanashyan M.M. Defining characteristics of angiogenesis regulation in advanced human carotid plaques. *Russian Journal of Physiology.* 2022;108(5):649–666. (In Russ.) doi: 10.31857/S086981392205004
- Быковская М.А., Раскуражев А.А., Шабалина А.А. и др. Биомаркеры повреждения сосудистой стенки у пациентов с цереброваскулярными заболеваниями и сахарным диабетом 2-го типа. *Тромбоз, гемостаз и реология.* 2021;(2):80–86.
- Bykovskaya M.A., Raskurazhev A.A., Shabalina A.A. et al. Biomarkers of vascular wall damage in patients with cerebrovascular diseases and type 2 diabetes mellitus. *Thrombosis, hemostasis and rheology.* 2021;(2):80–86. (In Russ.) doi: 10.25555/THR.2021

30. Танашян М.М., Раскуражев А.А., Шабалина А.А. и др. Биомаркеры церебрального атеросклероза: возможности ранней диагностики и прогнозирования индивидуального риска. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2015;9(3):20–25.
Tanashyan M.M., Raskurazhev A.A., Shabalina A.A., et al. Biomarkers of cerebral atherosclerosis: the capabilities of early diagnosis and prognosis of individual risk. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2015;9(3):20–25. (In Russ.). doi: 10.17816/psaic141
31. Zhu Y., Xian X., Wang Z. Research progress on the relationship between atherosclerosis and inflammation. *Biomolecules*. 2018;8(3):80. doi: 10.3390/biom8030080
32. Mazza R., Gattuso A., Mannarino C. et al. Catestatin (chromogranin A344-364) is a novel cardiosuppressive agent: inhibition of isoproterenol and endothelin

- signaling in the frog heart. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2008;295(1):113–122. doi: 10.1152/ajpheart.00172.2008
33. Helle K.B., Corti A., Metz-Boutigue M.H., Tota B. The endocrine role for chromogranin A: a prohormone for peptides with regulatory properties. *Cell Mol. Life Sci.* 2007;64(22):2863–2886. doi: 10.1007/s00018-007-7254-0
34. Watanabe T. The emerging roles of chromogranins and derived polypeptides in atherosclerosis, diabetes, and coronary heart disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(11):6118. doi: 10.3390/ijms22116118
35. Bachetti T., Ferrari Bardile A., Aloï T.L. et al. Plasma levels of vasostatin-1, a chromogranin A fragment, are associated with carotid artery maximum stenosis: a pilot study. *Int. J. Cardiol.* 2017;236:438–443. doi: 10.1016/j.ijcard.2017.02.019

Информация об авторах

Танашян Маринэ Мовсесовна — д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, зам. директора по научной работе, руководитель 1-го неврологического отделения Института клинической и профилактической неврологии ФГБНУ НЦН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5883-8119>

Анушкин Владислав Александрович — аспирант 1-го неврологического отделения Института клинической и профилактической неврологии ФГБНУ НЦН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9120-2550>

Раскуражев Антон Алексеевич — к.м.н., врач-невролог, с.н.с. 1-го неврологического отделения Института клинической и профилактической неврологии ФГБНУ НЦН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0522-767X>

Лагода Ольга Викторовна — к.м.н., с.н.с. 1-го неврологического отделения Института клинической и профилактической неврологии ФГБНУ НЦН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7562-4991>

Шабалина Алла Анатольевна — д.м.н., в.н.с., рук. лаб. гемореологии, гемостаза и фармакокинетики (с клинической лабораторной диагностикой) ФГБНУ НЦН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9604-7775>

Медведев Роман Борисович — к.м.н., н.с. 1-го неврологического отделения Института клинической и профилактической неврологии ФГБНУ НЦН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3887-0418>

Щипакин Владимир Львович — к.м.н., рук. группы сосудистой и эндоваскулярной хирургии, с.н.с. Института клинической и профилактической неврологии ФГБНУ НЦН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1428-2769>

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Information about the authors

Marine M. Tanashyan — D. Sci. (Med.), Professor, Corresponding member of RAS, Deputy Director for science, Head, 1st Neurological department, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5883-8119>

Vladislav A. Annushkin — postgraduate student, 1st Neurological department, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9120-2550>

Anton A. Raskurazhev — Cand. Sci. (Med.), neurologist, researcher, 1st Neurology department, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0522-767X>

Olga V. Lagoda — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, 1st Neurological department, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7562-4991>

Alla A. Shabalina — D. Sci. (Med.), leading researcher, Head, Laboratory of hemorheology, hemostasis and pharmacokinetics (with clinical laboratory diagnostics), Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9604-7775>

Roman B. Medvedev — Cand. Sci. (Med.), researcher, 1st Neurological department, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3887-0418>

Vladimir L. Shchipakin — Cand. Sci. (Med.), Head, Group of vascular and endovascular surgery, senior researcher, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1428-2769>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.



Предикторы больничной летальности среди пациентов с инсультом, ассоциированным с новой коронавирусной инфекцией COVID-19

А.Р. Рахматуллин¹, М.А. Кутлубаев¹, А.Т. Хайруллин²

¹ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», Уфа, Россия;

²ГБУЗ РБ «Дюртюлинская центральная районная больница», Дюртюли, Россия

Аннотация

Введение. Летальность при инсульте, ассоциированном с COVID-19, значительно выше, чем при COVID-19 или инсульте по отдельности. Механизмы, лежащие в основе повышенной летальности среди пациентов с инсультом и COVID-19, требуют детального изучения.

Цель исследования: проанализировать предикторы больничной летальности среди пациентов с церебральным инсультом, ассоциированным с COVID-19.

Материал и методы. Проведён ретроспективный анализ 1386 случаев инсульта, ассоциированного с COVID-19, зарегистрированных в многопрофильном инфекционном стационаре в 2020 г. Изучены клинические и лабораторно-инструментальные параметры у пациентов с различными исходами. Для выявления независимых предикторов летального исхода был использован логистический регрессионный анализ.

Результаты. За время пребывания в стационаре летальный исход наблюдался у 539 (38,9%) пациентов: у 437 (37,8%) — с ишемическим инсультом и у 102 (42,7%) — с геморрагическим ($p = 0,0001$). Независимыми предикторами летального исхода при инсульте, ассоциированном с COVID-19, были возраст, выраженность неврологического дефицита по NIHSS, тяжесть новой коронавирусной инфекции и лабораторные показатели: число лейкоцитов, уровень креатинина, глюкозы, D-димеров в крови.

Обсуждение. Результаты логистического регрессионного анализа смогли объяснить только 41% вариабельности летальных исходов в стационаре среди пациентов с инсультом, ассоциированным с COVID-19.

Заключение. Госпитальная летальность при инсульте, ассоциированном с COVID-19, связана с выраженностью инфекционно-воспалительного процесса, нарушениями коагуляции, возрастом пациентов, выраженностью неврологического дефицита и соматической коморбидностью.

Ключевые слова: цереброваскулярное заболевание; инсульт; COVID-19; летальность; воспаление

Этическое утверждение. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ГБУЗ РБ ГКБ № 18 г. Уфы (протокол № 1 от 24.01.2022).

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешних источников финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Адрес для корреспонденции: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3. ФГБОУ ВО БГМУ. E-mail: mansur.kutlubaev@yahoo.com. Кутлубаев М.А.

Для цитирования: Рахматуллин А.Р., Кутлубаев М.А., Хайруллин А.Т. Предикторы больничной летальности среди пациентов с инсультом, ассоциированным с новой коронавирусной инфекцией COVID-19. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2023;17(2):16–21.

DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.2>

Поступила 21.04.2022 / Принята в печать 21.09.2022 / Опубликовано 25.06.2023

Predictors of In-Hospital Mortality Among Patients with COVID-19 Related Stroke

Airat R. Rakhmatullin¹, Mansur A. Kutlubaev¹, Amir T. Khayrullin²

¹Bashkir State Medical University, Ufa, Russia;

²Dyurtyuli Central District Hospital, Dyurtyuli, Russia

Abstract

Introduction. COVID-19-related stroke is associated with a significantly higher mortality than COVID-19 or stroke alone. Mechanisms underlying the increased mortality of patients with stroke and COVID-19 should be thoroughly studied.

Objective: to analyze predictors of hospital mortality associated with COVID-19-related stroke.

Materials and methods. We retrospectively analyzed 1,386 cases of COVID-19-related stroke reported by an infectious diseases inpatient clinic in 2020. We studied clinical, laboratory, and instrumental parameters in patients with different outcomes. Logistic regression was used to identify independent predictors of mortality.

Results. 539 (38.9%) patients died during their hospital stay, with 437 (38.0%) deaths from ischemic stroke and 102 (42.7%) deaths from hemorrhagic stroke

($p = 0.0001$). Independent predictors of mortality associated with COVID-19-related stroke included age, neurological deficit severity measured by NIHSS, COVID-19 severity, and laboratory parameters including white blood cell count, creatinine, glucose, and D-dimer blood levels.

Discussion. The results of logistic regression analysis were able to explain only 41% of the variability in hospital deaths among patients with stroke associated with COVID-19.

Conclusion. Hospital mortality in patients with COVID-19-related stroke is associated with severity of inflammatory response, impaired coagulation, age, neurological deficit severity, and somatic comorbidities.

Keywords: cerebrovascular disease; stroke; COVID-19; mortality; inflammation

Ethics approval. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Ufa City Clinical Hospital No. 18 (protocol No. 1, January 24, 2022).

Source of funding. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For correspondence: 450000, Russia, Ufa, Lenina Str., 3, Bashkir State Medical University, E-mail: mansur.kutlubaev@yahoo.com. Kutlubaev M.A.

For citation: Rakhmatullin A.R., Kutlubaev M.A., Khayrullin T.A. Predictors of in-hospital mortality among patients with stroke associated with COVID-19. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2023;17(2):16–21. (In Russ.)
DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.2>

Received 21.04.2022 / Accepted 21.09.2022 / Published 25.06.2023

Введение

Церебральный инсульт является одним из частых осложнений COVID-19 [1]. Результаты метаанализа, в котором были проанализированы данные более 26 тыс. пациентов, продемонстрировали, что частота ишемического инсульта при COVID-19 составляет около 2% (95% доверительный интервал 1–2%) [2]. Частота геморрагического инсульта при COVID-19 ниже — 0,85%, но летальность у данной категории пациентов достигает 52% [3].

Механизмы развития инсультов у пациентов с COVID-19 могут быть связаны с эндотелиальной дисфункцией в результате вирусного поражения сосудистой стенки [4]. Системная воспалительная реакция приводит к тромбообразованию, снижению плотности рецепторов ангиотензинпревращающего фермента 2 и нарушению активности ренин-ангиотензиновой системы, тем самым значительно повышая риск развития церебральной ишемии [4].

Геморрагический инсульт при COVID-19 может развиваться в результате микроангиопатии, а также геморрагической трансформации ишемического очага. В некоторых случаях развитие внутричерепных кровоизлияний при COVID-19 может иметь ятрогенный характер, в таких случаях прослеживается связь с приёмом антикоагулянтов и проведением экстракорпоральной мембранной оксигенации [3].

Развитие инсульта у пациентов с COVID-19 значительно ухудшает прогноз заболевания. Летальность при инсульте, ассоциированном с COVID-19, значительно выше, чем при COVID-19 или инсульте по отдельности [5]. Механизмы, лежащие в основе повышенной летальности среди пациентов с инсультом и COVID-19, требуют детального изучения. Исследование предикторов больничной летальности у данной категории пациентов позволит выделить группу повышенного риска по развитию неблагоприятных исходов и оптимизировать подходы к их ведению в стационаре.

Цель работы — проанализировать предикторы больничной летальности среди пациентов с церебральным инсультом и COVID-19.

Материал и методы

Проведен ретроспективный анализ данных всех пациентов с лабораторно подтверждённым диагнозом COVID-19 и инсультом, которые поступили в инфекционный стационар с января 2020 г. по январь 2021 г. Согласно временной маршрутизации этот стационар принимал пациентов с инсультом и COVID-19 со всего города Уфы и районов Центрального медицинского округа Республики Башкортостан. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ГБУЗ РБ ГКБ № 18 г. Уфы (протокол № 1, от 24.01.2022).

Диагноз инсульта устанавливали в соответствии с критериями Всемирной организации здравоохранения [6] и подтверждали с помощью компьютерной томографии (КТ) головного мозга. В течение первых минут пребывания в стационаре пациентам проводили клиническое, биохимическое и коагулологическое исследование крови, рассчитывали маркеры воспаления: нейтрофильно-лимфоцитарное и тромбоцитарно-лимфоцитарное отношения, системный иммуновоспалительный индекс [7]. Регистрировали демографические показатели (пол, возраст), индекс массы тела, сопутствующие заболевания, степень инвалидизации — по модифицированной шкале Рэнкина (mRS), выраженность неврологического дефицита по шкале тяжести инсульта Институтов здоровья США (NIHSS) на момент поступления¹, патогенетический подтип ишемического инсульта по классификации TOAST, тяжесть течения COVID-19 [8].

Для выявления независимых предикторов летального исхода инсульта, ассоциированного с COVID-19, был проведён мультивариантный логистический регрессионный анализ с одновременным включением всех переменных. Зависимой переменной было развитие летального исхода в стационаре. Независимые переменные выбирали из числа тех, значения которых статистически значимо отличались у пациентов с различными исходами по результатам уни-

¹ World Health Organization. Clinical management of COVID-19: interim guidance, 27 May 2020. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332196> (дата обращения: 27.01.2022).

вариантного сравнительного анализа. При необходимости проводилась нормализация данных. Если между двумя параметрами имелась выраженная корреляционная связь (коллинеарность), в модель включали только один параметр на усмотрение исследователя.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ «SPSS Statistics 21» («IBM»). Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха. В анализе использовали методы непараметрической статистики. Клинико-демографические и компьютерно-томографические показатели сравнивали с помощью теста Манна–Уитни, категориальные показатели — с помощью χ^2 критерия соответствия Пирсона. Статистически значимой считали разницу при $p < 0,05$.

Результаты

За период наблюдения в стационар поступило 1390 человек с COVID-19 и инсультом. Данные 1386 пациентов были доступны для анализа в полном объеме. Доля женщин в выборке составила 51%. Медиана возраста пациентов составила 68,7 (61–76) года. У 1151 (83%) человек отмечался ишемический инсульт, у 239 (17%) — геморрагический инсульт, степень инвалидизации по mRS составила 5 (4–5) баллов. У 381 (33,1%) пациента ишемический инсульт наблюдался в правой каротидной сосудистой системе, у 479 (41,6%) — в левой каротидной, у 291 (25,3%) — в вертебрально-базилярной. Большинство пациентов с инсультом — 1261 (91%) поступили из других нейрососудистых отделений после подтверждения диагноза COVID-19. У 1129 (81,5%) пациентов COVID-19 был выявлен после развития инсульта. У остальных пациентов инсульт осложнил уже имеющийся COVID-19, длительность которого составила на момент развития острого нарушения мозгового кровообращения 6 (4–9) дней. У 97% пациентов были зарегистрированы сопутствующие заболевания: артериальная гипертензия — 1174 (85%), ишемическая болезнь сердца (ИБС) без фибрилляции предсердий (ФП) — 559 (40%), ИБС с ФП — 291 (21%), сахарный диабет 2-го типа — 417 (30%), терминальная хроническая почечная недостаточность — 21 (1,5%), злокачественные новообразования —

18 (1,3%), атеросклероз периферических сосудов 79 (5,7%). Реперфузионная терапия при ишемическом инсульте проводилась в единичных случаях, поэтому в анализ эти данные не были включены.

COVID-19-ассоциированная пневмония при поступлении в стационар была диагностирована у 267 (19%) пациентов по данным КТ органов грудной клетки. Степень поражения лёгких варьировала от 2 до 92%. Медиана продолжительности пребывания в стационаре составила 8 (5–10) дней. За время пребывания в стационаре летальный исход наблюдался у 539 (38,9%) пациентов: у 437 (37,8%) человек с ишемическим инсультом и у 102 (42,7%) — с геморрагическим инсультом ($p = 0,0001$).

Пациенты, у которых развился летальный исход в стационаре, были старше, у них был более выраженный неврологический дефицит, реже наблюдались лакунарные инсульты, им чаще требовалась искусственная вентиляция лёгких; у пациентов с вирусной пневмонией была выше степень поражения лёгких по данным КТ органов грудной клетки, у них чаще отмечались ИБС с ФП, сахарный диабет 2-го типа, хроническая почечная недостаточность (табл. 1).

Длительность пребывания в стационаре была меньше у пациентов с неблагоприятным исходом инсульта. По данным лабораторных исследований в группе пациентов с летальным исходом были достоверно выше число лейкоцитов и нейтрофилов, уровень креатинина, общего билирубина и глюкозы, при этом уровень общего белка, число лимфоцитов, моноцитов, тромбоцитов были достоверно ниже. После исключения из анализа пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и хронической почечной недостаточностью уровень статической значимости различий в уровне глюкозы и креатинина в крови снизился, но сохранялся на уровне $p < 0,05$. Показатели клеточных соотношений (нейтрофильно-лимфоцитарное отношение, тромбоцитарно-лимфоцитарное отношение, системный иммуновоспалительный индекс), уровень С-реактивного белка, отражающие выраженность воспалительной реакции, а также уровень D-димеров были выше в группе с летальным исходом в стационаре.

Таблица 1. Результаты сравнительного анализа клинико-демографических и лабораторных показателей у пациентов с различными исходами COVID-19 и инсульта

Table 1. Clinical, demographic, and laboratory parameters of patients with various COVID-19 and stroke outcomes

Показатель Parameter	Пациенты, выжившие после инсульта Survived stroke patients (n = 847)	Пациенты с летальным исходом Deceased stroke patients (n = 539)
Клинико-демографические показатели Clinical and demographic parameters		
Возраст, лет Age, years	67 (61–74)	70 (64–81)
Пол, ж/м Sex, female/male	428/419	273/266
Индекс массы тела, кг/м ² Body mass index, kg/m ²	27,7 (24,5–31,4)	27,3 (24,2–31,2)
Степень инвалидизации по mRS Degree of disability (mRS)	4 (4–5)	5* (5–5)
Выраженность неврологического дефицита по NIHSS Neurologic deficit severity (NIHSS)	7 (2–14)	15* (12–20)
Патогенетические подтипы ишемического инсульта Pathogenetic subtypes of ischemic stroke (n = 1151):		
атеротромботический large-artery atherosclerosis	105 (10%)	7* (7%)
кардиоэмболический cardioembolism	252 (24%)	30* (29%)

Показатель Parameter	Пациенты, выжившие после инсульта Survived stroke patients (n = 847)	Пациенты с летальным исходом Deceased stroke patients (n = 539)
лакунарный I lacunar stroke	168 (16%)	5* (5%)
другой уточнённой этиологии stroke of other determined etiology	10 (1%)	2* (2%)
неуточнённой этиологии I stroke of undetermined etiology	514 (49%)	58* (57%)
Длительность пребывания в стационаре, дни Hospital stay, days	9 (7–12)	4* (2–8)
Потребность в искусственной вентиляции лёгких Need for mechanical ventilation	4 (0,5%)	150* (28%)
Течение COVID-19, тяжёлое/лёгкое или среднетяжёлое COVID-19 severity, severe/mild or moderate	593 (70%)/254 (30%)	466* (86,5%)/73 (13,5%)
Сопутствующие заболевания I Comorbidities		
Сахарный диабет 2-го типа I Type 2 diabetes mellitus (n = 417)	138 (16,3%)	279* (51,7%)
Хроническая почечная недостаточность I Chronic renal failure (n = 21)	5 (0,6%)	16* (3%)
ФП I Atrial fibrillation (n = 291)	121 (14,3%)	170* (31,5%)
Компьютерно-томографические показатели I Computed tomography parameters		
Степень поражения лёгких по КТ органов грудной клетки, % Severity of lung involvement on chest CT scans, % (n = 267)	28 (16–40)	40* (28–60)
Клинический анализ крови I Complete blood count		
Эритроциты, млн/мкл Red blood cells, million cells per microliter	4,6 (4,2–5,0)	4,7 (4,2–5,1)
Гемоглобин, г/л I Hemoglobin, g/L	133 (121–147)	136 (119–149)
Лейкоциты, тыс/мкл White blood cells, thousand cells per microliter	11,4 (8,8–14,9)	16,8* (12,3–22,0)
Нейтрофилы, % I Neutrophils, %	75,4 (62,2–86,0)	85,3* (71,6–90,4)
Моноциты, % I Monocytes, %	8,2 (5,8–10,5)	5,1* (4,1–8,2)
Лимфоциты, % I Lymphocytes, %	16,3 (9,7–27,9)	9,5* (5,2–20,2)
Тромбоциты, тыс/мкл I Platelets, thousand cells per microliter	226 (186–285)	215* (162–282)
Скорость оседания эритроцитов, мм/ч Erythrocyte sedimentation rate, mm/h	27 (16–45)	29 (14–51)
Клеточные соотношения I Cell ratios		
Нейтрофильно-лимфоцитарное отношение Neutrophil to lymphocyte ratio	4,7 (2,6–8,2)	10,5* (6,1–21,1)
Системный иммуновоспалительный индекс Systemic immune-inflammation index	1072 (545–2109)	2219* (1204–4998)
Тромбоцитарно-лимфоцитарное отношение Platelet to lymphocyte ratio	165,5 (115,5–267,7)	224* (138,3–401,5)
Биохимический анализ крови I Blood chemistry		
Общий белок, г/л I Total protein, g/L	67 (62–72,8)	64* (58–71)
Глюкоза, ммоль/л I Glucose, mmol/L	6,2 (5,3–8,7)	9,4* (6,7–14,2)
Креатинин, мкмоль/л I Creatinine, μmol/L	98,9 (80–120,3)	116* (87–168)
Мочевина, ммоль/л I Urea, mmol/L	8,2 (5,2–11,2)	11,5* (6,7–20)
Общий билирубин, мкмоль/л I Total bilirubin, μmol/L	12,4 (8,8–18,8)	14,5* (9,9–20,9)
C-реактивный белок, мг/л I C-reactive protein, mg/L	27,3 (5,2–96,3)	58,8* (25,7–144,4)
Коагулограмма I Coagulation test		
D-димеры, нг/мл I D-dimers, ng/mL	685,7 (485,7–1538,7)	1136,5* (646–1774)

Примечание. *p < 0,05 по сравнению с группой выживших пациентов.
Note: *p < 0.05 compared to group of survived stroke patients.

Таблица 2. Результаты логистического регрессионного анализа

Table 2: Logistic regression results

Переменные Variables	Коэффициент бета Coefficient β	Стандартная ошибка Standard error	p
Возраст Age	0,039	0,007	0,0001
Неврологический дефицит по NIHSS Neurologic deficit severity (NIHSS)	1,663	0,151	0,0001
Количество лейкоцитов в крови White blood cell count	0,091	0,015	0,0001
Уровень глюкозы в крови Blood glucose level	0,090	0,017	0,0001
Уровень креатинина в крови Creatinine level	0,005	0,001	0,0001
Тяжесть COVID-19 COVID-19 severity	0,003	0,001	0,001
D-димеры D-dimers	-0,003	0,01	0,0001
Константа Constant	-8,092	0,934	0,0001

Примечание. R^2 — показатель Найджелкерке, определяющий часть дисперсии, объяснимую с помощью логистической регрессии) = 0,412 (41%).

Note. Nagelkerke R^2 to determine the proportion of variance explained by logistic regression is 0.412 (41%).

С целью уточнения роли различных факторов в развитии неблагоприятного исхода в зависимости от типа инсульта был проведён раздельный сравнительный анализ для группы пациентов с ишемическим и геморрагическим инсультом. Результаты статистического анализа для группы пациентов с ишемическим инсультом полностью совпадали с результатами для группы с острыми нарушениями мозгового кровообращения в целом (табл. 1). При геморрагическом инсульте уровня статистической значимости не достигли различия по содержанию билирубина ($p = 0,095$), степени поражения лёгких по данным КТ органов грудной клетки ($p = 0,093$) в двух группах.

Для выявления независимых предикторов больничной летальности использовали логистический регрессионный анализ. Независимые переменные подбирали по одному показателю из каждой группы параметров в связи с выраженной коллинеарностью между показателями внутри групп. Из числа демографических показателей в анализ был включён возраст, состояние пациента отражал показатель тяжести COVID-19, выраженность неврологического дефицита — показатель по NIHSS, воспалительный процесс — число лейкоцитов, состояние азотывделительной функции почек — уровень креатинина, углеводного обмена — уровень глюкозы, свертывающей системы — уровень D-димеров. Все показатели оказались достоверными предикторами летального исхода во время пребывания в стационаре. Данная регрессионная модель объясняла 41% вариативности больничной летальности при инсульте, ассоциированном с COVID-19 (табл. 2).

Обсуждение

В данной работе в выборке из 1386 человек были проанализированы предикторы больничной летальности среди пациентов с инсультами, ассоциированными с COVID-19.

Общая летальность составила около 39%, она была выше, чем летальность при инсультах в данном стационаре в 2018 г. (до пандемии COVID-19), которая составляла 22,7%. Летальность при ишемическом инсульте, ассоциированном с COVID-19, составила 37,8%, при геморрагическом — 42,7%. Эти данные указывают на то, что при COVID-19 особенно тяжело протекают ишемические инсульты, развитие которых связано с патогенетическими механизмами развития самой инфекции, в то время как механизмы геморрагического инсульта, вероятно, в меньшей степени являются результатом COVID-19 и больше связаны с такими традиционными факторами, как артериальная гипертензия или приём антикоагулянтов.

Больничная летальность среди пациентов с инсультом, ассоциированным с COVID-19, была выше среди пациентов более старшего возраста и с более тяжёлыми острыми нарушениями мозгового кровообращения, аналогично пациентам с инсультами без COVID-19 [7]. Тяжесть COVID-19 была одним из основных факторов, повышающих риск летального исхода после инсульта. У пациентов с большей степенью поражения лёгких вследствие вирусной пневмонии, а также у тех, кому требовалась искусственная вентиляция лёгких, чаще наблюдался летальный исход в стационаре. Ранее выполненные работы по анализу предикторов неблагоприятного исхода инсульта также демонстрировали связь между маркерами асептического воспаления и неблагоприятным исходом инсульта [6], однако в случае COVID-19-ассоциированных инсультов роль воспалительных механизмов была значительно более выраженной. Летальность была связана с более низким содержанием лимфоцитов и моноцитов и повышением содержания лейкоцитов, в частности нейтрофилов, в периферической крови. С одной стороны, названные изменения отражают тяжесть вирусной инфекции, с другой стороны, они могут указывать на присоединение гнойно-воспалительного процесса.

Полученные нами данные указывают на важную роль сопутствующих заболеваний, в первую очередь сахарного диабета 2-го типа, ФП, хронической почечной недостаточности в развитии летального исхода у пациентов с инсультом, ассоциированным с COVID-19. В данном случае, вероятно, имеет место двунаправленная связь: с одной стороны, соматические заболевания повышают риск развития инсульта и ухудшают его течение, с другой стороны инсульт зачастую приводит к декомпенсации названных расстройств. Наличие дополнительного фактора в виде COVID-19 можно расценивать как фактор, усугубляющий данную взаимосвязь [9].

Сравнительный анализ данных коагулограммы продемонстрировал более высокие значения уровня D-димеров в группе с неблагоприятными исходами. D-димеры представляют собой фрагменты молекулы фибрина — свёртывающего белка, одного из основных компонентов тромба. Повышение уровня D-димеров может указывать на активный процесс тромбообразования в организме и, как следствие, высокую вероятность развития тромботических и геморрагических осложнений в рамках синдрома диссеминированного внутрисосудистого свёртывания [4]. Раздельный анализ предикторов исхода ишемического и геморрагического инсульта не выявил принципиальных различий в двух группах.

Результаты логистического регрессионного анализа смогли объяснить только 41% вариативности летальных ис-

ходов в стационаре среди пациентов с инсультом, ассоциированным с COVID-19. Вероятно, относительно низкая эффективность данной модели связана с вмешательством других, более значимых факторов в развитии неблагоприятных исходов у данной категории пациентов. К их числу можно отнести характеристики очага нарушения мозгового кровообращения, особенности фармакотерапии, генетические особенности свёртывающей системы крови пациента, особенности штамма вируса, степень компенсации сопутствующей патологии, наличие хронических сосудистых изменений в головном мозге и др.

Заключение

Высокая больничная летальность при инсульте, ассоциированном с COVID-19, связана с такими традиционными факторами, как возраст пациентов, тяжесть неврологического дефицита, наличие соматической отягощённости, а также факторами, связанными с новой коронавирусной инфекцией, — тяжестью инфекционно-воспалительного процесса и, как следствие, выраженностью нарушений со стороны свёртывающей системы крови.

Улучшение прогноза пациентов с инсультами, ассоциированными с COVID-19, возможно за счёт более тщательного ведения пациентов с соматической отягощённостью. Необходимо дальнейшие исследования для оценки эффективности различных вариантов комплексной терапии в лечении COVID-19-ассоциированного инсульта.

Список источников / References

1. Кутлубаев М.А. Клинико-патогенетические особенности поражения нервной системы при COVID-19. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2020;120(9):130–136. Kutlubayev M.A. Clinical and pathogenetic aspects of nervous system impairments in COVID-19. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2020;120(9):130–136. doi: 10.17116/jnevro2020120091130
2. Luo W., Liu X., Bao K., Huang C. Ischemic stroke associated with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J. Neurol.* 2022;269(4):1731–1740. doi: 10.1007/s00415-021-10837-7
3. Schmidbauer M.L., Ferse C., Salih F. et al. COVID-19 and intracranial hemorrhage: a multicenter case series, systematic review and pooled analysis. *J. Clin. Med.* 2022;25;11(3):605. doi: 10.3390/jcm11030605
4. Tang X., Zheng F. A review of ischemic stroke in COVID-19: currently known pathophysiological mechanisms. *Neurol. Sci.* 2022;43(1):67–79. doi: 10.1007/s10072-021-05679-0
5. Li S., Ren J., Hou H. et al. The association between stroke and COVID-19-related mortality: a systematic review and meta-analysis based on adjusted effect estimates. *Neurol. Sci.* 2022;24:1–11. doi: 10.1007/s10072-022-06024-9

6. Hatano S. Experience from a multicentre stroke register: a preliminary report. *Bull. World Health Organ.* 1976;54(5):541–553.
7. Хайруллин А.Т., Кутлубаев М.А., Рахматуллин А.Р. и др. Клинико-лабораторные предикторы неблагоприятного исхода геморрагического инсульта. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2022;122(3, вып. 2):17–21. Khayrullin A.T., Kutlubayev M.A., Rakhmatullin A.R., Safuanova G.S. Clinical and laboratory predictors of unfavorable outcome in hemorrhagic stroke. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2022;122(3, вып. 2):17–21. doi: 10.17116/jnevro202212203217
8. Rankin J. Cerebral vascular accidents in patients over the age of 60. II. Prognosis. *Scott Med. J.* 1957;2(5):200–215. doi: 10.1177/003693305700200504
9. Nezu T., Hosomi N., Aoki S. et al. Short-term or long-term outcomes for stroke patients with cancer according to biological markers. *J. Neurol. Sci.* 2022;31;436:120246. doi: 10.1016/j.jns.2022.120246

Информация об авторах

Рахматуллин Айрат Раифович — к.м.н., доцент кафедры неврологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», Уфа, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8342-3943>
Кутлубаев Мансур Амирович — д.м.н., доцент, зав. кафедрой неврологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», Уфа, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1001-2024>
Хайруллин Амир Тимурович — врач-невролог Дюртюлинской ЦРБ, Дюртюли, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6702-853X>

Вклад авторов. *Рахматуллин А.Р.* — сбор материала, написание и редакция текста рукописи; *Кутлубаев М.А.* — статистическая обработка и анализ данных, написание и редакция текста рукописи; *Хайруллин А.Р.* — редакция текста рукописи. Все авторы одобрили финальную версию перед публикацией.

Information about the authors

Airat R. Rakhmatullin — Cand. Sci. (Med.), Assoc. prof., Department of neurology, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8342-3943>
Mansur A. Kutlubayev — D. Sci. (Med.), Assoc. prof., Head, Department of neurology, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1001-2024>
Amir T. Khayrullin — attending neurologist, Dyurtyuli Central District Hospital, Dyurtyuli, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6702-853X>

Author contribution. *Rakhmatullin A.R.* — collection of material, writing and editing the text of the manuscript; *Kutlubayev M.A.* — statistical processing and data analysis, writing and editing the text of the manuscript; *Khayrullin A.R.* — editing of the text of the manuscript. All authors made a final approval of the version to be published.



Лечение частой эпизодической и хронической мигрени моноклональным антителом к кальцитонин-ген-родственному пептиду

Л.А. Добрынина, М.А. Афанасьев, А.В. Белопасова, М.В. Губанова, Е.В. Байдина

ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия

Аннотация

Введение. Высокая распространённость мигрени, её негативное влияние на качество жизни обосновывают разработку оригинальных препаратов. В 2020 г. в России для лечения мигрени зарегистрирован препарат фреманезумаб — моноклональное антитело к кальцитонин-ген-родственному пептиду. **Цель исследования** — оценить эффективность и безопасность фреманезумаба у пациентов с частой эпизодической (ЭМ) и хронической (ХМ) мигренью. **Материал и методы.** Обследованы 60 пациентов в возрасте $35,5 \pm 8,96$ года (85% — женщины) с частой ЭМ и ХМ с аурой и без ауры, ранее получавшие и не получавшие профилактическое лечение. Пациентам проведено однократное подкожное введение 675 мг фреманезумаба с оценкой эффективности через 3 мес. Учитывали изменение количества дней с головной болью в месяц и её интенсивности, влияние на повседневную активность, тревогу и депрессию.

Результаты. К концу 3-го месяца после введения фреманезумаба снижение числа дней с ГБ в месяц $> 50\%$ произошло у 76,7% пациентов: у 77,8% с частой ЭМ, у 72,7% с ХМ; интенсивности головной боли — у всех пациентов в равной степени. Не ответили на лечение фреманезумабом (число дней с ГБ в месяц снизилось $< 30\%$) 15% пациентов: 14,8% с частой ЭМ и 15,2% с ХМ. К концу 3-го месяца исследования отсутствие симптомов тревоги продемонстрировали 81% пациентов, депрессии — 79%, значительное снижение уровня инвалидизации по шкале MIDAS и опроснику HIT-6 отмечено у большинства пациентов обеих групп. Лишь 3 (5%) пациента отметили нежелательные явления в виде покраснения и зуда в месте инъекции препарата. **Заключение.** Настоящее исследование реальной клинической практики установило более высокую эффективность и безопасность фреманезумаба в лечении ЭМ и ХМ, чем в рандомизированных клинических исследованиях. Однократное введение 675 мг фреманезумаба обеспечивало на протяжении 3 мес наблюдения эффективную профилактику мигрени, снижение коморбидных тревоги и депрессии, улучшение качества жизни.

Ключевые слова: мигрень; моноклональные антитела; CGRP; фреманезумаб; клиническая практика

Соблюдение этических стандартов. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Работа одобрена локальным этическим комитетом ФГБНУ НЦН (протокол № 7-5/21 от 25.08.2021).

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешних источников финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Адрес для корреспонденции: 125367, Москва, Волоколамское шоссе, д. 80, ФГБНУ «Научный центр неврологии».
E-mail: dobrla@mail.ru. Добрынина Л.А.

Для цитирования: Добрынина Л.А., Афанасьев М.А., Белопасова А.В., Губанова М.В., Байдина Е.В. Лечение частой эпизодической и хронической мигрени моноклональным антителом к кальцитонин-ген-родственному пептиду. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2023;17(2):22–27.

DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.3>

Поступила 24.01.2023 / Принята в печать 15.03.2023 / Опубликовано 25.06.2023

The Management of High-Frequency Episodic and Chronic Migraines with Calcitonin Gene-Related Peptide Monoclonal Antibody

Larisa A. Dobrynina, Maksim A. Afanasev, Anastasia V. Belopasova, Maria V. Gubanova, Ekaterina V. Baydina

Research Center of Neurology, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. High prevalence of migraine and its impact on quality of life requires the development of original agents. In 2020, fremanezumab, a new calcitonin gene-related peptide monoclonal antibody was authorized in Russia.

Objective: to evaluate safety and effectiveness of fremanezumab in patients with high-frequency episodic migraine (HFEM) and chronic migraine (CM).

Materials and methods. We assessed 60 patients at the age of 35.5 ± 8.96 years (85%, females) with HFEM and CM with and without aura who were either receiving preventive treatment or not. Fremanezumab was administered subcutaneously at a single dose of 675 mg. The study participants were followed-up for efficacy in 3 months. The investigators assessed change in the number of days with headache per month as well as headache intensity, its impact on the daily activities, anxiety, and depression.

Results. By the end of month 3 post dosing, the number of days with headache decreased by >50% in 76.7% of participants where 77.8% of individuals suffered from HF EM and 72.7% of individuals had CM while headache intensity decreased in all the patients equally. No response (decrease in the number of days with headache by < 30%) was reported in 15% of participants including 14.8% of individuals with HF EM and 15.2% of individuals with CM. By the end of study month 3, 81% of participants demonstrated no anxiety symptoms and 79% of participants showed no depression with significant MIDAS and HIT-6 score decline in both groups. Only 3 (5%) patients noted adverse events (redness, itching at the administration site).

Conclusion. We documented higher fremanezumab safety and effectiveness in patients with EM and CM in real-world practice as compared to fremanezumab safety and efficacy in randomized clinical trials. A single dose of fremanezumab (675 mg) resulted in effective migraine prevention, decline in comorbid anxiety and depression, and improved quality of life during 3-month follow-up.

Keywords: migraine; monoclonal antibodies; CGRP; fremanezumab; clinical practice

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Research Center of Neurology (protocol No. 7-5/21, August 25, 2021)..

Source of funding. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For correspondence: 125367, Russia, Moscow, Volokolamskoye shosse, 80. Research Center of Neurology. E-mail: dobrla@mail.ru. Dobrynina L.A.

For citation: Dobrynina L.A., Afanasev M.A., Belopasova A.V., Gubanova M.V., Baydina E.V. The management of high-frequency episodic and chronic migraines with calcitonin gene-related peptide monoclonal antibody. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2023;17(2):22–27. (In Russ.)

DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.3>

Received 24.01.2023 / Accepted 15.03.2023 / Published 25.06.2023

Введение

Высокая распространённость мигрени, её сохраняющееся значимое негативное влияние на качество жизни, повседневную активность, инвалидизацию [1, 2] обосновывают разработку и внедрение в клиническую практику оригинальных препаратов патогенетической направленности. В последние годы сразу несколько крупнейших фармацевтических компаний зарегистрировали и вывели в клинические исследования препараты двух принципиально новых классов для лечения мигрени, направленных на ингибирование кальцитонин-ген родственного пептида (CGRP), — моноклональных антител и низкомолекулярных антагонистов (гепантов) [3]. CGRP отводится ключевая роль в реализации центральных и периферических механизмов мигрени [4], связанных с его мощным вазодилаторным эффектом на церебральные и оболочечные сосуды, участием в высвобождении провоспалительных медиаторов, передаче ноцицептивной информации из интракраниальных сосудов в нервную систему. В 2018 г. в США [5] и в 2020 г. в России для профилактического лечения мигрени был зарегистрирован фреманезумаб — полностью гуманизованное моноклональное антитело (IgG2a) против α - и β -изоформ белка CGRP. Препарат прошел рандомизируемые контролируемые клинические исследования более чем на 2000 пациентах с мигренью, показаны его безопасность и эффективность [6–8].

Приём фреманезумаба приводит к снижению коморбидной депрессии, улучшению повседневной активности и качества жизни (КЖ) [9, 10]. Наиболее частыми нежелательными явлениями были реакции в месте инъекции (уплотнение — 33% случаев, боль — 31%, эритема — 26%) [11]. В настоящее время в Европе продолжается 24-месячное проспективное обсервационное исследование фреманезумаба при эпизодической (ЭМ) и хронической (ХМ) мигрени [12].

Данные об использовании фреманезумаба в практике ограничены [13–15], тогда как реальные клинические наблю-

дения необходимы для уточнения результатов клинических исследований [16]. Единственное проспективное исследование по эффективности и безопасности фреманезумаба в реальной клинической практике проведено в Италии. На группе из 53 пациентов с ЭМ и ХМ с ежемесячным на протяжении 3 мес режимом введения в дозе 225 мг показана эффективность и безопасность препарата. Влияние на коморбидные тревогу и депрессию, а также частоту нежелательных явлений на фоне приёма препарата в данном исследовании не оценивали [15]. Два других исследования реальной клинической практики включали ретроспективную оценку больших групп пациентов [13, 14], и также показали эффективность и безопасность фреманезумаба при частой ЭМ и ХМ.

Цель исследования — оценить эффективность и безопасность фреманезумаба у пациентов с частой ЭМ и ХМ.

Материал и методы

Проведено наблюдательное, проспективное, открытое, рандомизированное исследование по оценке эффективности и безопасности моноклонального антитела к CGRP — фреманезумаба для лечения частой ЭМ и ХМ в реальной клинической практике.

Пациенты отбирались в группу исследования среди обратившихся с головной болью (ГБ) в научно-консультативное отделение ФГБНУ НЦН с августа 2021 г. по январь 2022 г. Критерии включения: возраст 18–50 лет; частая ЭМ (8–14 дней с ГБ в месяц) и ХМ (> 15 дней с ГБ в месяц, из которых минимум 8 дней соответствуют критериям мигрени); продолжительность заболевания более 1 года; продолжение профилактического лечения мигрени при наличии такового до включения в исследование в прежней схеме на протяжении 3 мес исследования; отказ от инициирования профилактического лечения на протяжении 3 мес исследования; ведение дневника ГБ. Критерии невключения: другие виды ГБ; неврологические, соматические и психиче-

ские заболевания; беременность и лактация; алкогольная и другие виды зависимостей; лечение ботулотоксином типа А и препаратами моноклональных антител в течение 3 мес до начала исследования; изменение схемы приёма препаратов для профилактики мигрени менее чем за 1 месяц до исследования; использование устройств или процедур, основанных на электрической стимуляции, для профилактики мигрени в течение 2 мес до включения в исследование; отказ пациента от исследования. Критерии исключения: изменение схемы приёма и доз получаемого профилактического лечения или назначение новых препаратов для профилактики в течение 3 мес наблюдения.

Пациентам, удовлетворяющим критериям исследования, предоставлялась информация о фреманезумабе и его введении, предлагалось лечение фреманезумабом. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Работа одобрена локальным этическим комитетом ФГБНУ НЦН (протокол № 7-5/21 от 25.08.2021).

Фреманезумаб использовали в виде раствора для подкожного введения дозировкой 225 мг в форме шприц-ручки 1,5 мл. Специально обученный медицинский персонал проводил последовательное одновременное из 3 шприц-ручек (суммарная доза 675 мг) подкожное введение препарата на расстоянии не менее 5 см друг от друга в предплечье, бедро или окологрудинную область.

В исследование вошли 60 пациентов с частой ЭМ и ХМ с аурой и без ауры, ранее получавшие и не получавшие профилактическое лечение. При первом визите уточнялись возраст дебюта и длительности заболевания; принимаемая терапия (для снятия приступов и профилактическая); наследственный анамнез мигрени. Пациентов предупреждали о необходимости продолжения профилактического лечения мигрени при наличии такового до включения в исследование в прежней схеме на протяжении 3 мес исследования, отказа от инициирования профилактического лечения на протяжении 3 мес исследования и ведения дневника ГБ. Все пациенты до и через 3 мес после введения фреманезумаба проходили подробный опрос и анкетирование с оценкой клинических параметров мигрени: количество дней с ГБ в месяц, длительность приступа, интенсивность боли по визуально-аналоговой шкале (ВАШ); влияние мигрени на повседневную активность и КЖ по опроснику «Migraine Disability Assessment» (MIDAS) [17] и тесту «Headache Impact Test» (HIT-6) [18], депрессии и тревоги — по Госпитальной шкале тревоги и депрессии (ГШДТ) [19]. Конечной точкой терапии было изменение количества дней с ГБ в месяц от исходного уровня, а также доли пациентов, которые достигли как минимум 30, 50 и 75% снижения количества дней с ГБ в месяц от исходного уровня в конце 3-го месяца лечения фреманезумабом. Лечение считали неэффективным, если количество дней с болью уменьшилось менее чем на 30% в месяц после 3 мес терапии фреманезумабом.

Статистический анализ проводили с помощью программного обеспечения «Statistics 26.0» («IBM SPSS»). Категориальные и порядковые переменные представлены как частота и доля (%), для нормально распределённых количественных переменных использовали среднее и стандартное отклонение, для количественных переменных, распределение которых не соответствовало нормальному, — медиану, 1-й и 3-й квартили. Во всех случаях выбирали двусторонние

варианты статистических критериев. Нулевую гипотезу отвергали при $p < 0,05$. Сравнение двух независимых групп проводили с использованием критериев Манна–Уитни и Вилкоксона.

Результаты

До введения фреманезумаба во всей исследуемой группе пациентов с мигренью среднее количество дней с ГБ в месяц составляло $16,3 \pm 7,2$ (таблица). К концу 3-го месяца после его введения среднее количество дней с ГБ в месяц снизилось до $6,8 \pm 6,1$ ($> 50\%$). При этом снижение числа дней с ГБ в месяц на 75%, 50% и 30% произошло у 33,3%, 76,7% и 85% соответственно (рис. 1). Пациенты, не ответившие на лечение фреманезумабом (снижение числа дней с ГБ в месяц $< 30\%$), составили 15% от общего количества пациентов.

Раздельно был проведён анализ эффективности лечения фреманезумабом у пациентов с частой ЭМ и ХМ. Пациенты с частой ЭМ ($n = 27$, из них 23 женщины; средний возраст $35,9 \pm 8,1$ года) снизили исходное количество дней с ГБ в месяц с $10,4 \pm 2,3$ до $3,8 \pm 1,2$ ($> 50\%$) к концу 3-го месяца после введения препарата. Снижение числа дней с ГБ в месяц на 75%, 50% и 30% произошло у 37,1%, 77,8% и 85,2% соответственно (рис. 1). Пациенты, не ответившие на лечение фреманезумабом (снижение числа дней с ГБ в месяц $< 30\%$), составили 14,8% от общего количества пациентов.

У пациентов с ХМ ($n = 33$, из них 28 женщин; средний возраст $32,2 \pm 9,7$ года) исходное количество дней с ГБ в месяц снизилось с $21,1 \pm 6,2$ до $9,2 \pm 2,7$ ($> 50\%$) к концу 3-го месяца от введения фреманезумаба. Снижение числа дней с ГБ в месяц на 75%, 50% и 30% произошло у 30,3%, 72,7% и 84,8% соответственно (рис. 1). Пациенты, не ответившие на лечение, составили 15,2% от общего числа.

Интенсивность ГБ по ВАШ к концу 3-го месяца от введения фреманезумаба снизилась у пациентов исследуемых групп в равной степени: при частой ЭМ — с $8,4 \pm 1,6$ до $3,6 \pm 2,0$ балла ($p = 0,00000$), в группе с ХМ — с $7,7 \pm 1,8$ до $4,4 \pm 1,7$ балла по ВАШ ($p = 0,00000$).

Аура к концу 3-го месяца прекратилась у всех пациентов с частой ЭМ, у 2 из 10 пациентов с ХМ сохранилась аура прежнего характера и выраженности. Приступы мигрени у этих пациентов также не ответили на лечение фреманезумабом (число дней с ГБ в месяц снизилось $< 30\%$).

Согласно опроснику MIDAS (рис. 2) и тесту HIT-6 (рис. 3) по всей исследуемой группе, а также при частой ЭМ и ХМ к концу 3-го месяца терапии отмечено значительное снижение баллов, соответствующее улучшению КЖ, снижению дезадаптации и повышению работоспособности.

Среди всех пациентов с мигренью по ГШДТ 27 имели субклиническую (12 человек) и клинически выраженную (15 человек) тревогу, 19 — субклиническую (9 человек) и клинически выраженную (10 человек) депрессию. К концу 3-го месяца исследования отсутствие симптомов тревоги продемонстрировали 22 (81%) человека, депрессии — 15 (79%) человек.

Фреманезумаб показал хорошую переносимость. Лишь 3 (5%) из 60 пациента, принявших участие в исследовании, отметили нежелательные явления в виде покраснения и зуда в месте инъекции препарата. Не было зарегистрировано

Общая характеристика пациентов до введения фреманезумаба

Pre-dosing patients' characteristics

Характеристика Characteristic		Общая группа Total	Частая ЭМ HF EM	XM CM
<i>n</i>		60	27	33
Средний возраст, годы Mean age, years	<i>M ± SD</i>	35,5 ± 8,96	35,9 ± 8,1	32,2 ± 9,7
Женщины Females	<i>n (%)</i>	51 (85)	23 (85)	28 (85)
Мужчины Males	<i>n (%)</i>	9 (15)	4 (15)	5 (15)
Наследственный анамнез Family history	<i>n (%)</i>	26 (43,3)	11 (40,1)	15 (45,4)
Частота дней с мигренью в месяц Days with migraine per month	<i>M ± SD</i>	16,3 ± 7,2	10,4 ± 2,3	21,1 ± 6,2
Интенсивность ГБ по ВАШ, баллы Headache intensity, VAS score		8,1 ± 1,6	8,4 ± 1,6	7,7 ± 1,8
MIDAS опросник, баллы MIDAS score	Me [Q ₂₅ ; Q ₇₅]	69 [45; 129]	61 [41; 81]	95 [49; 156]
HIT-6 шкала, баллы, HIT-6 score	<i>M ± SD</i>	65 ± 6	65 ± 7	66 ± 5
Профилактическое лечение: Preventive treatment:	<i>n (%)</i>			
ранее не проводилось none		15 (25)	9 (33)	6 (18)
1–2 группы препаратов 1–2 pharmaceutical groups		34 (57)	11 (41)	23 (70)
> 3 групп препаратов > 3 pharmaceutical groups		11 (18)	7 (26)	4 (12)
ГШТД тревога/депрессия: HADS score	<i>n (%)</i>			
отсутствует (0–7 баллов) normal (0–7)		33/41 (55/68)	15/22 (56/81)	18/19 (55/58)
субклинически выраженная (8–10 баллов) borderline abnormal (8–10)		12/9 (20/15)	4/2 (15/7)	8/7 (24/21)
клинически выраженная (≥ 11 баллов) abnormal (≥ 11)		15/10 (25/17)	8/3 (30/11)	7/7 (21/21)

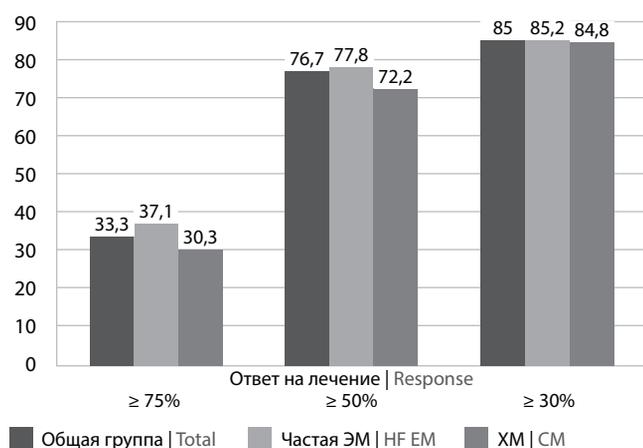


Рис. 1. Снижение количества дней с ГБ к концу 3-го месяца введения фреманезумаба.
Fig. 1. Decrease in the number of days with headache by the end of month 3 post fremanezumab dosing.

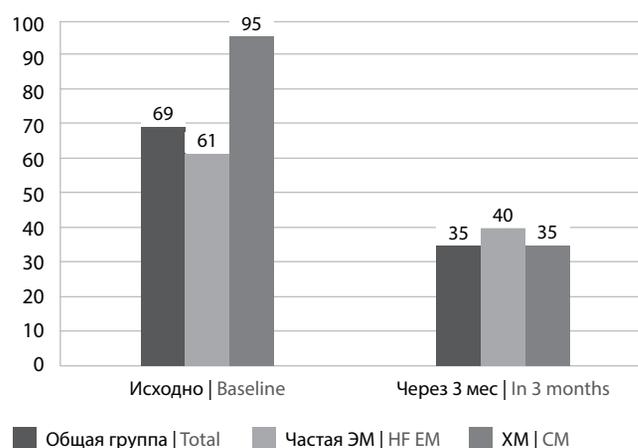


Рис. 2. Влияние мигрени на повседневную активность, баллы по опроснику MIDAS.
Fig. 2. Migraine impact on daily activities, MIDAS score.

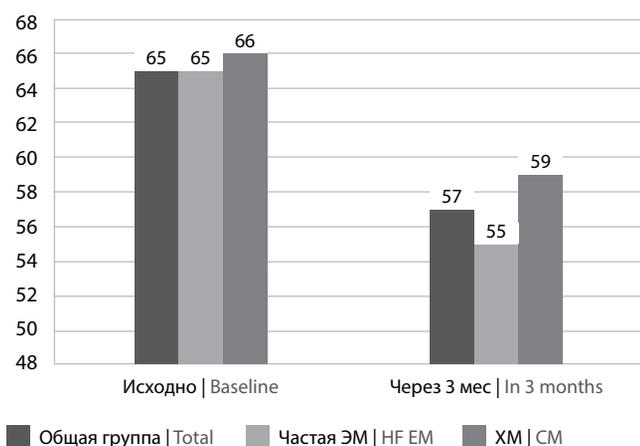


Рис. 3. Влияние мигрени на повседневную активность, баллы по тесту НИТ-6.

Fig. 3. Migraine impact on daily activities, NIT-6 score.

вано серьёзных побочных эффектов, ни один пациент не прекратил лечение из-за неблагоприятного события.

Обсуждение

Проведённое исследование реальной клинической практики показало, что фреманезумаб в дозировке 675 мг, вводимой ежеквартально, примерно в равной степени эффективен у пациентов, страдающих как частой ЭМ, так и ХМ, ранее получавших или не получавших профилактическое лечение. Наши данные подтвердили результаты, полученные при лечении фреманезумабом в рандомизированных клинических исследованиях [6–8] и в реальной клинической практике [13–15], о прогрессирующем сокращении числа дней с мигренью в месяц, уменьшении степени инвалидизации, повышении КЖ, безопасности и хорошей переносимости препарата. В целом на лечение фреманезумабом ответили 76,7% пациентов (у которых число дней с ГБ снизилось на > 50%), что указывает на его преимущества по сравнению с другими препаратами для профилактики мигрени (противоэпилептическими) — у 40,8%, бета-блокаторами — у 42,8%, антидепрессантами — у 45,2%, блокаторами кальциевых каналов — у 42,4% [20].

Установленное в нашем исследовании снижение количества дней с ГБ в месяц > 50% к концу 3-го месяца у 77,8% пациентов с частой ЭМ и у 72,2% с ХМ значительно превышало таковое в крупных рандомизированных плацебо-контролируемых клинических исследованиях. Так, в исследовании HALO эффективность фреманезумаба у пациентов с частой ЭМ составила 51%, у пациентов с ХМ — 65% [6, 7].

По сравнению с другими исследованиями реальной клинической практики число наших пациентов, ответивших на терапию фреманезумабом (снижение количества дней с ГБ в месяц > 50%), оказалось выше, чем в наблюдениях М.Т. Driessen и соавт. — 52,1% пациентов с частой ЭМ и 58,3% пациентов с ХМ [13] и P. Barbanti и соавт. при частой ЭМ — 58,3% у пациентов [15], но сопоставимо с таковой для ХМ — 6,5% в последнем исследовании.

Возможным объяснением установленной в нашем исследовании большей эффективности фреманезумаба по сравнению с ранее проведёнными могут быть особенности вы-

борки, включающей 25% пациентов, ранее не получавших профилактические препараты. Косвенно с этим согласуется расширение показаний использования фреманезумаба в качестве первой линии терапии, направленной на профилактику приступов мигрени [21, 22].

Проспективный характер исследования позволил нам провести оценку изменений КЖ, степени инвалидизации, уровней тревоги и депрессии у пациентов на 3-месячной терапии фреманезумабом, что не проводилось в зарубежных ретроспективных исследованиях реальной клинической практики [13, 14]. Мы сравнили данные единственного проспективного исследования реальной клинической практики P. Barbanti и соавт. [15] и полученные нами по изменению КЖ к концу 3-го месяца терапии. По опроснику MIDAS, в исследовании P. Barbanti и соавт. КЖ улучшилось у пациентов с частой ЭМ на 74%, с ХМ — на 46% [15], тогда как в нашем исследовании большее улучшение наблюдалось у пациентов с ХМ (63%) по сравнению с ЭМ (33%). Кроме того, в нашем исследовании, согласно тесту НИТ-6, уменьшилось влияние ГБ на повседневную активность — у пациентов с частой ЭМ в среднем на 10 баллов, у пациентов с ХМ — на 7 баллов, чего не отмечалось в аналогичном исследовании итальянских коллег.

Лечение фреманезумабом привело и к уменьшению проявления сопутствующих мигрени тревоги и депрессии. После 3 мес лечения 81% и 79% пациентов с тяжёлыми тревогой и депрессией соответственно отметили регресс психоэмоциональных нарушений. В аналогичных исследованиях изменения степени тревоги и депрессии не оценивались. Данное действие фреманезумаба является крайне ценным, учитывая частую коморбидность мигрени и эмоциональных расстройств, а также то, что их наличие прогностически связано с более тяжёлым течением мигрени, повышенным риском хронизации, снижением КЖ и увеличением инвалидизации [23, 24]. В связи с этим полученные нами результаты указывают на предпочтительность выбора фреманезумаба для профилактики мигрени у пациентов с коморбидными тревогой и депрессией.

Важными преимуществами использования фреманезумаба для профилактики мигрени стали хорошая переносимость препарата и отсутствие серьёзных побочных эффектов. Встречаемость нежелательных явлений в виде покраснения и зуда в месте инъекции препарата были отмечены нами у 5%, что значительно ниже, чем в аналогичных крупных рандомизированных контролируемых исследованиях, — до 30% [6, 7].

Таким образом, настоящее исследование реальной клинической практики подтверждает установленную в рандомизированных клинических исследованиях эффективность и безопасность фреманезумаба в лечении ЭМ и ХМ как в качестве препарата первичного выбора, так и при продолжении профилактического лечения после неудачных попыток использования классических препаратов 1-й и 2-й линий. Значимым преимуществом в использовании фреманезумаба является сохранение эффективности не менее 3 мес при однократном введении 675 мг, снижение коморбидных тревоги и депрессии, улучшение КЖ при минимальных побочных эффектах. Последующее проспективное наблюдение за данной когортой пациентов позволит уточнить продолжительность действия фреманезумаба по отношению к частоте ГБ и коморбидным тревоге и депрессии и определиться с долгосрочной тактикой их ведения.

Список источников / References

- GBD 2016 Headache Collaborators. Global, regional, and national burden of migraine and tension-type headache, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol.* 2018;17(11):954–976. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30322-3
- Burch R.C., Buse D.C., Lipton R.B. Migraine: epidemiology, burden, and comorbidity. *Neurol. Clin.* 2019;37(4):631–649. doi: 10.1016/j.ncl.2019.06.001
- Cohen F., Yuan H., Silberstein S.D. Calcitonin gene-related peptide (CGRP)-targeted monoclonal antibodies and antagonists in migraine: current evidence and rationale. *BioDrugs.* 2022;36(3):341–358. doi: 10.1007/s40259-022-00530-0
- Bigal M.E., Walter S., Rapoport A.M. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) and migraine current understanding and state of development. *Headache.* 2013;53(8):1230–44. doi: 10.1111/head.12179
- Hoy S.M. Fremanezumab: first global approval. *Drugs.* 2018;78(17):1829–1834. doi: 10.1007/s40265-018-1004-5
- Silberstein S.D., Dodick D.W., Bigal M.E. et al. Fremanezumab for the preventive treatment of chronic migraine. *N. Engl. J. Med.* 2017;377:2113–2122. doi: 10.1056/NEJMoal1709038
- Dodick D.W., Silberstein S.D., Bigal M.E. et al. Effect of Fremanezumab compared with placebo for prevention of episodic migraine: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2018;319:1999–2008. doi: 10.1001/jama.2018.4853
- Ferrari M.D., Diener H.C., Ning X. et al. Fremanezumab versus placebo for migraine prevention in patients with documented failure to up to four migraine preventive medication classes (FOCUS): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3b trial. *Lancet.* 2019;394(10203):1030–1040. doi: 10.1016/S0140-6736(19)31946-4
- Sakai F., Suzuki N., Kim B.K. et al. Efficacy and safety of fremanezumab for chronic migraine prevention: multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group trial in Japanese and Korean patients. *Headache.* 2021;61(7):1092–1101. doi: 10.1111/head.14169
- Lipton R.B., Cohen J.M., Galic M. et al. Effects of fremanezumab in patients with chronic migraine and comorbid depression: subgroup analysis of the randomized HALO CM study. *Headache.* 2021;61(4):662–672. doi: 10.1111/head.14097
- Goadsby P.J., Silberstein S.D., Yeung P.P. et al. Long-term safety, tolerability, and efficacy of fremanezumab in migraine: a randomized study. *Neurology.* 2020;95(18):e2487–e2499. doi: 10.1212/WNL.0000000000010600
- Ashina M., Amin F.M., Kokturk P. et al. PEARL study protocol: a real-world study of fremanezumab effectiveness in patients with chronic or episodic migraine. *Pain Manag.* 2021;11(6):647–654. doi: 10.2217/pmt-2021-0015
- Driessen M.T., Cohen J.M., Thompson S.F. et al. Real-world effectiveness after initiating fremanezumab treatment in US patients with episodic and chronic migraine or difficult-to-treat migraine. *J. Headache Pain.* 2022;23(1):56. doi: 10.1186/s10194-022-01415-x
- Krasenbaum L.J., Pedarla V.L., Thompson S.F. et al. A real-world study of acute and preventive medication use, adherence, and persistence in patients prescribed fremanezumab in the United States. *J. Headache Pain.* 2022;23(1):54. doi: 10.1186/s10194-022-01413-z
- Barbanti P., Egeo G., Aurilia C. et al. Fremanezumab in the prevention of high-frequency episodic and chronic migraine: a 12-week, multicenter, real-life, cohort study (the FRIEND study). *J. Headache Pain.* 2022;23(1):46. doi: 10.1186/s10194-022-01396-x
- Diener H.C., Ashina M., Durand-Zaleski I. et al. Health technology assessment for the acute and preventive treatment of migraine: a position statement of the International Headache Society. *Cephalalgia.* 2021;41(3):279–293. doi: 10.1177/0333102421989247
- Stewart W.F., Lipton R.B., Dowson A.J., Sawyer J. Development and testing of the Migraine Disability Assessment (MIDAS) Questionnaire to assess headache-related disability. *Neurology.* 2001;56(1):20–28. doi: 10.1212/wnl.56.suppl_1.s20
- Kosinski M., Bayliss M.S., Bjorner J.B. et al. A six-item short-form survey for measuring headache impact: the HIT-6. *Qual. Life Res.* 2003;12(8):963–974. doi: 10.1023/a:1026119331193
- Сырпятов О.Г., Дзеружинская Н.А., Астапов Ю.Н., Иванцова Г.В. Ранняя диагностика и лечение депрессии в общей медицинской практике. Киев; 2003.
- Syrpyatov O.G., Dzeruzhinskaya N.A., Astapov Yu.N., Ivantsova G.V. Early diagnostic and treatment of depression in general medicine practice. Kiev; 2003. (In Russ.)
- Blumenfeld A.M., Bloudek L.M., Becker W.J. et al. Patterns of use and reasons for discontinuation of prophylactic medications for episodic migraine and chronic migraine: results from the second international burden of migraine study (IBMS-II). *Headache.* 2013;53(4):644–655. doi: 10.1111/head.12055
- Филатова Е.Г., Осипова В.В., Табеева Г.Р. и др. Диагностика и лечение мигрени: рекомендации российских экспертов. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* 2020;12(4):4–14.
- Filatova E.G., Osipova V.V., Tabeeva G.R. et al. Diagnosis and treatment of migraine: Russian experts' recommendations. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics.* 2020;12(4):4–14. (In Russ.) doi: 10.14412/2074-2711-2020-4-4-14
- Sacco S., Amin F.M., Ashina M. et al. European Headache Federation guideline on the use of monoclonal antibodies targeting the calcitonin gene related peptide pathway for migraine prevention – 2022 update. *J. Headache Pain.* 2022;23(1):67. doi: 10.1186/s10194-022-01431-x
- Breslau N., Lipton R.B., Stewart W.F. et al. Comorbidity of migraine and depression: investigating potential etiology and prognosis. *Neurology.* 2003;60(8):1308–1312. doi: 10.1212/01.wnl.0000058907.41080.54
- Yang Y., Zhao H., Heath A.C. et al. Shared genetic factors underlie migraine and depression. *Twin Res. Hum. Genet.* 2016;19(4):341–350. doi: 10.1017/thg.2016.46

Информация об авторах

Добрынина Лариса Анатольевна — д.м.н., г.н.с., зав. 3-го неврологического отделения Института клинической и профилактической неврологии ФГБНУ НЦН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9929-2725>
Афанасьев Максим Александрович — аспирант, врач-невролог 3-го неврологического отделения Института клинической и профилактической неврологии ФГБНУ НЦН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5552-3074>
Белопасова Анастасия Владимировна — к.м.н., с.н.с. 3-го неврологического отделения Института клинической и профилактической неврологии ФГБНУ НЦН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3124-2443>
Губанова Мария Владимировна — к.м.н., н.с. 3-го неврологического отделения Института клинической и профилактической неврологии ФГБНУ НЦН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9893-712X>
Байдина Екатерина Вадимовна — к.м.н., главный врач ФГБНУ НЦН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5911-5855>

Вклад авторов. Добрынина Л.А. — создание концепции исследования; Афанасьев М.А., Белопасова А.В., Губанова М.В. — проведение исследования; Байдина Е.В. — руководство научно-исследовательской работой. Все авторы одобрили финальную версию перед публикацией

Information about the authors

Larisa A. Dobrynina — D. Sci. (Med.), chief researcher, Head, 3rd Neurological department, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9929-2725>
Maksim A. Afanasev — postgraduate student, neurologist, 3rd Neurological department, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5552-3074>
Anastasia V. Belopasova — Cand. Sci. (Med.), researcher, 3rd Neurological department, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3124-2443>
Maria V. Gubanova — Cand. Sci. (Med.), researcher, 3rd Neurological department, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9893-712X>
Ekaterina V. Baydina — Cand. Sci. (Med.), chief physician, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9929-2725>

Author contribution. Dobrynina L.A. — creation of the research concept; Afanasev M.A., Belopasova A.V., Gubanova M.V. — conducting research; Baydina E.V. — management of research work. All authors approved the final version before publication.



Клиническое секвенирование экзоста у пациентов с недифференцированной общей задержкой развития и интеллектуальными нарушениями

Д.В. И^{1,2}, В.А. Иокша², Т.Н. Проскокова²

¹КГАНОУ «Хабаровский центр развития психологии и детства «Психология», Хабаровск, Россия;

²ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет», Хабаровск, Россия

Аннотация

Введение. Каждое пятое расстройство развития нервной системы диагностируется только с помощью массового параллельного секвенирования.

Цель статьи — представить опыт применения клинического секвенирования экзоста у детей с недифференцированной общей задержкой развития и интеллектуальными нарушениями.

Материалы и методы. Обследованы 33 пациента (19 мальчиков и 14 девочек) в возрасте $4,5 \pm 2,4$ года с общей задержкой развития и интеллектуальными нарушениями. Изучены данные клинико-генеалогического анамнеза, неврологический статус, результаты нейропсихологической диагностики и клинического секвенирования экзоста.

Результаты. Эффективность клинического секвенирования экзоста в данной выборке детей составила 39,4% (мутации в генах *MECP2*, *WDR45*, *SYNJ1*, *ADAR*, *PMM2*, *SHANK3*, *KMT5B*, *UBE3A*, *PTPN11*, *CTNNB1*, *MTOR*). Патогенные варианты были значительно более распространены среди пациентов с задержкой моторного развития — 53,8% пациентов ($p < 0,05$). Наиболее часто диагностировались инсомнические расстройства (46,2%), расстройства аутистического спектра (38,5%), регресс развития (38,5%) и эпилепсия (38,5%). Генетические заболевания чаще обнаруживались у девочек.

Заключение. Результаты исследования позволяют предположить, что около 40% пациентов с общей задержкой развития и интеллектуальными нарушениями имели генетические заболевания, следовательно, такие пациенты должны быть дообследованы с проведением молекулярно-генетических анализов.

Ключевые слова: клиническое секвенирование экзоста; общая задержка развития; интеллектуальная недостаточность

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии законных представителей пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» (протокол № 2 от 22.03.2022).

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешних источников финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Адрес для корреспонденции: 680012, Хабаровск, Трамвайный пр., д. 5а, КГАНОУ «Хабаровский центр развития психологии и детства «Психология». E-mail: i.dmitry@psylogia.ru. И.Д.В.

Для цитирования: И.Д.В., Иокша В.А., Проскокова Т.Н. Клиническое секвенирование экзоста у пациентов с недифференцированной общей задержкой развития и интеллектуальными нарушениями. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2023;17(2):28–35.

DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.4>

Поступила 30.09.2022 / Принята в печать 17.11.2022 / Опубликовано 25.06.2023

Clinical Exome Sequencing in Patients with Undifferentiated General Developmental Delay and Intellectual Disabilities

Dmitriy V. I^{1,2}, Viktoriya A. Ioksha², Tatyana N. Proskokova²

¹Khabarovsk Center for the Development of Psychology and Childhood «Psylogia», Khabarovsk, Russia;

²Far-East State Medical University, Khabarovsk, Russia

Abstract

Introduction. Each fifth neurodevelopmental disorder is diagnosed in massively parallel sequencing only.

Objective: to present the experience of exome sequencing in children with undifferentiated general developmental delay and intellectual disabilities.

Materials and methods. We assessed 33 patients (19 males and 14 females) at the age of 4.5 ± 2.4 years with general developmental delay and intellectual disabilities. We studied patients' medical and family histories and their neurological statuses as well as the findings of neuropsychological testing and clinical exome sequencing.

Results. The effectiveness of clinical exome sequencing in the sample was 39.4% (MECP2, WDR45, SYNJ1, ADAR, PMM2, SHANK3, KMT5B, UBE3A, PTPN11, CTNNA1, and MTOR mutations). The pathogenic variants were significantly more prevalent in the patients with motor development delay, 53.8% of patients ($P < .05$). Most incident conditions included insomnias (46.2%), autism spectrum disorders (38.5%), developmental regression (38.5%), and epilepsy (38.5%). Genetic disorders were more common in the female patients.

Conclusion. With the study results, we can suppose that ca. 40% of patients with undifferentiated general developmental delay and intellectual disabilities had genetic disorders and, therefore, needed further evaluation with molecular genetic testing.

Keywords: clinical exome sequencing; general developmental delay; intellectual deficiency; intellectual disability

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the legal representatives of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Far-East State Medical University (protocol No. 2, March 22, 2022).

Source of funding. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For correspondence: 680012, Khabarovsk, 5a proezd Tramvayny, Khabarovsk Center for the Development of Psychology and Childhood «Psylogia». E-mail: i.dmitry@psylogia.ru. I D.V.

For citation: I D.V., Ioksha V.A., Proskokova T.N. Clinical exome sequencing in patients with undifferentiated general developmental delay and intellectual disabilities. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2023;17(2):28–35. (In Russ.)

DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.4>

Received 30.09.2022 / Accepted 17.11.2022 / Published 25.06.2023

Введение

Данные последних лет иллюстрируют огромный прогресс в области диагностики различных заболеваний, который был достигнут благодаря развитию массового параллельного секвенирования (massive parallel sequencing, MPS). MPS произвело революцию в клинической медицине, повысив шансы молекулярной диагностики редких генетических заболеваний. Примерно каждое пятое расстройство развития нервной системы диагностируется только с помощью данной технологии. Полезность MPS в клинической практике отмечена при диагностике общей задержки развития (ОЗР), интеллектуальных нарушений (ИН), расстройств аутистического спектра (РАС) и эпилепсии [1–4]. Расстройства развития нервной системы являются клинически разнообразными и генетически гетерогенными заболеваниями. Распространённость ОЗР/ИН колеблется от 1,0 до 3,0% в мировой популяции. Данные нарушения являются наиболее частой патологией развития нервной системы — например, в Англии доля ИН составляет 2,7% только среди детей школьного возраста [5–7].

Наиболее распространёнными причинами ОЗР/ИН являются генетические аномалии, пренатальные, перинатальные и постнатальные факторы [5]. Это могут быть инфекционные заболевания матери во время беременности (токсоплазмоз, краснуха, цитомегаловирус), приём токсических веществ (алкоголь, свинец, лекарственные препараты), перинатальная асфиксия, осложнения недоношенности (гипоксически-ишемические энцефалопатии и внутрижелудочковые кровоизлияния), радиоактивное излучение, энцефалиты и черепно-мозговые травмы. У некоторых пациентов связь между одним или несколькими из этих факторов и ОЗР/ИН очевидна, в то время как у других причинно-следственная связь трудно поддаётся оценке, поэтому в таких случаях следует учитывать вероятную генетическую этиологию.

Традиционно генетические варианты ОЗР/ИН подразделяются на хромосомные аномалии, вариации числа копий генов и генные мутации [8]. Большинство редких генетических нарушений вызваны мутациями, которые находятся в кодирующей части гена, но в некоторых случаях

дефект может быть локализован в некодирующей области или в митохондриальной ДНК [9]. Этиологией ОЗР/ИН в 40% случаев являются моногенные заболевания, при этом у подавляющего большинства пациентов обнаруживаются мутации, возникающие *de novo* (при спорадических формах — до 60% в общей популяции). Средняя распространённость ОЗР, вызванных мутациями *de novo*, составляет 1 на 213–448 новорождённых, в зависимости от возраста родителей. Во всём мире ежегодно рождаются около 400 000 больных детей. Большинство моногенных заболеваний, связанных с ОЗР/ИН, имеют аутосомно-доминантный тип наследования; X-сцепленные формы отмечаются у 5–10% пациентов, аутосомно-рецессивные — у 2–4% [1, 3, 10–13]. В российском исследовании доля пациентов с ОЗР и ИН генетической этиологии в среднем составила $34,1 \pm 1,9\%$, из них пациенты с моногенной патологией — $16,9 \pm 0,4\%$ [14].

Большая гетерогенная группа заболеваний проявляется ОЗР/ИН и охватывает более 3000 различных нозологий, индивидуально редких, но в совокупности частых. Дифференциальный диагноз данных расстройств чрезвычайно труден. Известно о мутациях в более чем 1000 различных генах, которые могут вызывать данные нарушения [15]. Наиболее распространённые ОЗР/ИН ассоциированы с мутациями в генах *PTCHD1*, *SHANK3*, *NLGN4*, *NRXN1*, *CNTNAP2*, *UBE3A*, *FMRI*, *MECP2*, *SETD5*, *ADNP*, *ARID1B*, *GRIN2B*, *SCN2A*, *CHD7*, *KAT6B*, *TCF4*, *ATRX*, *CUL4B*, *ILIRAPL1*, *PQBP1* [1, 11, 16, 17].

В литературе представлены многочисленные исследования, посвящённые изучению генетической этиологии ОЗР/ИН в различных популяциях [1, 11, 16, 17]. Распространённость каждого заболевания невелика, большая часть молекулярных основ патологии остаётся неизвестной, поэтому их диагностика является сложной задачей. Эти хронические расстройства с ранним началом вносят значительный вклад в заболеваемость, смертность и расходы системы здравоохранения, и их этиологическая диагностика необходима для медико-генетического консультирования, пренатального тестирования, медицинского наблюдения, лечения и профилактики осложнений данных нарушений.

Цель исследования — оценить эффективность поиска генетических причин у 33 пациентов с недифференцированной ОЗР/ИН с использованием клинического секвенирования экзома (КСЭ) и проанализировать сопутствующие клинические проявления у данных пациентов.

Материалы и методы

В исследование были включены 33 ребёнка (19 мальчиков и 14 девочек) с недифференцированной и несиндромальной ОЗР/ИН в возрасте $4,5 \pm 2,4$ года, наблюдавшихся в отделе коррекционной психологии и педагогики КГАНОУ «Хабаровский центр развития психологии и детства «Психология». Критерии включения пациентов в данное исследование: отсутствие специфического фенотипа для постановки синдромального диагноза, нормальный кариотип, отсутствие вариаций числа копий генов при исследовании хромосомного микроматричного анализа, референтные значения органических аминокислот в крови и моче при исследовании методом тандемной масс-спектрометрии, отсутствие патологических экспансий в гене FMR1. Проводился анализ клиничко-генеалогического анамнеза, неврологического статуса и результатов молекулярно-генетических анализов. Диагноз ОЗР и ИН ставился на основании нейропсихологической диагностики — теста Д. Векслера для исследования интеллекта детей дошкольного возраста (4,0–6,5 года) в адаптации М.Н. Ильиной, «Диагностический комплект Семаго» — и заключения врача-психиатра; степень тяжести ИН варьировала от лёгкой до глубокой. Признаки РАС оценивали с помощью опросника «Checklist for Autism Spectrum Disorders», интервью для диагностики аутизма «Autism Diagnostic Interview» (переработанного), плана диагностического обследования при аутизме «Autism Diagnostic Observation Schedule» (2-я редакция).

Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО ДВГМУ Минздрава России (протокол № 2 от 22.03.2022). От родителей всех пациентов было получено письменное информированное согласие.

Геномную ДНК выделяли из периферической крови методом лизиса клеток с последующей очисткой на стекловолоконных фильтрах, приготовлением геномных библиотек для MPS. Из полученных библиотек методом гибридизации были отобраны только те участки ДНК, которые соответствуют экзонам и сайтам сплайсинга с известным клиническим значением (4500 генов). Нуклеотидную последовательность определяли на секвенаторе «HiSeq 1500» («Illumina»), медианное покрытие $72\times$. Выявленные варианты классифицированы на основании стандартов и рекомендаций ACMG по интерпретации полиморфизмов [18]. Для оценки популяционных частот выявленных вариантов использованы выборки здоровых добровольцев проекта «Genome Aggregation Database». Для оценки клинической релевантности выявленных вариантов использованы базы данных OMIM, ClinVar, специализированные базы данных по отдельным заболеваниям (при наличии). Для подтверждения вариантов, выявленных в результате КСЭ, и оценки сегрегации в семье использован метод секвенирования по Сэнгеру.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью пакета программы «SPSS». Качественные данные были представлены в виде частот и процентов. При нормальном распределении признака рассчитывали сред-

нее арифметическое (M) и стандартное отклонение (SD). Для сравнения двух независимых групп использовали *t*-критерий Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты

В общей выборке пациентов с ОЗР/ИН ($n = 33$) задержка речевого и психического развития отмечалась у 100%, РАС — у 45,5%, инсомнические расстройства (трудности при засыпании, ночные пробуждения) — у 39,4%, эпилепсия — у 39,4%, регресс развития — у 36,4%, задержка моторного развития — у 30,3%.

При проведении КСЭ у 25 (76%) пациентов зарегистрированы различные генетические варианты, из них 17 — с «неопределённой клинической значимостью» и 8 — «вероятно патогенные». После анализа сегрегации в семье и проведения секвенирования по Сэнгеру обнаруженных вариантов у пробандов и их родителей было подтверждено 13 патогенных вариантов, из них 5 были переквалифицированы из «вариантов с неизвестной клинической значимостью» в «патогенные», т.е. эффективность КСЭ в данной выборке детей с ОЗР/ИН составила 39,4%. Обнаруженные патогенные варианты в генах и клинические характеристики 13 пациентов представлены в таблице, в 10 случаях обнаружены мутации *de novo*. По типу наследования 3 заболевания имели аутосомно-рецессивное (2 компаунд-гетерозиготы, 1 гомозигота), 4 — X-сцепленное (3 — доминантное, 1 — рецессивное, все варианты *de novo*), 6 — аутосомно-доминантное наследование (все варианты *de novo*).

По половому распределению в группе с обнаруженным генетическим заболеванием было доминирование женского пола (10 пациентов в сравнении с 4 пациентами группы, где мутаций не обнаружено).

Патогенные варианты чаще выявлялись у пациентов с задержкой моторного развития (53,8% против 15,0%; $p < 0,05$). У пациентов с генетическими заболеваниями наиболее часто диагностировались инсомнические расстройства по типу трудности при засыпании, ночные пробуждения, отказ от дневного сна (46,2%), РАС (38,5%), регресс развития (38,5%) и эпилепсия (38,5%).

Краткое описание пациентов с подтверждённым молекулярным диагнозом и эпилепсией приведено ниже.

1. У пациентки № 1 и № 23 с синдромом Ретта (OMIM #312750) отмечался регресс развития в двухлетнем возрасте, видеоэлектроэнцефалографический (ВЭЭГ) мониторинг бодрствования и физиологического ночного сна впервые был проведён в возрасте 3 лет. При анализе ВЭЭГ-мониторинга пациентки № 1 регистрировались: основной ритм по возрасту, в бодрствовании наблюдалась эпилептиформная активность (ЭА), состоящая из одиночных и сгруппированных доброкачественных эпилептиформных разрядов детства (ДЭРД) в правой теменной и левой центральной областях; в состоянии сна ЭА приобретала ритмичный, продолженный характер, билатерально, в правой теменной, в левой височной и в левом центральной областях, индекс представленности ЭА до 75%. У пациентки № 23 по ВЭЭГ-мониторингу регистрировались: основной ритм по возрасту, сон модулирован, физиологические паттерны атипичны, редуцированы. В состоянии сна реги-

Патогенные варианты и соответствующий диагноз, клинические проявления
Pathogenic variants and corresponding diagnosis, clinical manifestations

№	Пол	Ген	Тип мутации	Мутация	Классификация ACMG [18]	Диагноз	Задержка моторного развития	Задержка речевого развития	Задержка психического развития	Инсомнические расстройства	Расстройство аутистического спектра	Регресс навыков развития	Эпилепсия
No.	Gender	Gene	Type of mutation	Mutation	Classification ACMG [18]	Diagnosis	Motor developmental delay	Speech developmental delay	Mental developmental delay	Insomnia disorders	Autism spectrum disorder	Skill development regression	Epilepsy
1	Ж F	<i>MECP2</i>	Гетерозиготный	c.3G > C (p.Met1?)	Вероятно патогенный	Синдром Ретта Rett syndrome (OMIM #312750)	+	+	+	+	+	+	+
2	Ж F	<i>WDR45</i>	Гетерозиготный	c.341+2T > A	Патогенный	Нейродегенерация с накоплением железа в мозге 5-го типа Neurodegeneration with brain iron accumulation 5 (OMIM #300894)	+	+	+	+	-	-	-
3	М M	<i>SYNJ1</i>	Гетерозиготный	c.3509-1TT > G	С неизвестным клиническим значением	Ранняя младенческая эпилептическая энцефалопатия 53-го типа Developmental and epileptic encephalopathy 53 (OMIM #617389)	+	+	+	-	-	-	+
6	М M	<i>MECP2</i>	Гетерозиготный	c.455C > T (p.Ala152Val) [19, 20]	Патогенный	Х-сцепленная умственная отсталость, тип Луба Intellectual developmental disorder, X-linked, syndromic, Lubs type (OMIM #300260)	-	+	+	+	+	-	+

№ No.	Пол Gender	Ген Gene	Тип мутации Type of mutation	Мутация Mutation	Классификация ACMG (18) Classification ACMG (18)	Диагноз Diagnosis	Задержка моторного развития Motor developmental delay	Задержка речевого развития Speech developmental delay	Задержка психического развития Mental developmental delay	Инсомнические расстройства Insomnia disorders	Расстройство аутистического спектра Autism spectrum disorder	Регресс развития навыков Skill development regression	Эпилепсия Epilepsy
10	Ж F	ADAR	Компаунд-гетерозиготный compound heterozygous	c.577C > G (p.Pro19.3Ala) [21]	Вероятно патогенный Probably pathogenic	Синдром Айкарди-Гутьерес 6 типа Aicardi-Goutieres syndrome 6 (OMIM #615010)	+	+	+	-	-	-	-
12	М M	PMM2	Компаунд-гетерозиготный compound heterozygous	c.357C > A (p.F119L) [22] c.422G > A (p.R141H) [23]	Патогенный Pathogenic	Нарушение гликозилирования 1A типа Congenital disorder of glycosylation, type Ia (OMIM #212065)	+	+	+	-	-	-	-
14	Ж F	SHANK3	Гетерозиготный Heterozygous	c.2486delC (p.Pro829fs)	Патогенный Pathogenic	Синдром Фелан-МакДермид Phelan-McDermid syndrome (OMIM #606232)	-	+	+	+	+	-	+
16	Ж F	KMT5B	Гетерозиготный Heterozygous	c.458C > G (p.Ala153Gly)	С неизвестным клиническим значением With unknown clinical significance	Аутосомно-доминантная умственная отсталость 51-го типа Autosomal dominant intellectual developmental disorder-51 (OMIM #617788)	-	+	+	+	+	+	-

№ No.	Пол Gender	Ген Gene	Тип мутации Type of mutation	Мутация Mutation	Классификация ACMG [18] Classification ACMG [18]	Диагноз Diagnosis	Задержка моторного развития Motor developmental delay	Задержка речевого развития Speech developmental delay	Задержка психического развития Mental developmental delay	Инсомнические расстройства Insomnia disorders	Расстройство аутистического спектра Autism spectrum disorder	Регресс развития навыков Skill development regression	Эпилепсия Epilepsy
20	Ж F	UBE3A	Гетерозиготный Heterozygous	c.2419A > G (Thr807Ala) [24, 25]	Вероятно патогенный Probably pathogenic	Синдром Ангельмана Angelman syndrome (OMIM #105830)	-	+	+	+	-	+	-
21	Ж F	PTEN11	Гетерозиготный Heterozygous	c.417G > C (p.Glu139Asp)	Патогенный Pathogenic	Синдром Нунан 1 типа Noonan syndrome 1 (OMIM #163950)	-	+	+	-	-	+	-
25	Ж F	CTMNB1	Гетерозиготный Heterozygous	c.1919dupT (p.Thr641fs)	Патогенный Pathogenic	Нарушение нейropsychического развития со спастической диплегией и зрительными нарушениями Neurodevelopmental disorder with spastic diplegia and visual defects (OMIM #615075)	+	+	+	-	-	-	-
33	Ж F	MTOR	Гетерозиготный Heterozygous	c.1796delT (p.Leu599fs)	Патогенный Pathogenic	Синдром Смит–Кингсмора Smith–Kingsmore syndrome (OMIM #616638)	-	+	+	-	+	+	-
23	Ж F	MESP2	Гетерозиготный Heterozygous	c.433C > T (p.Arg145Cys) [26]	Патогенный Pathogenic	Синдром Ретта Rett syndrome (OMIM #312750)	-	+	+	+	+	-	+

стрируются региональная ЭА в виде полипиков; сгруппированные комплексы пик–волна; острая медленная волна, по морфологии напоминающая ДЭРД, приобретающая продолженный характер с индексом представленности ЭА до 80%. Эпилептические приступы у данных пациенток не зафиксированы.

2. В анамнезе пациента № 6 с X-сцепленной умственной отсталостью, тип Лимба (ОМIM #300260) отмечалась задержка развития после 2-летнего возраста. ВЭЭГ-мониторинг провели впервые в возрасте 4 года: основной ритм замедлен, паттерны сна не сформированы, регистрируется продолженная ЭА в виде ДЭРД на протяжении всего сна по левой гемисфере с вторичной билатеральной синхронизацией с фокусом в левых лобных отведениях, индекс представленности ЭА достигал 80%. Эпилептические приступы у пациента не зафиксированы.

3. Пациент № 3 с ранней младенческой эпилептической энцефалопатией 53-го типа (ОМIM #617389), дебют заболевания на 15-й день жизни с началом развития генерализованных тонико-клонических приступов с запрокидыванием головы, заведением глаз вверх продолжительностью до 50 с, 2–3 приступа в день ежедневно. В 1 мес проведён ВЭЭГ длительностью 1 ч в состояниях бодрствования и физиологического дневного сна. Установлено замедление основного ритма, во сне регистрируется региональная продолженная ЭА в виде комплексов острой медленной волны в левом центральном отделе. В 4 мес на фоне фармакорезистентных приступов проведён повторный ВЭЭГ-мониторинг длительностью 2 ч в состоянии бодрствования и физиологического дневного сна. Зафиксировано замедление основного ритма, при бодрствовании регистрируется ЭА по типу острой медленной волны в теменно-центрально-височных отделах левого полушария и лобно-теменном отделе правого полушария, во сне преобладает паттерн гипсаритмии, паттерн «вспышка–подавление»; стадии сна и фазы сна не дифференцируются, физиологические феномены сна не просматриваются; в состоянии бодрствования и при пробуждении зарегистрированы тонические экстензорные спазмы, окулогонические приступы, сопровождающиеся иктальным паттерном в виде генерализованной быстрой активности.

4. Пациент № 14 с синдромом Фелан–МакДермид (ОМIM #606232) и задержкой развития после 2-летнего возраста, с 1 года 9 мес до 5 лет наблюдались фебрильные приступы по типу абсансов. По ВЭЭГ-мониторингу ЭА не зафиксировано.

Обсуждение

Результаты проведённого нами исследования выявили генетическую этиологию у 39,4% пациентов с ОЗР/ИН (мутации в генах *MECP2*, *WDR45*, *SYNJ1*, *ADAR*, *PMM2*, *SHANK3*, *KMT5B*, *UBE3A*, *PTPN11*, *CTNNA1*, *MTOR*). Данный результат эффективности проведения КСЭ при ОЗР/ИН превышает диагностическую эффективность панельного и полноэкзомного секвенирования в сравнении с метаанализом эффективности применения MPS у пациентов с эпилепсией, РАС и ОЗР/ИН, куда были включены 103 исследования с общей выборкой 32 331 пациента: диагностический результат составил 17,1% у пациентов с РАС, 24,0% — при эпилепсии, 28,2% — при ОЗР/ИН [27]. В другом исследовании 150 пациентов с ОЗР/ИН и РАС общий

диагностический результат панельного секвенирования составил 27,0%; была выявлена генетическая причина заболевания у 17% пациентов, связанная с мутациями в генах *ASH1L*, *MED13L*, *TRIO*, *SYNGAP1*, *SHANK3*, *SETBP1*, *SATB2*, *RAB39B*, *OPHN1*, *MECP2*, *GRIN2B*, *GRIA3*, *EHMT1*, *DYRK1A*, *CASK*, *ATRX*, *ARID1B*, *ANKRD11*. Наиболее часто обнаруживались мутации в генах *ANKRD11*, *CASK*, *EHMT1*, *GRIN2B*, *MECP2*, *SHANK3*, *TRIO* [28].

Результаты нашей работы сопоставимы по эффективности с проведением полноэкзомного секвенирования у детей с ОЗР/ИН в недавнем систематическом метаанализе 30 генетических исследований пациентов с различными нарушениями развития (16% случаев при РАС и 39% — при ОЗР/ИН) [29]. В 2019 г. были опубликованы результаты российского исследования, в котором эффективность полноэкзомного секвенирования у 69 пациентов с ИН составила 20%, а КСЭ у 31 пациента с ИН — 29% (обнаружены мутации в генах *KMT2D*, *VPS13B*, *PTEN*, *SMARCA2*, *SON*, *RAI1*, *ADNP*, *PIGN*, *SGSH*, *STXBPI1*, *KCNQ2*, *DYRK1A*, *GRIN1*, *PPP2R5D*, *PPP2RIA*, *TRIP12*, *GRIA1*, *NEXMIF*, *DDX3X*, *AFF3* [30]). В 2022 г. представлены данные анализа 198 пациентов с ИН из 171 семьи в российской популяции, где эффективность полноэкзомного секвенирования составила 26,9% (ИН были чаще ассоциированы с мутациями в генах *SMARCA2*, *SMARCA4*, *ADNP*, *ACTL6B*) [31].

В нашей работе самый распространённый патогенный вариант у детей с ОЗР/ИН был связан с геном *MECP2* (3 (23,1%) пациента из 13), что согласуется с международными данными [1, 11, 16, 17]. У 60,6% пациентов не обнаружены клинически значимые варианты, что свидетельствует о необходимости продолжения диагностического поиска с использованием секвенирования полного генома, т.к. КСЭ имеет ограничения (анализируются только кодирующие участки генов с известным клиническим значением, не анализируются некодирующие, регуляторные области генов и митохондриальный геном).

При анализе сопутствующих клинических проявлений выявлены достоверный факт задержки моторного развития у детей с генетической патологией и преобладание пациентов женского пола. Данные факторы можно рассматривать как относительное показание к проведению КСЭ у девочек с ОЗР/ИН, сочетающихся с задержкой моторного развития, что будет увеличивать результативность молекулярно-генетических анализов.

Заключение

Результаты исследования позволяют предположить, что пациенты, наблюдающиеся в настоящее время с диагнозом ОЗР/ИН, должны быть дообследованы с проведением молекулярно-генетических методов. Неврологи и психиатры при осмотре детей с ОЗР/ИН должны быть насторожены в отношении наследственных заболеваний и при отрицательных результатах рутинных методов обследования, которые не дают точной этиологии, привлекать молекулярно-генетическую диагностику для предупреждения неэффективных терапевтических подходов. Стоит отметить, что для пациентов, получивших положительный молекулярный результат, этот шаг не только завершил «диагностическую одиссею», но и предоставил ценную и точную информацию для оказания медицинской помощи пациентам и их семьям.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / References

1. Vissers L.E., Gilissen C., Veltman J.A. Genetic studies in intellectual disability and related disorders. *Nat. Rev. Genet.* 2016;17(1):9–18. doi: 10.1038/nrg3999
2. Helbig K.L., Farwell Hagman K.D., Shinde D.N. et al. Diagnostic exome sequencing provides a molecular diagnosis for a significant proportion of patients with epilepsy. *Genet. Med.* 2016;18:898–905. doi: 10.1038/gim.2015.186
3. Deciphering Developmental Disorders Study. Large-scale discovery of novel genetic causes of developmental disorders. *Nature.* 2015;519:223–228. doi: 10.1038/nature14135
4. Iossifov I., O’Roak B.J., Sanders S.J. et al. The contribution of de novo coding mutations to autism spectrum disorder. *Nature.* 2014;515:216–221. doi: 10.1038/nature13908
5. Kvarnung M., Nordgren A. Intellectual disability & rare disorders: a diagnostic challenge. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017;1031:39–54. doi: 10.1007/978-3-319-67144-4_3
6. Hatton C., Emerson E., Glover G. et al. People with learning disabilities in England 2013. London; 2014.
7. Leonard H., Glasson E., Nassar N. et al. Autism and intellectual disability are differentially related to sociodemographic background at birth. *PLoS One.* 2011;6(3):e17875. doi: 10.1371/journal.pone.0017875
8. Rainger J.K., Bhatia S., Bengani H. et al. Disruption of SATB2 or its long-range cis-regulation by SOX9 causes a syndromic form of Pierre Robin sequence. *Hum. Mol. Genet.* 2014;23(10):2569–2579. doi: 10.1093/hmg/ddt647
9. Talkowski M.E., Maussion G., Crapper L. et al. Disruption of a large intergenic noncoding RNA in subjects with neurodevelopmental disabilities. *Am. J. Hum. Genet.* 2012;91(6):1128–1134. doi: 10.1016/j.ajhg.2012.10.016
10. Deciphering Developmental Disorders study. Prevalence and architecture of de novo mutations in developmental disorders. *Nature.* 2017;542:433–438. doi: 10.1038/nature21062
11. Gilissen C., Hehir-Kwa J.Y., Thung D.T. et al. Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability. *Nature.* 2014;511(7509):344–347. doi: 10.1038/nature13394
12. de Ligt J., Willemsen M.H., van Bon B.W. et al. Diagnostic exome sequencing in persons with severe intellectual disability. *N. Engl. J. Med.* 2012;367(20):1921–1929. doi: 10.1056/NEJMoal206524
13. Rauch A., Wiczorek D., Graf E. et al. Range of genetic mutations associated with severe non-syndromic sporadic intellectual disability: an exome sequencing study. *Lancet.* 2012;380(9854):1674–1682. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61480-9
14. Анисимова И.В. Анализ структуры поддержки психического развития и умственной отсталости среди пациентов Медико-генетического научного центра. *Медицинская генетика.* 2021;20(5):15–25.
15. Anisimova I.V. Analysis of the structure of developmental delay and intellectual disability among patients of the Research Centre for Medical Genetics. *Medical Genetics.* 2021;20(5):15–25. (In Russ.). doi: 10.25557/2073-7998.2021.05.15-25
16. Chiurazzi P., Pirozzi F. Advances in understanding — genetic basis of intellectual disability. *F1000Res.* 2016;5:F1000 Faculty Rev-599. doi: 10.12688/f1000research.7134.1
17. Harripaul R., Noor A., Ayub M., Vincent J.B. The use of next-generation sequencing for research and diagnostics for intellectual disability. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2017;7(3):a026864. doi: 10.1101/cshperspect.a026864
18. Grozeva D., Carss K., Spasic-Boskovic O. et al. Targeted next-generation sequencing analysis of 1,000 individuals with intellectual disability. *Hum. Mutat.* 2015;36(12):1197–1204. doi: 10.1002/humu.22901
19. Richards S., Aziz N., Bale S. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet. Med.* 2015;17:405–424. doi: 10.1038/gim.2015.30
20. Orrico A., Lam C., Galli L. et al. MECP2 mutation in male patients with non-specific X-linked mental retardation. *FEBS Lett.* 2000;481(3):285–288. doi: 10.1016/S0014-5793(00)01994-3
21. Klauck S.M., Lindsay S., Beyer K.S. et al. A mutation hot spot for nonspecific X-linked mental retardation in the MECP2 gene causes the PPM-X syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 2002;70(4):1034–1037. doi: 10.1086/339553
22. Rice G., Kasher P., Forte G. et al. Mutations in ADAR1 cause Aicardi-Gouti res syndrome associated with a type I interferon signature. *Nat. Genet.* 2012;44:1243–1248. doi: 10.1038/ng.2414
23. Kjaergaard S., Schwartz M., Skovby F. Congenital disorder of glycosylation type Ia (CDG-Ia): phenotypic spectrum of the R141H/F119L genotype. *Arch. Dis. Child.* 2001;85(3):236–239. doi: 10.1136/adc.85.3.236
24. van Ommen C.H., Peters M., Barth P.G. et al. Carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type Ia: a variant phenotype with borderline cognitive dysfunction, cerebellar hypoplasia, and coagulation disturbances. *J. Pediatr.* 2000;136(3):400–403. doi: 10.1067/mpd.2000.103503
25. Sadikovic B., Fernandes P., Zhang V.W. et al. Mutation Update for UBE3A variants in Angelman syndrome. *Hum. Mutat.* 2014;35(12):1407–1417. doi: 10.1002/humu.22687
26. Wink L.K., Fitzpatrick S., Shaffer R. et al. The neurobehavioral and molecular phenotype of Angelman syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* 2015;167A(11):2623–2628. doi: 10.1002/ajmg.a.37254
27. Huppke P., Laccione F., Krmer N. et al. Rett syndrome: analysis of MECP2 and clinical characterization of 31 patients. *Hum. Mol. Genet.* 2000;9(9):1369–1375. doi: 10.1093/hmg/9.9.1369
28. Stefanski A., Calle-Lopez Y., Leu C. et al. Clinical sequencing yield in epilepsy, autism spectrum disorder, and intellectual disability: a systematic review and meta-analysis. *Epilepsia.* 2021;62:143–151. doi: 10.1111/epi.16755
29. Aspromonte M.C., Bellini M., Gasparini A. et al. Characterization of intellectual disability and autism comorbidity through gene panel sequencing. *Hum. Mutat.* 2020;41(6):1183. doi: 10.1002/humu.24012
30. Srivastava S., Love-Nichols J.A., Dies K.A. et al. Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders. *Genet. Med.* 2019;21(11):2413–2421. doi: 10.1038/s41436-019-0554-6
31. Levchenko O., Dadali E.L., Bessonova L. et al. Exome sequencing of 100 patients with intellectual disability. *Eur. J. Hum. Genet.* 2019;27(S2):1390–1391.
32. Levchenko O., Dadali E., Bessonova L. et al. Complex diagnostics of non-specific intellectual developmental disorder. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(14):7764. doi: 10.3390/ijms23147764

Информация об авторах

И Дмитрий Витальевич — к.м.н., зам. генерального директора по научно-исследовательской и медицинской деятельности, врач-невролог КГАНУ «Хабаровский центр развития психологии и детства «Психология», Хабаровск, Россия; доцент кафедры неврологии и нейрохирургии ФГБОУ ВО ДВГМУ, Хабаровск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9967-0279>

Июкша Виктория Александровна — студент педиатрического факультета ФГБОУ ВО ДВГМУ, Хабаровск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7548-3831>

Проскокова Татьяна Николаевна — д.м.н., доцент, профессор кафедры неврологии и нейрохирургии ФГБОУ ВО ДВГМУ, Хабаровск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5209-2440>

Вклад авторов. И.Д.В. — руководство научно-исследовательской работой, ответственность за все аспекты работы, создание концепции исследования, интерпретация полученных результатов, написание текста статьи, утверждение конечного варианта рукописи. И.Ю.В. — проведение исследования, разработка методологии. П.Т.Н. — ответственность за все аспекты работы, обеспечение корректности и целостности всех её частей, утверждение конечного варианта рукописи.

Information about the authors

Dmitriy V. I. — Cand. Sci. (Med.), Deputy Director General for research and medical activities, Khabarovsk Center for the Development of Psychology and Childhood «Psychologia», Khabarovsk, Russia; Associate Professor, Department of neurology and neurosurgery, Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9967-0279>

Viktoriya A. Ioksha — student, Pediatric faculty, Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7548-3831>

Tatyana N. Proskokova — D. Sci. (Med.), Prof., Department of neurology and neurosurgery, Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5209-2440>

Author contribution. I.D.V. — research management, responsibility for all aspects of the work, research concept, ensuring the correctness and integrity of all its parts, writing the text of the article, approval of the final version of the manuscript; Ioksha V.A. — research implementation, research methodology; Proskokova T.N. — responsibility for all aspects of the work, ensuring the correctness and integrity of all its parts, approval of the final version of the manuscript.



Роль медиаторов воспаления, факторов роста и остеодистрофических процессов в развитии рецидивов грыж диска поясничного отдела позвоночника

В.А. Чехонацкий¹, О.Н. Древаль¹, А.В. Кузнецов¹, А.А. Чехонацкий², Н.Б. Захарова², Е.А. Гришина¹, А.В. Горожанин³, В.В. Волна³

¹ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского», Саратов, Россия;

³ГБУЗ «Городская клиническая больница имени С.П. Боткина», Москва, Россия

Аннотация

Введение. Повторное хирургическое вмешательство у больных с грыжами межпозвонковых дисков (ГМПД) достоверно снижает вероятность достижения хорошего результата в послеоперационном периоде. Данная проблема диктует необходимость персонализированной оценки факторов риска, вероятности развития рецидива ГМПД и выбора актуальной для пациента тактики хирургического лечения.

Цель исследования — оценить изменения уровня медиаторов иммунорегуляторных процессов в сыворотке крови и экстракте ткани межпозвонковых дисков у условно здоровых лиц и больных с рецидивами ГМПД поясничного отдела позвоночника.

Материалы и методы. Обследовано 60 больных. Группу сравнения составили 19 пациентов с травматическими повреждениями позвоночного столба на уровне поясничного отдела позвоночника. Основная группа — 41 пациент с ГМПД: 22 — с первичной грыжей диска; 11 — с однократным рецидивом ГМПД поясничного отдела позвоночника на оперированном ранее уровне с возобновившейся выраженной клинической и неврологической симптоматикой; 8 — с повторными рецидивами ГМПД. В сыворотке крови и в экстракте ткани межпозвонкового диска методом твёрдофазного иммуноферментного анализа определяли содержание провоспалительных цитокинов (интерлейкин-6, фактор некроза опухоли-α), хемокинов (интерлейкин-8, моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1), факторов роста (васкулоэндотелиальный фактор роста, трансформирующий фактор роста-β1), биомаркеров остеодеструктивных процессов (остеопрогестерин, матриксная металлопротеиназа-8).

Результаты. Установлено, что деструктивные изменения в межпозвонковых дисках и развитие хронического воспалительного процесса сопровождаются нарастанием содержания провоспалительных цитокинов/хемокинов, факторов роста, матриксной металлопротеиназы-8 как в очаге формирования грыжи, так и на уровне всего организма.

Заключение. Полученные результаты подтверждают значимость локальных изменений исследованных показателей при ГМПД, детальная оценка которых поможет сформировать персонализированную тактику хирургического лечения.

Ключевые слова: рецидив грыжи межпозвонкового диска; провоспалительные цитокины; факторы роста; остеопрогестерин

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Работа одобрена локальным этическим комитетом ФГБОУ ДПО РМАНПО (протокол № 12 от 12.11.2019).

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешних источников финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Адрес для корреспонденции: 410012, Саратов, ул. Б. Казачья, д. 112, ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского». E-mail: fax-1@yandex.ru. Чехонацкий А.А.

Для цитирования: Чехонацкий В.А., Древаль О.Н., Кузнецов А.В., Чехонацкий А.А., Захарова Н.Б., Гришина Е.А., Горожанин А.В., Волна В.В. Роль медиаторов воспаления, факторов роста и остеодистрофических процессов в развитии рецидивов грыж диска поясничного отдела позвоночника. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2023;17(2):36–42.

DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.5>

Поступила 12.09.2022 / Принята в печать 15.12.2022 / Опубликовано 25.06.2023

Role of Inflammatory Mediators, Growth Factors, and Osteodystrophy in Recurrent Lumbar Disk Herniation

Vladimir A. Chekhonatskiy¹, Oleg N. Dreval¹, Aleksei V. Kuznetsov¹, Andrey A. Chekhonatskiy², Natalya B. Zakharova²,
Elena A. Grishina¹, Aleksandr V. Gorozhanin³, Vera V. Volna³

¹Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia;

²Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia;

³S.P. Botkin City Clinical Hospital, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Reintervention in patients with spinal disk herniation is shown to significantly decrease likelihood of favorable outcomes in the postoperative period. Thus, it is important to individually assess risk factors for and likelihood of spinal disk herniation recurrence for each patient, and choose a suitable surgical option. **Objective:** to evaluate changes in the levels of immunoregulatory mediators in the blood serum and extracted spinal disc tissue of allegedly healthy individuals and patients with lumbar disk herniation relapses.

Materials and methods. We examined 60 patients. The control group included 19 patients with traumatic spinal cord injuries at the lumbar level. The main group included 41 patients with spinal disk herniation. Twenty-two individuals had primary herniation while 11 patients presented with single clinical and neurological relapses at the pre-operated lumbar level and 8 patients presented with recurrent relapses. Solid-phase enzyme immunoassay detected proinflammatory cytokines (interleukin-6, tumor necrosis factor- α), chemokines (interleukin-8, monocyte chemoattractant protein-1), growth factors (vascular endothelial growth factor, transforming growth factor- β 1), and osteodestruction markers (osteoprogesterin, matrix metalloproteinase-8) in the blood serum and the extracted spinal disc tissue.

Results. We found that spinal disk destruction and chronic inflammation developed with both locally and generally elevating levels of proinflammatory cytokines/chemokines, growth factors, and matrix metalloproteinase 8.

Conclusion. The results emphasize the significance of local changes in the studied parameters to choose and plan personalized surgical treatment in patients with spinal disk herniation.

Keywords: recurrent spinal disk herniation; proinflammatory cytokines; growth factors; osteoprogesterin

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Russian Medical Academy of Continuous Professional Education (protocol No. 12, November 12, 2019).

Source of funding. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For correspondence: 410012, Saratov, Bol'shaya Kazach'ya Str., 112. Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky. E-mail: fax-1@yandex.ru. Chekhonatskiy A.A.

For citation: Chekhonatskiy V.A., Dreval O.D., Kuznetsov A.V., Chekhonatskiy A.A., Zakharova N.B., Grishina E.A., Gorozhanin A.V., Volna V.V. Role of inflammatory mediators, growth factors, and osteodystrophy in recurrent lumbar disk herniation. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2023;17(2):36–42. (In Russ.)
DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.5>

Received 12.09.2022 / Accepted 15.12.2022 / Published 25.06.2023

Введение

Хирургическое удаление грыжи межпозвонкового диска (ГМПД) поясничного отдела позвоночника является одним из наиболее часто проводимых вмешательств в нейрохирургической практике. Не менее актуальна реоперация пациентов после перенесённого хирургического вмешательства из-за возникшего рецидива ГМПД с возобновлением болевого радикулопатического синдрома. Согласно данным литературы встречаемость такой проблемы составляет 2–15% случаев [1, 2]. Каждое повторное хирургическое вмешательство на позвоночнике у больных с ГМПД достоверно снижает вероятность достижения хорошего результата в послеоперационном периоде. Данная проблема диктует необходимость персонифицированной оценки факторов риска и прогнозирования вероятности развития рецидива ГМПД перед оперативным вмешательством для выбора актуальной тактики хирургического лечения.

Межпозвонковый диск (МПД) в силу своего расположения эволюционно исключён из процессов иммунологической толерантности, однако при его дегенерации и экструзии, сопровождающейся нарушением целостности фиброзного кольца, пульпозное ядро начинает взаимодействовать с иммунной системой как инородное тело. В результате развивается каскад иммуновоспалительных процессов, приводящих к активации В-лимфоцитов и цитотоксических Т-лимфоцитов и лизису ГМПД [2], формированию в сегменте элемента хронического воспаления, не дающего в кратчайший срок сформироваться фиброзу МПД на прооперированном уровне. В результате повторного пролабирования остатков пульпозного ядра и фиброзного кольца развиваются рецидивы ГМПД.

Несмотря на противоречивые данные результатов клинических и экспериментальных исследований патогенетических механизмов развития дегенерации МПД установлено,

что ведущее значение принадлежит хроническому иммуно-воспалительному процессу, ускоряющему и усугубляющему дегенерацию и катаболическое разрушение структур МПД [3]. Эти процессы сопровождаются изменением содержания медиаторов иммунорегуляторных процессов [4–7]:

- провоспалительных цитокинов — интерлейкина-6 (ИЛ-6), фактора некроза опухоли- α (ФНО- α);
- хемокинов — ИЛ-8, моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1);
- факторов роста — васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF), трансформирующего фактора роста- β 1 (ТФР- β 1);
- биомаркеров остеодеструктивных процессов — остеопротегерина (ОПГ), матриксной металлопротеиназы-8 (ММР-8) и др.

Цель исследования — оценить характер изменения уровня медиаторов воспаления, факторов роста и остеодистрофических процессов в развитии рецидивов ГМПД.

Материалы и методы

Научная работа проводилась на клинических базах кафедр нейрохирургии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» (РМАНПО) и ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского». Образцы крови и экстракты ткани МПД анализировали на кафедре лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» и в лаборатории РМАНПО.

Проведены обследование и оперативное лечение 68 пациентов: 41 (60,3%) мужчины и 27 (39,7%) женщин. Средний возраст пациентов составил $58 \pm 1,5$ (18–74) года, средний отслеживаемый катамнез — $3,5 \pm 1,5$ года. Все пациенты дали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Работа одобрена локальным этическим комитетом РМАНПО (протокол № 12 от 12.11.2019).

Критерии включения:

- радикулопатический болевой синдром, вызванный компрессией нервных корешков на уровне поясничного отдела позвоночника ГМПД поясничного отдела;
- радикулопатический болевой синдром, вызванный компрессией нервных корешков на уровне поясничного отдела позвоночника, рецидивом ГМПД поясничного отдела.

Критерии исключения:

- возраст < 18 лет и старше 74 лет;
- выраженная соматическая патология в стадии клинической декомпенсации;
- психотическое состояние и/или тяжёлое психотическое заболевание в анамнезе;
- наличие гнойно-септического процесса в зоне планируемого хирургического вмешательства;
- сочетание грыж или рецидивов ГМПД с дегенеративным стенозом позвоночного канала, спондилолистезом;
- травматические поражения позвоночника; наличие нестабильности поясничного отдела позвоночника на функциональных рентгенограммах.

Основную группу составили пациенты ($n = 41$), которым было выполнено хирургическое вмешательство в объёме микрохирургического удаления ГМПД: 21 пациент с ре-

цидивами ГМПД на уровне поясничного отдела позвоночника, 20 пациентов с ГМПД на уровне поясничного отдела позвоночника, у которых не было рецидива грыжи МПД за время отслеживаемого катамнеза.

Для достоверной прогностической значимости этих факторов как риска развития рецидива ГМПД была сформирована контрольная группа — 19 пациентов, которые не испытывали корешковых болей, не наблюдались у невролога, получили оперативное лечение по поводу травматического перелома поясничного отдела позвоночника. До операции у пациентов этой группы забирали кровь для исследования, во время оперативного вмешательства брали биопсию ткани МПД, удаляемого во время хирургического вмешательства.

Биохимические показатели также исследовали у 8 пациентов, перенёсших до поступления два вмешательства на позвоночнике — по поводу первичной ГМПД на уровне поясничного отдела позвоночника, а затем по поводу рецидива ГМПД на ранее прооперированном уровне, без установки фиксирующих конструкций.

Для оценки медиаторов иммунорегуляторных процессов интраоперационно брали образцы ткани компримирующего невральные структуры субстрата средним объёмом 10 мм^3 , которые помещали в $0,155 \text{ M}$ раствор NaCl, размешивали в миксере в течение 30 мин, полученную суспензию центрифугировали, надосадочную жидкость хранили при -80°C . Образцы крови, взятые у пациентов до оперативного лечения, центрифугировали, выделяли сыворотку, разделяли на аликвоты и хранили при -80°C . Субстрат компрессии и сыворотку крови исследовали с помощью метода твердофазного иммуноферментного анализа и коммерческих наборов реагентов («Вектор Бест»), определяли концентрацию медиаторов иммунорегуляторных процессов: ИЛ-6, ИЛ-8, MCP-1, ММР-8, VEGF, ОПГ, ФНО- α . Для исследования ТФР- β 1 применяли трёхстадийный «сэндвич»-вариант иммуноферментного анализа с использованием моно- и поликлональных антител к этим цитокинам («R&D Systems»). С целью гистологической верификации диагноза выполнено гистологическое исследование полученных в ходе операции биоптатов тканей.

Для анализа полученных результатов были созданы базы данных на основе программы «Microsoft Excel 2020». Они формировались на основе историй болезни пациентов с ГМПД и их рецидивами, операционных журналов, данных лабораторных и лучевых методов исследования. Статистические показатели рассчитывали с использованием пакета прикладных программ «Statistica v. 10.0» («StatSoft»).

Результаты

В экстракте ткани МПД было увеличено содержание всех медиаторов воспалительного процесса, что подтверждает экспрессию хемокинов и факторов роста, запуск иммуно-воспалительного процесса, нарушающего гомеостаз костной ткани и МПД. О прогрессировании дегенерации МПД свидетельствуют значимый подъём уровня MCP-1, VEGF, ТФР- β 1, ММР-8 и снижение — ОПГ. Экстракт ткани МПД пациентов основной группы отличает высокий уровень MCP-1, факторов роста, снижение ОПГ и увеличение ММР-8.

Таблица 1. Уровень медиаторов иммунорегуляторных процессов в сыворотке крови обследованных лиц ($M \pm SD$)

Table 1. The levels of serum immunoregulatory mediators in the study population ($M \pm SD$)

Показатель Parameter	Основная группа Main group ($n = 41$)	Контрольная группа Control group ($n = 19$)	p
ИЛ-6 Interleukin-6	53,68 ± 68,50	7,01 ± 2,77	< 0,0001
ИЛ-8 Interleukin-8	28,34 ± 32,29	7,38 ± 3,23	0,1436
ФНО-α Tumor necrosis factor-α	13,12 ± 6,69	2,47 ± 1,16	< 0,0001
МСР-1 Monocyte chemoattractant protein-1	285,52 ± 107,72	190,55 ± 95,25	0,0071
VEGF	525,73 ± 319,58	324,92 ± 90,20	0,0952
ТФР-β1 Transforming growth factor-β1	38 332,97 ± 14 641,34	29 127,78 ± 17 574,24	0,0041
ММР-8 Matrix metalloproteinase-8	53,92 ± 30,81	12,23 ± 4,26	< 0,0001
ОПГ Osteoprogesterin	2,82 ± 0,85	3,88 ± 2,40	0,4827

Таблица 2. Уровень медиаторов иммунорегуляторных процессов в экстракте ткани МПД обследованных лиц ($M \pm SD$)

Table 2. The levels of immunoregulatory mediators in the extracted spinal disc tissue in the study population ($M \pm SD$)

Показатель Parameter	Основная группа Main group ($n = 41$)	Контрольная группа Control group ($n = 19$)	p
ИЛ-6 Interleukin-6	39,83 ± 22,21	28,56 ± 5,38	0,5996
ИЛ-8 Interleukin-8	127,86 ± 78,16	86,37 ± 9,91	0,4334
ФНО-α Tumor necrosis factor-α	10,83 ± 5,91	9,83 ± 3,17	0,8181
МСР-1 Monocyte chemoattractant protein-1	990,17 ± 472,30	118,99 ± 27,32	< 0,0001
VEGF	3 677,95 ± 1 377,93	572,56 ± 149,19	< 0,0001
ТФР-β1 Transforming growth factor-β1	14 970,90 ± 23 427,02	2 113,33 ± 628,07	0,0029
ММР-8 Matrix metalloproteinase-8	27,44 ± 25,00	1,90 ± 0,55	0,0001
ОПГ Osteoprogesterin	35,08 ± 12,88	47,65 ± 4,15	0,0265

В основной группе наиболее значимые различия обнаружены для показателя ММР-8 по отношению к контрольной группе (в среднем на 25,5; $p = 0,0001$; табл. 1). Уровень VEGF в основной группе по отношению к контрольной группе увеличен на 3105,4 ($p < 0,0001$), МСР-1 — в среднем на 871,2 ($p < 0,0001$).

В сыворотке крови локальные изменения уровня медиаторов иммунорегуляторных процессов в экстракте ткани МПД сопровождаются значимым повышением

уровня ИЛ-6, ФНО-α, МСР-1, VEGF и ММР-8. Такие же различия обнаружены для ФНО-α — в основной группе его уровень увеличен по отношению к контрольной в среднем на 10,7 ($p < 0,0001$), уровень ИЛ-6 — в среднем на 46,7 ($p < 0,0001$). Уровень ММР-8 в основной группе по отношению к контрольной повысился в среднем на 41,7 ($p < 0,0001$). Значимые для хронического иммуноспалительного процесса изменения биомаркеров в экстракте ткани МПД и в сыворотке крови выявлены только для МСР-1, ТФР-β1 и ММР-8 (табл. 2).

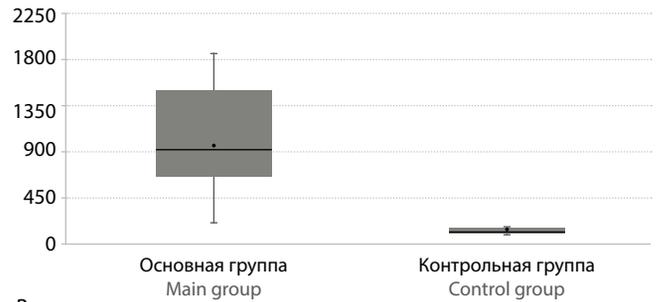
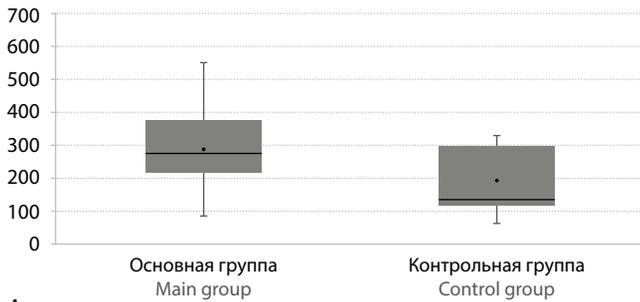


Рис. 1. Размах значения МСР-1 в сыворотке крови (А) и экстракте ткани МПД (В).
Fig. 1. The range of MCP-1 levels in the blood serum (A) and the extracted spinal disc tissue (B).

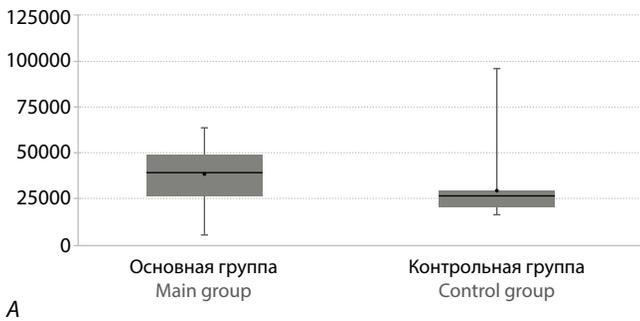


Рис. 2. Размах значения ТФР-β1 в сыворотке крови (А) и экстракте ткани МПД (В).
Fig. 2. The range of TGF-β1 levels in the blood serum (A) and the extracted spinal disc tissue (B).

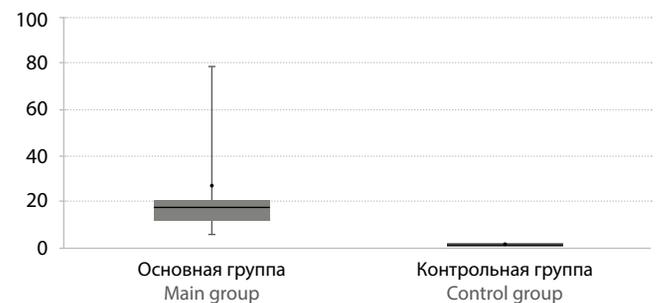
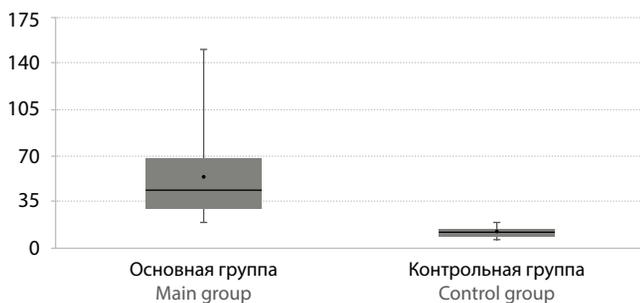


Рис. 3. Размах значения ММР-8 в сыворотке крови (А) и экстракте ткани МПД (В).
Fig. 3. The range of MMP-8 levels in the blood serum (A) and the extracted spinal disc tissue (B).

Значимые для хронического иммуновоспалительного процесса изменения биомаркеров в экстракте ткани МПД и в сыворотке крови выявлены только для МСР-1, ТФР-β1 и ММР-8 (рис. 1–3).

Оценка взаимосвязи между уровнями иммунорегуляторных медиаторов в экстракте ткани МПД и сыворотке крови с помощью метода ранговой корреляции Спирмена представлена в табл. 3. Уровень ИЛ-6 в сыворотке крови имеет сильную положительную корреляционную связь с уровнем МСР-1 в экстракте ткани диска, а также умеренную положительную корреляцию с содержанием VEGF в экстракте ткани МПД, ТФР-β1 и ММР-8. Возможно, увеличение одного показателя ведёт к увеличению другого. Обращает на себя внимание значительная положительная корреляционная связь уровня ММР-8 в сыворотке крови с концентрацией в экстракте ткани МПД МСР-1, VEGF и ММР-8, а также умеренная положительная корреляция с показателем ТФР-β1. Вероятно, увеличение одного показателя ведёт к увеличению другого.

Для содержания ФНО-α в сыворотке крови характерна сильная положительная корреляционная связь с уровнями в экстракте ткани диска МСР-1, VEGF, ММР-8 и ТФР-β1. Увеличение содержания одного показателя в экстракте ткани МПД сопровождается нарастанием его уровня в сыворотке крови. Это даёт основание считать, что из 8 определяемых показателей иммунорегуляторных процессов статистически значимые связи между их уровнями в сыворотке крови и экстракте ткани МПД имеют МСР-1 ($R_s = 0,52; p \leq 0,01$), VEGF ($R_s = 0,62; p \leq 0,01$), ТФР-β1 ($R_s = 0,52; p \leq 0,01$) и ММР-8 ($R_s = 0,84; p \leq 0,01$). Выявленные положительные значимые корреляционные связи между данными показателями дают основание считать, что основой деструктивных процессов на уровне МПД являются хронические воспалительные процессы, возникающие вследствие нарушения взаимодействия между макрофагами и клетками МПД. Эти процессы приводят к выбросу провоспалительных цитокинов/хемокинов, факторов роста (VEGF, ТФР-1β), нарастанию уровня ММР-8

Таблица 3. Коэффициенты корреляции Спирмена между медиаторами иммунорегуляторных процессов в экстракте ткани МПД и сыворотке крови
Table 3. Spearman correlation coefficients for ranking correlation between immunoregulatory mediators in the serum and the extracted spinal disk tissue

Показатель Parameter	МСР-1, экстракт ткани МПД Extracted spinal disk tissue MCP-1	VEGF, экстракт ткани МПД Extracted spinal disk tissue VEGF	ТФР-β1, экстракт ткани МПД Extracted spinal disk tissue TGF-β1	ММР-8, экстракт ткани МПД Extracted spinal disk tissue MMP-8
ИЛ-6, сыворотка крови Serum IL-6	0,81	0,63	0,61	0,66
ММР-8, сыворотка крови Serum MMP-8	0,86	0,75	0,62	0,84
ФНО-α, сыворотка крови Serum TNF-α	0,78	0,75	0,7	0,77

Примечание. Во всех случаях — статистическая значимость на уровне $p \leq 0,01$.
Note. In all cases the level of statistical significance was $p \leq 0.01$.

Таблица 4. Итоги анализа дискриминантной функции
Table 4. Discriminant function analysis

Фактор Factor	Лямбда Уилкса Wilks' lambda	F-исключение F exclusion (2,25)	P	1-толерантность (r-кв.) 1-tolerance (sq. r.)
VEGF в сыворотке крови Serum VEGF levels	0,150901	23,23609	0,000002	0,023734
ММР-8 в сыворотке крови Serum MMP-8 levels	0,124995	17,10093	0,000021	0,039612
ТФР-β1 в сыворотке крови Serum TGF-β1 levels	0,066886	3,339796	0,000518	0,059763

как в очаге формирования грыжи, так и на уровне всего организма.

На следующем этапе проведена сравнительная оценка прогностической значимости биохимических факторов в сыворотке крови и в биоптате ткани, компримирующей нервные структуры, при разных патологиях. Установлено, что у пациентов из группы с однократным рецидивом ГМПД лидирующими статистически значимыми факторами с повышением уровней рисков от 76,5% до 84,6% являются ММР-8, ФНО-α, ТФР-β1, МСР-1, VEGF, ОПГ, в то время как у пациентов из группы с повторным рецидивом ГМПД лидирующими статистически значимыми факторами с повышением уровней рисков от 66,7% до 88,9% являются ФНО-α, МСР-1, ИЛ-6 и VEGF. Поскольку дегенеративно-дистрофические процессы, которые приводят к возникновению рецидива ГМПД, проходят непосредственно в МПД, мы провели сравнительный анализ взаимосвязи биохимических показателей в сыворотке крови пациентов и биоптате компримирующего нервные структуры субстрата, полученного в ходе оперативного лечения. При анализе полученных результатов с помощью вычисления коэффициента корреляции Спирмена наибольшая корреляция в сыворотке крови и биоптате компримирующего субстрата отмечается в показателях МСР-1 ($R_s = 0,520$), VEGF ($R_s = 0,62$), ТФР-β1 ($R_s = 0,52$) и ММР-8 ($R_s = 0,84$) с повышением уровней рисков от 76,5% до 84,6% ($p \leq 0,01$).

После установки показателей наиболее высокой корреляции в сыворотке крови и биоптате компримирующего нервные структуры субстрата необходимо было удостовериться,

что полученные показатели имеют высокий уровень различий в группах с рецидивами ГМПД и безрецидивной группе, а также обладают высоким риском развития рецидива ГМПД по данным математического анализа (табл. 4).

На основании изучения данных можно сделать выводы, что для прогнозирования развития рецидива ГМПД достаточно 3 факторов: VEGF $> 4676,82 \pm 1469,93$, ММР-8 $> 15,67 \pm 4,48$ и ТФР-β1 $> 4634,27 \pm 959,85$.

Обсуждение

Как показал анализ результатов исследования, прогрессирующее увеличение уровня провоспалительных цитокинов, выявленное у пациентов с ГМПД, можно считать основным фактором, поддерживающим эскалацию дегенеративных процессов ткани диска. Изменение уровня провоспалительных цитокинов/хемокинов в экстрактах ткани ГМПД и сыворотке крови позволяет считать, что его основой является активация взаимодействия между макрофагами и клетками МПД, приводящая к продукции воспалительных цитокинов.

Цитокины инициируют следующие процессы:

- активацию синтеза факторов роста (VEGF, ТФР-β1) в тканях биоптата компримирующего нервные структуры грыжевого содержимого;
- нарастание уровня ММР-8 и снижение содержания ОПГ в экстракте интраоперационного биоматериала и сыворотке крови, что подтверждает тяжесть дегенеративных процессов на уровне МПД.

Особенности изменения исследуемых медиаторов иммунной системы в группах пациентов с дегенеративно-дистрофическими изменениями на уровне поясничного отдела позвоночника, представленные в ряде исследований, и полученные нами данные подтверждают, что воспалительная реакция и неоангиогенез играют определяющую роль в формировании рецидивов ГМПД. Исследование уровня биомаркеров воспаления, роста и остеодистрофических процессов в экстрактах ткани МПД и сыворотки крови показало достоверную связь между подъемом уровня ФНО- α ,

MCP-1, VEGF, TФP- β 1 и MMP-8 в тканях грыжевого выпячивания и сыворотке крови.

Нарастание уровня в сыворотке крови биомаркеров воспалительного процесса, факторов роста и MMP-8 можно считать показателями тяжести дегенеративных процессов на уровне МПД и их рецидивов. Исследование уровня представленных в работе биомаркеров иммунорегуляторных процессов может быть использовано при разработке персонализированного подхода к выбору тактики хирургического лечения.

Список источников / References

1. Древал О.Н., Кузнецов А.В., Чехонацкий В.А. и др. Патогенетические аспекты и факторы риска развития рецидива грыжи диска поясничного отдела позвоночника: обзор литературы. *Хирургия позвоночника*. 2021;18(1):47–52.
2. Древал О.Н., Кузнецов А.В., Чехонацкий В.А. et al. Pathogenetic aspects and risk factors of lumbar disc herniation recurrence (review of the literature). *Journal of Spine Surgery*. 2021;18(1):47–52. doi: 10.14531/ss2021.1.47-52
3. Чехонацкий В.А., Древал О.Н., Кузнецов А.В. и др. Современные принципы лечения рецидивов грыж межпозвоночного диска поясничного отдела позвоночника. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2020;16(3):769–772.
4. Chekhonatskiy V.A., Dreval O.N., Kuznetsov A.V. et al. Modern principles of treatment of recurrent herniation of the intervertebral disc of the lumbar spine. *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2020;16(3):769–772.
5. Nicholas S., Woojin Cho. Recurrent lumbar disc herniation: a review. *Global Spine J*. 2019;9(2):202–209. doi: 10.1177/2192568217745063
6. Wang J., Markova D., Anderson D.G. et al. TNF- α and IL-1 β promote a disintegrin-like and metalloprotease with thrombospondin type I motif-5-mediated

7. aggrecan degradation through syndecan-4 in intervertebral disc. *J. Biol. Chem*. 2011;286:39738–39749. doi: 10.1074/jbc.M111.264549
8. Bachmeier B.E., Nerlich A., Mittermaier N. et al. Matrix metalloproteinase expression levels suggest distinct enzyme roles during lumbar disc herniation and degeneration. *Eur. Spine J*. 2009;18:1573–1586. doi: 10.1007/s00586-009-1031-8
9. Tchertina E.V., Markova G.A. Regulation of energy metabolism in the growth plate and osteoarthritic chondrocytes. *Rheumatol. Int*. 2018;38(11):1963–1974. doi: 10.1007/s00296-018-4103-4
10. Altun I. Cytokine profile in degenerated painful intervertebral disc: variability with respect to duration of symptoms and type of disease. *Spine J*. 2016;16(7):857–861. doi: 10.1016/j.spinee.2016.03.019
11. Bian Q., Ma L., Jain A. et al. Mechanosignaling activation of TGF- β maintains intervertebral disc homeostasis. *Bone Res*. 2017;5:1–14. doi: 10.1038/boneres.2017.8
12. Zheng L., Cao Y., Ni S. et al. Ciliary parathyroid hormone signaling activates transforming growth factor- β to maintain intervertebral disc homeostasis during aging. *Bone Res*. 2018;6:21. doi: 10.1038/s41413-018-0022-y

Информация об авторах

- Чехонацкий Владимир Андреевич** — аспирант каф. нейрохирургии ФГБОУ ДПО РМАНПО, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-6155-1154>
- Древал Олег Николаевич** — д.м.н., проф., зав. каф. нейрохирургии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8944-9837>
- Кузнецов Алексей Витальевич** — к.м.н., доцент каф. нейрохирургии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-9487-6008>
- Чехонацкий Андрей Анатольевич** — д.м.н., доцент, зав. каф. нейрохирургии ФГБОУ «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского», Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3327-1483>
- Захарова Наталья Борисовна** — д.м.н., проф. каф. клинической лабораторной диагностики ФГБОУ «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского», Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0289-3562>
- Гришина Елена Анатольевна** — д.м.н., проф., директор НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5621-8266>
- Горожанин Александр Вадимович** — к.м.н., зав. нейрохирургическим отделением № 19 ГБУЗ ГКБ им. С.П. Боткина, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3593-7034>
- Волна Вера Владимировна** — врач-нейрохирург нейрохирургического отделения № 19 ГБУЗ ГКБ им. С.П. Боткина, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3593-7034>

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Information about the authors

- Vladimir A. Chekhonatskiy** — postgraduate student, Department of neurosurgery, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-6155-1154>
- Oleg N. Dreval** — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of neurosurgery, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8944-9837>
- Aleksei V. Kuznetsov** — Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of neurosurgery, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9487-6008>
- Andrey A. Chekhonatskiy** — D. Sci. (Med.), Head, Department of neurosurgery, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3327-1483>
- Natalya B. Zakharova** — D. Sci. (Med.), Professor, Department of clinical laboratory diagnostics, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0289-3562>
- Elena A. Grishina** — D. Sci. (Med.), Professor, Director, Research Institute of Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5621-8266>
- Aleksandr V. Gorozhanin** — Cand. Sci. (Med.), Head, Neurosurgery department No. 19, S.P. Botkin City Clinical Hospital, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3593-7034>
- Vera V. Volna** — neurosurgeon, Neurosurgery department No. 19, S.P. Botkin City Clinical Hospital, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3593-7034>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.



Морфологические изменения нейрональных предшественников, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека и трансплантированных в стриатум крыс с моделью болезни Паркинсона

Д.Н. Воронков¹, А.В. Ставровская¹, О.С. Лебедева², Вен Ли³, А.С. Ольшанский¹, А.С. Гущина¹, М.Р. Капкаева¹,
А.Н. Богомазова², М.А. Лагарькова², С.Н. Иллариошкин¹

¹ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия;

²ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени Ю.М. Лопухина», Москва, Россия;

³Китайский медицинский университет, Шеньян, Китайская Народная Республика

Аннотация

Введение. Разработка клеточной терапии для пациентов с болезнью Паркинсона (БП) предполагает создание протоколов на основе трансплантации нейронов, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) человека, в поражённую область головного мозга.

Цель исследования — охарактеризовать нейроны, трансплантированные в мозг крысы, для оценки эффективности нейротрансплантации на животной модели БП.

Материалы и методы. Нейроны, полученные из ИПСК человека (линия IPSRG4S), трансплантировали в стриатум крыс с интраназальным введением 6-ОНДА в качестве модели БП. Затем проводили иммуноокрашивание для выявления экспрессии глиальных и нейрональных маркеров в трансплантированных клетках в срок 2–24 нед после трансплантации.

Результаты. Через 4 нед в трансплантате зарегистрировано увеличение экспрессии маркеров зрелых нейронов на фоне снижения экспрессии маркеров нейрональных предшественников и первичной провоспалительной реакции глии. Дифференцировка и созревание нейрональных клеток в трансплантате продолжались более 3 мес. На более поздних сроках (3 и 6 мес) в трансплантате выявляли две зоны: содержащую преимущественно трансплантированные нейроны и образованную в основном астроцитами человека. В мозолистом теле и окружающей ткани полосатого тела обнаружены отростки нейронов человека, в трансплантате — крупные нейроны человека, экспрессирующие тирозингидроксилазу.

Заключение. Установленные в работе морфологические особенности трансплантата на разных сроках позволяют глубже понять патофизиологию и временные закономерности интеграции новых дофаминергических нейронов и реиннервации стриатума у крыс с моделью БП в отдалённом послеоперационном периоде.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона; модель; индуцированные плюрипотентные стволовые клетки человека; нейроны; трансплантация; полосатое тело

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23.07.2010). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБНУ НЦН (протокол № 10-7/20 от 27.11.2020).

Источник финансирования. Авторы из ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина получали финансирование по гранту 075-15-2019-1669 Министерства науки и высшего образования РФ. Авторы из ФГБНУ НЦН заявляют об отсутствии внешних источников финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Адрес для корреспонденции: 105064, Москва, пер. Обуха, д. 5, стр. 2. ФГБНУ «Научный центр неврологии».
E-mail: alla_stav@mail.ru. Ставровская А.В.

Для цитирования: Воронков Д.Н., Ставровская А.В., Лебедева О.С., Ли Вен, Ольшанский А.С., Гущина А.С., Капкаева М.Р., Богомазова А.Н., Лагарькова М.А., Иллариошкин С.Н. Морфологические изменения нейрональных предшественников, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека и трансплантированных в стриатум крыс с моделью болезни Паркинсона. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2023;17(2):43–50.
DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.6>

Поступила 10.04.2023 / Принята в печать 28.04.2023 / Опубликовано 25.06.2023

Morphological Changes in Neural Progenitors Derived from Human Induced Pluripotent Stem Cells and Transplanted into the Striatum of a Parkinson's Disease Rat Model

Dmitry N. Voronkov¹, Alla V. Stavrovskaya¹, Olga S. Lebedeva², Wen Li³, Artem S. Olshansky¹, Anastasia S. Gushchina¹, Marina R. Kapkaeva¹, Alexandra N. Bogomazova², Maria A. Lagarkova², Sergey N. Illarionov¹

¹Research Center of Neurology, Moscow, Russia;

²Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical and Chemical Medicine, Moscow, Russia;

³Health Sciences Institute, China Medical University, Shenyang, China

Abstract

Introduction. Development of cell therapy for Parkinson's disease (PD) requires protocols based on transplantation of neurons derived from human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) into the damaged area of the brain.

Objective: to characterize neurons transplanted into a rat brain and evaluate neural transplantation efficacy using a PD animal model.

Materials and methods. Neurons derived from hiPSCs (IPSRG4S line) were transplanted into the striatum of rats after intranigral injection of 6-hydroxydopamine (6-OHDA). Immunostaining was performed to identify expression of glial and neuronal markers in the transplanted cells within 2–24 weeks posttransplant.

Results. 4 weeks posttransplant we observed increased expression of mature neuron markers, decreased expression of neural progenitor markers, and primary pro-inflammatory response of glial cells in the graft. Differentiation and maturation of neuronal cells in the graft lasted over 3 months. At 3 and 6 months we detected 2 graft zones: one mainly contained the transplanted neurons and the other — human astrocytes. We detected human neurites in the corpus callosum and surrounding striatal tissue and large human tyrosine hydroxylase-expressing neurons in the graft.

Conclusion. With graft's morphological characteristics identified at different periods we can better understand pathophysiology and temporal patterns of new dopaminergic neurons integration and striatal reinnervation in a rat PD model in the long-term postoperative period.

Keywords: Parkinson's disease; model; human induced pluripotent stem cells; hiPSC; neurons; transplantation; striatum

Ethics approval. Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23 July 2010). The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Research Center of Neurology (protocol No. 10-7/20, November 27, 2020).

Source of funding. Authors from Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical and Chemical Medicine were supported by grant 075-15-2019-1669 from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation. Authors from Research Center of Neurology declare that they received no external funding for the research.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For correspondence: 105064, Russia, Moscow, 5 Obukha per., build. 2. Research Center of Neurology.

E-mail: alla_stav@mail.ru. Stavrovskaya A.V.

For citation: Voronkov D.N., Stavrovskaya A.V., Lebedeva O.S., Li W., Olshansky A.S., Gushchina A.S., Kapkaeva M.R., Bogomazova A.N., Lagarkova M.A., Illarionov S.N. Morphological changes in neural progenitors derived from human induced pluripotent stem cells and transplanted into the striatum of a Parkinson's disease rat model. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2023;17(2):43–50. (In Russ.)

DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.6>

Received 10.04.2023 / Accepted 28.04.2023 / Published 25.06.2023

Введение

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) человека могут быть дифференцированы в клетки-предшественники нейронов, что открывает многообещающие перспективы для заместительной клеточной терапии и моделирования нейродегенеративных заболеваний человека [1–4], в том числе болезни Паркинсона (БП). Поскольку реконструкция повреждённого нигростриатного пути при БП и реиннервация стриатума в зрелом мозге трудно осуществимы [5], основным экспериментальным подходом для разработки клеточной терапии БП, оценки выживаемости и функциональной состоятельности трансплантированных клеток остаётся их введение непосред-

ственно в стриатум. В то же время направленная дифференцировка нейтральных стволовых клеток, полученных из ИПСК человека, в нейроны с заданным фенотипом (например, дофаминергические нейроны среднего мозга) требует разработки комплексных протоколов [6–9]. Этапы дифференцировки и созревания дофаминовых (ДА) нейронов среднего мозга из ИПСК включают ингибирование сигнальных путей, определяющих дифференцировку клеток в сторону передней части нервной трубки, и использование нейротрофических факторов, ответственных за развитие нейронов среднего мозга [7]. Для повышения эффективности дифференцировки используются факторы BDNF, GDNF, TGFβ3 и др. Вариации во времени воздействия, различные сочетания и соотношения факторов зна-

чительно влияют на эффективность дифференцировки и количество получаемых ДА-нейронов [7, 8]. Эффективная трансплантация возможна только для нейрональных предшественников на разных стадиях созревания, поскольку окончательно дифференцированные нейроны легко повреждаются.

В мозге аллотрансплантат окружен активированными клетками глии хозяина, выработку которыми провоспалительных цитокинов и прочих факторов влияет на процесс дифференцировки и созревания нервных клеток [10, 11]. Имеются также свидетельства о наличии в мозге грызунов реактивного нейрогенеза, протекающего в условиях повреждения, и его отличиях от канонического нейрогенеза, ограниченного нейрогенными нишами [12]. Очевидно, что динамика созревания и интеграции трансплантата зависит от стадии дифференцировки трансплантированных клеток и влияния микроокружения [13–15], но эти процессы остаются недостаточно изученными.

Цель настоящего исследования — охарактеризовать созревание нейронов, полученных из ИПСК человека, при их интеграции в стриатум крыс после интранигрального введения 6-гидроксидофамина (6-OHDA).

Материалы и методы

Получение клеточных культур

Нейроны были дифференцированы из ИПСК, полученных из фибробластов кожи здорового донора. Используемая линия ИПСК IPSRG4S охарактеризована согласно общепринятым стандартам [16].

Составы сред для дифференцировки и культивирования

Используемый в настоящем исследовании протокол дифференцировки ИПСК подробно описан ранее [17]. Среда для нейрональной дифференцировки ИПСК: DMEM/F12, 2% заменителя сыворотки, 1% N2 добавка, 1мМ глутамин, 50 ед/мл пенициллин-стрептомицин, 80 нг/мл Noggin, 10 мкМ SB431542, 2 мкМ дорсоморфин. Среда для культивирования нейрональных предшественников: DMEM/F12, 2% B27 добавка, 1 мМ глутамин, 50 ЕД/мл пенициллин-стрептомицин, 100 нг/мл Shh, 100 нг/мл FGF8 и 2 мкМ пурморфамин. Среда для созревания нейронов: DMEM/F12, 2% B27 добавка, 1 мМ глутамин, 50 ЕД/мл пенициллин-стрептомицин, 20 нг/мл BDNF, 20 нг/мл GDNF, 200 мкМ аскорбиновая кислота и 5 мкМ форсколина.

Животные

Эксперименты проводили с соблюдением биоэтических норм. В работе было использовано 60 самцов крыс Вистар (3,5 мес, масса тела 300–350 г), полученных из питомника ФГБУН НЦБМТ ФМБА России филиал «Столбовая». В иммуноморфологическом исследовании были использованы образцы мозга 16 животных.

Манипуляции с животными проводили в соответствии с требованиями European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (CETS No. 170), Приказом МЗ РФ № 119Н от 01.04.2016 Об утверждении Правил лабораторной практики», а также руководствуясь «Правилами работы с лабо-

раторными грызунами и кроликами» (ГОСТ 33216-2014). Животные содержались в стандартных условиях вивария с неограниченным доступом к пище и воде при 12-часовом световом режиме. Эксперимент начинали после 10-дневной адаптации животных к условиям вивария.

Хирургические процедуры

Для проведения стереотаксических операций животных помещали на раму лабораторного стереотаксиса («Stoelting Co.»), скальп надрезали и с помощью портативной бор-машины просверливали в черепе трепанационные отверстия для доступа к определённым структурам мозга в соответствии с координатами атласа мозга крыс [18]. При разведении животных в стереотаксисе между животным и рабочей поверхностью помещали ватно-марлевый матрас, чтобы избежать переохлаждения во время и после операции. Для анестезии применяли золетил-100 в дозе 30 мг/кг и ксиланит в дозе 3 мг/кг внутримышечно, для премедикации использовали атропин в дозе 0,04 мг/кг подкожно за 10-15 мин до введения ксиланита.

Для получения модели паркинсонического синдрома животным ($n = 50$) в компактную часть чёрной субстанции справа вводили селективный для дофаминергических нейронов токсин — 6-OHDA в дозе 12 мкг в 3 мкл 0,05% раствора аскорбиновой кислоты по следующим координатам: AP = -4,8; L = 2,2; V = 8,0. В чёрную субстанцию слева вводили растворитель в том же объёме. Ложнооперированным (контрольным) животным ($n = 10$) вводили растворитель билатерально в том же объёме.

Через 25 дней после введения 6-OHDA части животных ($n = 34$) была проведена нейротрансплантация нейрональных предшественников или фибробластов (группы «6-OHDA + нейроны» и «6-OHDA + фибробласты» соответственно) в хвостатые ядра мозга, остальным животным с введением 6-OHDA ($n = 16$) вводили физиологический раствор (группа «6-OHDA + NaCl») в ту же структуру. Трансплантацию проводили по следующим координатам: AP = 1,08; L = 2,4; V = 4,5. Животные были анестезированы по схеме, описанной выше.

Трансплантацию клеток осуществляли унилатерально, на стороне повреждения. В хвостатые ядра через микрошприц Гамильтона вводили суспензию, содержащую 3×10^5 клеток в 10 мкл физиологического раствора, с постоянной скоростью в течение 5 мин. После инъекции микрошприц оставляли на месте в течение ещё 1 мин, затем медленно извлекали. В хвостатые ядра слева вводили физиологический раствор в том же объёме. За 1 день до операции по трансплантации клеток и далее ежедневно в течение всего эксперимента животные получали циклоспорин в дозе 12 мг/кг.

Ложнооперированным животным (без введения 6-OHDA, группа «контроль»; $n = 10$) в хвостатые ядра мозга вводили билатерально физиологический раствор в том же объёме.

Поведение животных

Поведенческие эффекты токсического воздействия и введения суспензии клеток оценивали по изменению двигательной активности экспериментальных крыс в тесте «открытое поле» (ОП). Установка ОП представляла собой короб $97 \times 97 \times 40$ см из жёсткого ПВХ («Открытая наука»),

Антитела, использованные для оценки морфологических изменений в трансплантате

Antibodies used to assess morphological changes in the graft

Клеточная популяция Cell population	Выявляемый белок Detected protein	Видоспецифичность антител: Hm — человек, Rt — крыса Species specificity of the antibodies: Hm stands for human, Rt stands for rat
Все клетки трансплантата All graft cells	Ядерный антиген человека (HNA) Human nuclear antigen (HNA)	Hm
	Белок наружной мембраны митохондрий (MTC) Outer mitochondrial membrane protein (MTC)	Hm
Нейрональные предшественники Neural progenitors	Нестин (Nes) Nestin (Nes)	Hm, Rt
	Даблкортин (DCX) Doublecortin (DCX)	Hm, Rt
	Фактор транскрипции Sox9 Transcription factor Sox9	Hm, Rt
Зрелые нейроны Mature neurons	Нейрональная енолаза (NSE) Neuron-specific enolase (NSE)	Hm
	Ядерный белок нейронов (NeuN) Neuronal nuclei protein (NeuN)	Hm, Rt
	Убиквитин С-терминальная гидролаза (PGP9.5) Protein gene product 9.5 (PGP9.5)	Hm, Rt
	Синаптофизин (SYP) Synaptophysin (SYP)	Hm, Rt
	Тирозингидроксилаза (TH) Tyrosine hydroxylase (TH)	Hm, Rt
Астроглия Astroglia	Фактор транскрипции Sox9 Transcription factor Sox9	Hm, Rt
	Глиофибрилярный белок (GFAP) Glial fibrillary acidic protein (GFAP)	Rt
	10-Формилтетрагидрофолат дегидрогеназа (ALDH1L1) 10-Formyltetrahydrofolate dehydrogenase (ALDH1L1)	Hm, Rt
Микроглия Microglia	Воспалительный фактор аллогraftа (IBA1) Ionized calcium-binding adapter molecule 1 (IBA1)	Rt

продолжительность теста — 3 мин. Регистрацию поведения крыс и последующий анализ данных проводили с помощью системы видеонаблюдения «Any-Maze» («Stoelting Inc.») с программным обеспечением.

Иммуногистохимический анализ

Для морфологической оценки состояния трансплантата животных выводили из эксперимента через 2 и 4 нед, 3 и 6 мес после введения клеток. Животных декапитировали гильотиной, мозг извлекали и фиксировали 24 ч в 10% формалине. Фронтальные срезы толщиной 10 мкм готовили с помощью криостата «Tissue Tek Sakura». Перед нанесением антител срезы нагревали в пароварке в течение 15 мин в цитратном буфере при pH 6,0, после остывания промывали фосфатным солевым буфером (0,01 М, pH 7,2) и инкубировали с первичными антителами кролика или мыши (таблица) во влажной камере в течение 18 ч при комнатной температуре. Для выявления связывания первичных антител использовали антитела козы или осла против иммуноглобулинов кролика или мыши, меченные флуорохромами «Atto 488» или «Atto 555» («Invitrogen»). Срезы докрашивали DAPI.

Морфометрия

Для исследования использовали флуоресцентные микроскопы «Nikon Eclipse Ni-u» или «Nikon SMZ-18». Оценивали число клеток в интересующей области или интенсивность флуоресцентного мечения при увеличении объектива $\times 20$ не менее чем на 5 срезах от одного животного, взятых в области трансплантата с шагом не менее 50 мкм. Данные, полученные от каждого животного, усредняли, для сравнения групп применяли дисперсионный анализ ANOVA с апостериорным тестом Тьюки, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистическую обработку проводили в программе «GraphPad Prism 7.0».

Результаты и обсуждение

В дорсальной области стриатума на стороне трансплантации и введения нейротоксина 6-OHDA у всех животных обнаруживали резкое снижение окрашивания на TH, свидетельствующее о повреждении чёрной субстанции. Введение 6-OHDA приводило к развитию паркинсонического синдрома, проявляющегося, в частности, в статистически

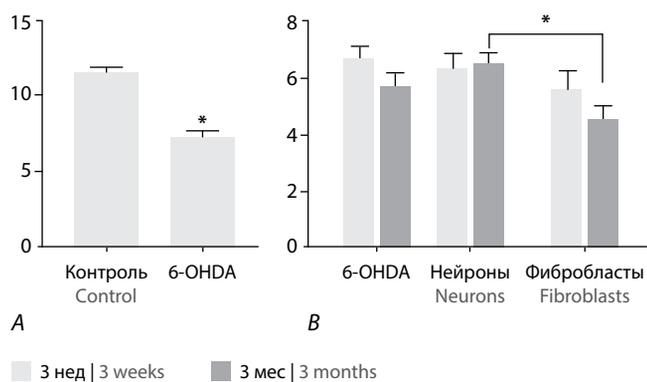


Рис. 1. Оценка двигательной активности крыс в тесте ОП после интранигрального введения 6-OHDA (A) и через 3 нед и 3 мес после трансплантации (B).
* $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Fig. 1. Assessment of rats' locomotor activity in an open field test following intranigral injection of 6-OHDA (A) and 3 weeks and 3 months posttransplant (B).
* $p < 0.05$ compared to the control group.

значимом ($p = 0,000001$) снижении двигательной активности животных (рис. 1). Тестирование в ОП проводили перед процедурой нейротрансплантации (рис. 1, A), а также спустя 3 нед и 3 мес (рис. 1, B).

Введение клеточных суспензий существенно не изменило двигательную активность крыс, величина пройденной дистанции сохранялась на исходном уровне (рис. 1). Единственно, тест, проведённый через 3 мес после трансплантации, выявил достоверно меньшую двигательную активность в группе крыс с введением фибробластов ($p = 0,0486$) по сравнению с группой, получавшей нейрональные предшественники.

Важно отметить, что продолжительность настоящей исследовательской работы составляла более 6 мес, в том числе 20 нед проводилось наблюдение за животными с аллотрансплантатом. Все экспериментальные животные данной группы хорошо перенесли хирургические процедуры и в течение всего срока находились в удовлетворительном состоянии. Регулярные ежедневные осмотры ветеринарным врачом не выявили у этих крыс изменений физиологических отклонений, наличия порфириновых выделений из глаз и носа, поредения шёрстного покрова. Проведённые после декапитации вскрытия тел животных не выявили новообразований.

Морфологическое исследование проводили в группе животных после трансплантации нейрональных предшественников. Для выявления клеток трансплантата были выбраны видоспецифичные антитела к HNA, МТС и NSE человека. Каждый из этих маркеров имеет свои преимущества. Ядерный белок HNA хорошо сочетается при окрашивании с цитоплазматическими и цитоскелетными белками, служащими для типирования трансплантированных клеток. Выявление митохондрий человека (МТС) подходит для оценки миграции и распределения клеток. Окрашивание на NSE позволяет оценить созревание нейронов и выявлять их отростки.

После трансплантации HNA-позитивные клетки располагались плотным тяжем по ходу иглы (рис. 2). Миграции кле-

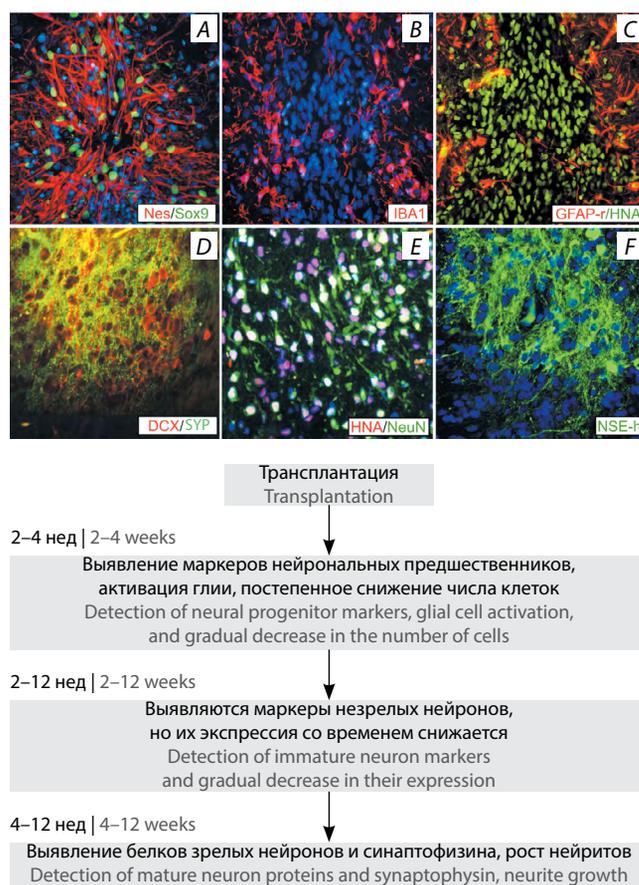


Рис. 2. Выявление ключевых маркерных белков на разных сроках после трансплантации, $\times 20$.
A — выявление ранних маркеров нейрональных предшественников Nes и Sox9 в трансплантате (2 нед);
B — активация микроглии (IBA1⁺), окружающей клетки трансплантата (2 нед);
C — астроциты (GFAP⁺), формирующие глиальный вал вокруг трансплантата (2 нед);
D — выявление в трансплантате наряду с SYP маркера нейрональных предшественников DCX (4 нед);
E — выявление зрелых нейронов (NeuN⁺) в трансплантате (12 нед);
F — прорастание отростков трансплантированных клеток (NSE⁺) в стриатум крысы (12 нед).

Fig. 2. Detection of key protein markers at different posttransplant periods, $\times 20$.
A — detection of Nes and Sox9, early neural progenitor markers, in the graft (at 2 weeks);
B — activation of microglia (IBA1⁺) surrounding the graft cells (at 2 weeks);
C — astrocytes (GFAP⁺) forming a glial scar around the graft (at 2 weeks);
D — detection of SYP and DCX, a neural progenitor marker (at 4 weeks);
E — detection of mature neurons (NeuN⁺) in the graft (at 12 weeks);
F — growth of transplanted cells' projections (NSE⁺) into a rat's striatum (at 12 weeks).

ток за пределы трансплантата на сроках до 3 мес не выявляли, за исключением единичных эктопических нейронов, а к 6-му месяцу обнаруживали HNA-позитивные астроциты за пределами области трансплантации в стриатуме и мозолистом теле. Средняя плотность HNA-позитивных клеток в поле зрения в области введения значимо снижалась (ANOVA $F(2,9) = 10,35$; $p = 0,0046$) в трансплантате к 3-му месяцу (рис. 3). Снижение плотности клеток в трансплантате было связано как с частичной гибелью транспланти-

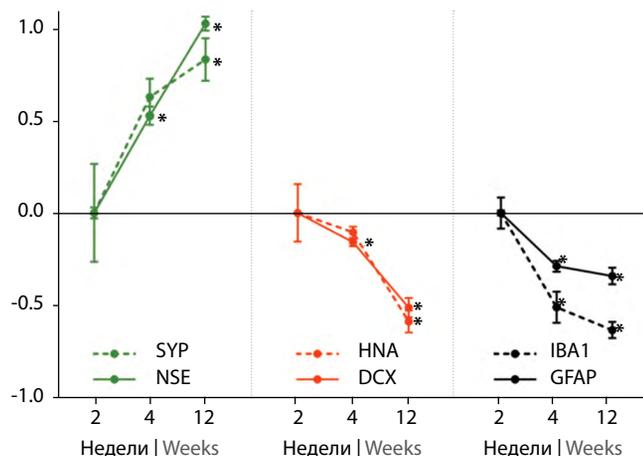


Рис. 3. Количественная оценка морфологических изменений в трансплантате через 2–12 нед после введения клеток (изменения интенсивности окрашивания на основные маркерные белки). Данные представлены в виде \log_2 от кратности изменений (1 по оси ординат — увеличение вдвое). * $p < 0,05$ по сравнению с 2 нед после трансплантации.

Fig. 3. Quantitative analysis of morphological changes in the graft 2–12 weeks posttransplant (changes in staining intensity of key protein markers). Results are expressed as \log_2 of the fold change (y-axis '1 equals a 2-fold increase). * $p < 0.05$ compared to 2 weeks posttransplant.

рованных нейронов, так и с наблюдавшимся увеличением их размеров и разрежением внутренней зоны трансплантата. Через 6 мес после трансплантации плотность HNA-позитивных клеток относительно 3-го месяца не снижалась (составила в среднем $16,72 \pm 5,25$ на $0,01 \text{ мм}^2$).

Через 2 нед в области трансплантата отмечалась выраженная активация микроглии и астроцитов. На ранних сроках после трансплантации область введения клеток была окружена глиальным валом, сформированным IBA1-позитивными клетками активированной микроглии и реактивными астроцитами крысы (рис. 2). Однако реакция микроглии (по интенсивности окрашивания на IBA1) значительно снижалась уже к 4-й неделе (ANOVA $F(2,9) = 36,81$; $p < 0,0001$), а к 3-му месяцу в области трансплантата отмечали значимое (ANOVA $F(2,9) = 10,4$; $p = 0,0051$) снижение интенсивности окрашивания на GFAP (рис. 3). К 3 мес астроциты формировали отчетливую границу между трансплантатом и структурами стриатума, причём глиальный вал к этому сроку содержал смешанную популяцию астроцитов человека и крысы (рис. 4). Массивного прорастания отростков окружающей астроглии в область трансплантата не отмечали, а инфильтрация трансплантата макрофагами снизилась. В контрольной группе при введении физиологического раствора, как и в стриатуме противоположного полушария оперированных крыс (на стороне введения 0,9% NaCl), наблюдали сходную с наблюдавшейся в области трансплантата динамику изменения микроглии, что говорит о ведущей роли в активации микроглии механической травмы при операции. Что касается экспрессии GFAP и реактивных изменений астроглии, то она была более выражена на поздних сроках в большей степени на стороне трансплантации, по сравнению с контролем, в том числе за счёт включения человеческих астроцитов в сформированный вокруг трансплантата глиальный вал. Более подробно глиальные изменения описаны нами ранее [17].

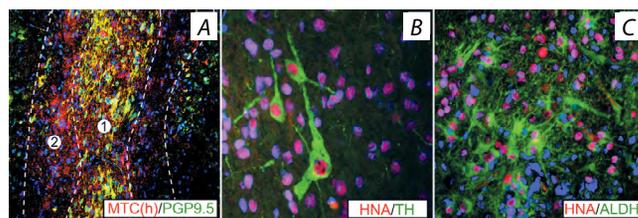


Рис. 4. Трансплантат через 6 мес после введения клеток.

A — локализация зрелых нейронов ($\text{PGP}^+/\text{MTC}^+$) в центральной зоне трансплантата (1) и выявление глиальных клеток человека ($\text{PGP}^-/\text{MTC}^+$) в периферической зоне (2), $\times 10$; **B** — нейроны человека, содержащие тирозингидроксилазу, в трансплантате (TH^+/HNA^+), $\times 40$; **C** — зрелая астроглия человека в трансплантате ($\text{ALDH}^+/\text{HNA}^+$), $\times 20$.

Fig. 4. Graft 6 months posttransplant.

A — mature neurons ($\text{PGP}^+/\text{MTC}^+$) in the graft's center (1) and human glial cells ($\text{PGP}^-/\text{MTC}^+$) in the peripheral area (2), $\times 10$; **B** — human tyrosine hydroxylase-containing neurons in the graft (TH^+/HNA^+), $\times 40$; **C** — mature human astroglia in the graft ($\text{ALDH}^+/\text{HNA}^+$), $\times 20$.

На ранних сроках (2, 4 нед) в трансплантате выявляли клетки, содержащие DCX и Nes. Отмечали высокую плотность Sox9-позитивных клеток (рис. 2). К 3-му месяцу интенсивность окрашивания на DCX в трансплантате значимо (ANOVA $F(2,9) = 57,68$; $p < 0,0001$) снижалась (рис. 3). Следует принимать во внимание, что Nes, а по некоторым данным и DCX, традиционно используемые как маркеры клеток нейрогенной ниши, могут экспрессироваться активированными астроцитами в патологических условиях — при воспалении или ишемии [19, 20]. Транскрипционный фактор Sox9 экспрессировался и за пределами трансплантата, что согласуется с данными литературы о его экспрессии не только в клетках нейрогенной ниши, но и в зрелых астроцитах [21]. В свою очередь клетки, имеющие нейрогенный потенциал, могут экспрессировать традиционные астроцитарные маркеры GFAP и ALDH1L1. Таким образом, для оценки судьбы трансплантированных клеток необходимо долгосрочное исследование трансплантата, поскольку изменения экспрессии белков нейрональных предшественников на ранних сроках могут отражать провоспалительные изменения.

По мере созревания нейронов возрастала (ANOVA $F(2,9) = 164,3$; $p < 0,0001$) экспрессия NSE (рис. 2, 3). Начиная с 4-й недели после трансплантации отростки нейронов трансплантата были, как правило, ориентированы вдоль трека иглы. Отмечали увеличение размеров трансплантированных нейронов, и к 3-му и 6-му месяцам в мозолистом теле обнаруживали длинные NSE-позитивные отростки, направленные латерально, по ходу волокон мозолистого тела. Хотя NSE служит маркером развития нейронов трансплантата, следует учесть, что в отдельных работах показана её экспрессия [22] в олигодендроглии и глиальных новообразованиях, что требует сочетания с другими маркерами. Созревание нейронов сопровождалось увеличением экспрессии SYP, белка синаптического везикул, связанного с формированием синапсов и синаптической активностью нейронов [23]. На 2-й неделе после трансплантации окрашивание на SYP в трансплантате практически отсутствовало, но уже к 4 нед значимо возросло и продолжало увеличиваться (ANOVA $F(2,9) = 6,03$; $p < 0,022$) до 3-го месяца после трансплантации (рис. 2, 3), что может отражать как созревание нейронов трансплантата, так и вероятное формирование их контактов с нейронами стриатума крысы.

На материале, полученном через 3 и 6 мес после трансплантации, оценивали локализацию некоторых белков зрелых нейронов — PGP 9.5, NeuN и маркера дофаминовых нейронов — TH (рис. 2, 4). Как NeuN, так и PGP 9.5 выявляли в большинстве клеток трансплантата, причём окрашивание на PGP 9.5 было более интенсивным, чем в нейронах стриатума крысы. Часть клеток не экспрессировала нейрональных маркеров даже на поздних сроках после трансплантации. На поздних сроках (3 и 6 мес) глиальный вал вокруг трансплантата становился более разреженным, и к 3 мес HNA-позитивные, содержащие ALDH1L1 астроциты человека формировали периферическую область трансплантата (рис. 4), а к 6 мес обнаруживались и за его пределами.

Уже к 3-му месяцу в трансплантате обнаруживали TH-позитивные (ДА) нейроны с развитыми отростками, имевшие крупное ядро и сом, часто расположенные группами. Доля TH-позитивных нейронов в трансплантате в среднем составила $3,0 \pm 1,5\%$ к 6-му месяцу. Стоит отметить, что уровень экспрессии TH может сильно варьировать в зависимости от функционального состояния нейронов [24], и, вероятно, по мере формирования связей между трансплантатом и нейронами стриатума крысы может наблюдаться рост числа выявляемых ДА-нейронов, содержащих тирозингидроксилазу.

Заключение

Проведённая работа показала, что, хотя после трансплантации плотность нейронов в трансплантате снижалась, на-

ряду с этим происходило их созревание и развитие нейритов. Острая глиальная реакция в ответ на трансплантацию снижалась уже к четвертой неделе. Трансплантированные нейроны до 6 мес оставались в области введения и направляли свои отростки преимущественно по ходу трека иглы. Помимо этого, трансплантированные клетки дали начало популяции астроцитов, которые участвовали в формировании окружения нейронов. Снижение окрашивания на DCX и Nes, увеличение экспрессии маркерных белков зрелых нейронов (NSE, NeuN, PGP9.5) отражало функциональное созревание нейронов трансплантата, выявленное в нашем эксперименте к 3-му месяцу. Через 3 и 6 мес отмечали зональную структуру трансплантата, центральная часть которого содержала нейроны, а периферическая — преимущественно астроциты человека. Рост отростков трансплантированных нейронов в основном происходил по ходу мозолистого тела, однако на небольшие расстояния они проникали и в окружающую ткань стриатума.

Следует отметить, что выявленные в настоящей работе степени функционального развития нейронов трансплантата оказались недостаточными для появления отчётливого улучшения поведенческих показателей у крыс-биомоделей.

Установленные в работе морфологические особенности трансплантата на разных сроках позволяют глубже понять патофизиологию и временные закономерности интеграции новых дофаминергических нейронов и реиннервации стриатума у крыс с моделью БП в отдалённом послеоперационном периоде.

Список источников / References

- Lebedeva O.S., Lagarkova M.A. Pluripotent stem cells for modelling and cell therapy of Parkinson's disease. *Biochemistry (Moscow)*. 2018;83(9):1046–1056. doi: 10.1134/S0006297918090067
- Penney J., Ralvenius W.T., Tsai L.-H. Modeling Alzheimer's disease with iPSC-derived brain cells. *Mol. Psychiatry*. 2020;25(1):148–167. doi: 10.1038/s41380-019-0468-3
- Schweitzer J.S., Song B., Herrington T.M. et al. Personalized iPSC-derived dopamine progenitor cells for Parkinson's disease. *N. Engl. J. Med.* 2020;382(20):1926–1932. doi: 10.1056/NEJMoa1915872
- Wu R., Luo S., Yang H., Transplantation of neural progenitor cells generated from human urine epithelial cell-derived induced pluripotent stem cells improves neurological functions in rats with stroke. *Dis. Med.* 2020;29(156):53–64.
- Ghosh B., Zhang C., Ziemba K.S. et al. Partial reconstruction of the nigrostriatal circuit along a preformed molecular guidance pathway. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.* 2019; 14:217–227. doi: 10.1016/j.omtm.2019.06.008
- Kriks S., Shim J.-W., Piao J. et al. Dopamine neurons derived from human ES cells efficiently engraft in animal models of Parkinson's disease. *Nature*. 2011;480(7378):547–551. doi: 10.1038/nature10648
- Arenas E., Denham M., Villaescusa J.C. How to make a midbrain dopaminergic neuron. *Development*. 2015;142(11):1918–1936. doi: 10.1242/dev.097394
- Engel M., Do-Ha D., Muñoz S.S., Ooi L. Common pitfalls of stem cell differentiation: a guide to improving protocols for neurodegenerative disease models and research. *Cell. Mol. Life Sci.* 2016;73(19):3693–3709. doi: 10.1007/s00018-016-2265-3
- Antonov S.A., Novosadova E.V., Kobylyansky A.G. et al. Expression and functional properties of NMDA and GABA receptors during differentiation of human induced pluripotent stem cells into ventral mesencephalic neurons. *Biochemistry (Moscow)*. 2019;84(3):310–320. doi: 10.1134/S0006297919030131
- Sefiani A., Geoffroy C.G. The potential role of inflammation in modulating endogenous hippocampal neurogenesis after spinal cord injury. *Front. Neurosci.* 2021;15:682259. doi: 10.3389/fnins.2021.682259
- Tomov N., Surchev L., Wiedenmann C. et al. Astroglia has different dynamics after cell transplantation and mechanical impact in the rodent model of Parkinson's disease. *Balkan Med. J.* 2018;35(2):141–147. doi: 10.4274/balkanmedj.2016.1911
- Llorens-Bobadilla E., Zhao S., Baser A. et al. Single-cell transcriptomics reveals a population of dormant neural stem cells that become activated upon brain injury. *Cell Stem Cell*. 2015;17(3):329–340. doi: 10.1016/j.stem.2015.07.002
- Johann V., Schiefer J., Sass C. et al. Time of transplantation and cell preparation determine neural stem cell survival in a mouse model of Huntington's disease. *Exp. Brain Res.* 2007;177(4):458–470. doi: 10.1007/s00221-006-0689-y
- Tom C.M., Younesi S., Meer E. et al. Survival of iPSC-derived grafts within the striatum of immunodeficient mice: Importance of developmental stage of both transplant and host recipient. *Exp. Neurol.* 2017;297:118–128. doi: 10.1016/j.expneurol.2017.07.018
- Kopach O. Monitoring maturation of neural stem cell grafts within a host microenvironment. *World J. Stem Cells*. 2019;11(11):982–989. doi: 10.4252/wjsc.v11.i11.982
- Holmqvist S., Lehtonen S., Chumarina M. et al. Creation of a library of induced pluripotent stem cells from Parkinsonian patients. *NPJ Parkinson Dis.* 2016;2(1):16009. doi: 10.1038/npparkd.2016.9
- Voronkov D.N., Stavrovskaya A.V., Guschina A.S. et al. Morphological characterization of astrocytes in a xenograft of human iPSC-derived neural precursor cells. *Acta Naturae*. 2022;14(3):100–108. doi: 10.32607/actanaturae.11710
- Paxinos G., Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 6th ed. San Diego; 2007.
- Krishnasamy S., Weng Y.C., Thamisetty S.S. et al. Molecular imaging of nestin in neuroinflammatory conditions reveals marked signal induction in activated microglia. *J. Neuroinflammation*. 2017;14(1):45. doi: 10.1186/s12974-017-0816-7
- Verwer R.W., Sluiter A.A., Balesar R.A. et al. Mature astrocytes in the adult human neocortex express the early neuronal marker doublecortin. *Brain*. 2007;130(12):3321–3335. doi: 10.1093/brain/awm264
- Sun W., Cornwell A., Li J. et al. SOX9 is an astrocyte-specific nuclear marker in the adult brain outside the neurogenic regions. *J. Neurosci.* 2017;37(17):4493–4507. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3199-16.2017
- Sensenbrenner M., Lucas M., Deloume J.-C. Expression of two neuronal markers, growth-associated protein 43 and neuron-specific enolase, in rat glial cells. *J. Mol. Med.* 1997;75(9):653–663. doi: 10.1007/s001090050149
- Harrill J.A., Chen H., Streifel K.M. et al. Ontogeny of biochemical, morphological and functional parameters of synaptogenesis in primary cultures of rat hippocampal and cortical neurons. *Mol. Brain*. 2015;8(1):10. doi: 10.1186/s13041-015-0099-9
- White R.B., Thomas M.G. Moving beyond tyrosine hydroxylase to define dopaminergic neurons for use in cell replacement therapies for Parkinson's disease. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets*. 2012;11(4):340–349. doi: 10.2174/187152712800792758

Информация об авторах

Воронков Дмитрий Николаевич — к.б.н., с.н.с. лаб. нейроморфологии ФГБНУ НЦН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5222-5322>

Ставровская Алла Вадимовна — к.б.н., в.н.с. лаб. экспериментальной патологии нервной системы ФГБНУ НЦН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8689-0934>

Лебедева Ольга Сергеевна — с.н.с. лаб. клеточной биологии ФГБУ «ФНКЦ физико-химической медицины им. академика Ю.М. Лопухина», Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0767-5265>

Ли Вен — PhD, профессор, Институт наук о здоровье, Китайский медицинский университет, Шеньян, КНР, <https://orcid.org/0000-0002-0383-0240>

Ольшанский Артем Сергеевич — с.н.с. лаб. экспериментальной патологии нервной системы ФГБНУ НЦН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5696-8032>

Гущина Анастасия Сергеевна — н.с. лаб. экспериментальной патологии нервной системы ФГБНУ НЦН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3026-0279>

Капкаева Марина Рафаиловна — м.н.с. лаб. нейробиологии и тканевой инженерии ФГБНУ НЦН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2833-2897>

Богомазова Александра Никитична — зав. лаб. клеточной биологии ФГБУ «ФНКЦ физико-химической медицины им. академика Ю.М. Лопухина», Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1549-1984>

Лагарькова Мария Андреевна — д.б.н., чл.-корр. РАН, ген. директор ФГБУ «ФНКЦ физико-химической медицины им. академика Ю.М. Лопухина», Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9594-1134>

Иллариошкин Сергей Николаевич — д.м.н., академик РАН, зам. директора по научной работе ФГБНУ НЦН, директор Института мозга ФГБНУ НЦН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2704-6282>

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Information about the authors

Dmitry N. Voronkov — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of neuromorphology, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5222-5322>

Alla V. Stavrovskaya — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of experimental pathology of the nervous system, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8689-0934>

Olga S. Lebedeva — senior researcher, Laboratory of cell biology, Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical & Chemical Medicine, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0767-5265>

Wen Li — PhD, Professor, Institute of Health Sciences, Chinese Medical University, Shenyang, China, <https://orcid.org/0000-0002-0383-0240>

Artem S. Olshansky — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of experimental pathology of the nervous system, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5696-8032>

Anastasia S. Gushchina — researcher, Laboratory of experimental pathology of the nervous system, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3026-0279>

Marina R. Kapkaeva — junior researcher, Laboratory of neurobiology and tissue engineering, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2833-2897>

Alexandra N. Bogomazova — Head, Laboratory of cell biology, Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical and Chemical Medicine, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1549-1984>

Maria A. Lagarkova — D. Sci. (Biol.), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director, Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical and Chemical Medicine, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9594-1134>

Sergey N. Illarioshkin — D. Sci. (Med.), Prof., Academician of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director, Head, Brain Research Institute, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2704-6282>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.



Особенности COVID-19 у пациентов с рассеянным склерозом: основные подходы к ведению пациентов, лечению и вакцинации

В.А. Малько, Г.Н. Бисага, М.П. Топузова, И.К. Терновых, Т.М. Алексеева

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

В период пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19) важно принимать верные и основанные на доказательствах решения о тактике ведения и лечения пациентов с рассеянным склерозом (РС). Необходима систематизация информации об исследованиях и клинических случаях, рекомендациях по лечению пациентов с РС во время пандемии. В статье представлены особенности течения COVID-19 у пациентов с РС, факторы риска заражения и тяжёлого течения инфекции, описаны методы лечения РС — от терапии обострения до терапии препаратами, изменяющими течение РС, в контексте безопасности их применения и тактики ведения пациентов. Проанализированы последние наблюдательные и сравнительные исследования, клинические случаи вакцинации пациентов с РС и дебюты демиелинизирующих заболеваний после COVID-19 и вакцинации.

Ключевые слова: рассеянный склероз; новая коронавирусная инфекция; демиелинизирующие заболевания

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2022-301 от 20.04.2022).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Адрес для корреспонденции: 197341, Санкт-Петербург, Россия, ул. Аккуратова, д. 2. E-mail: malko_va@almazovcentre.ru. Малько В.А.

Для цитирования: Малько В.А., Бисага Г.Н., Топузова М.П., Терновых И.К., Алексеева Т.М. Особенности COVID-19 у пациентов с рассеянным склерозом: основные подходы к ведению пациентов, лечению и вакцинации. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2023;17(2):51–60.

DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.7>

Поступила 05.04.2022 / Принята в печать 20.05.2022 / Опубликовано 25.06.2023

COVID-19 Features in Patients with Multiple Sclerosis: Main Approaches to Their Management, Treatment, and Vaccination

Valeriya A. Malko, Gennady N. Bisaga, Mariya P. Topuzova, Ivan K. Ternovyykh, Tatyana M. Alekseeva

Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia

Abstract

The COVID-19 pandemic calls for correct and evidence-based decisions regarding management and treatment of patients with multiple sclerosis. Information on researches, clinical cases, and recommendations for treatment of such patients during the pandemic should be classified. We report COVID-19 features in patients with multiple sclerosis, risk factors for infection and development of severe disease. We also describe management strategies for multiple sclerosis: from relapse treatment to the selection of disease-modifying therapies focusing on patient's safety. We analyze the latest observational and comparative studies, clinical cases of multiple sclerosis patients vaccination and demyelinating disease onset after COVID-19 or vaccination.

Keywords: multiple sclerosis; COVID-19; demyelinating diseases

Source of funding. The research was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Agreement No. 075-15-2022-301 dated April 20, 2022).

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For correspondence: 197341, Russia, St. Petersburg, Akkuratova Str., 2. Almazov National Medical Research Centre. E-mail: malko_va@almazovcentre.ru. Malko V.A.

For citation: Malko V.A., Bisaga G.N., Topuzova M.P., Ternovyykh I.K., Alekseeva T.M. COVID-19 features in patients with multiple sclerosis: main approaches to their management, treatment, and vaccination. *Annals of Clinical and Experimental Neurology.* 2023;17(2):51–60. (In Russ.)

DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.7>

Received 05.04.2022 / Accepted 20.05.2022 / Published 25.06.2023

Введение

Период с марта 2020 г. по май 2023 г. был объявлен Всемирной организацией здравоохранения пандемией новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Центры по контролю и профилактике заболеваний проанализировали данные пациентов, получающих иммунотерапию, и инвалидизированных пациентов в качестве возможных групп высокого риска по COVID-19¹. Пандемия значительно повлияла и на лечение пациентов с рассеянным склерозом (РС), во многом за счёт ограниченного доступа к медицинским и реабилитационным учреждениям. По данным итальянских исследователей P. Colais и соавт., в период с марта по июнь 2020 г. на 91% снизилось количество консультаций у врачей-неврологов, на 82% — реабилитационных мероприятий, на 56% — выполнение нейровизуализационных исследований [1]. Препараты, изменяющие течение РС (ПИТРС), принимало на 10% меньше пациентов с РС, чем в 2019 г.

За счёт изучения клинических проявлений и патогенеза коронавирусной инфекции появилась возможность разработать рекомендации для пациентов по лечению РС и вакцинации в период пандемии, однако в дальнейшем необходимы более обширные и качественные исследования эффективности и безопасности ПИТРС и вакцинации. Понимание механизмов воздействия на иммунную систему каждого из ПИТРС, связанных с ним инфекционных рисков и их потенциального влияния на эффективность вакцинации является обязательным для безопасного лечения РС во время пандемии COVID-19.

Данная статья представляет собой обзор исследований и национальных международных рекомендаций о факторах риска и тяжести течения COVID-19, влиянии терапии обострения, ПИТРС и аутологичной трансплантации стволовых клеточных клеток на течение COVID-19, а также данных о вакцинации пациентов с РС против вируса SARS-CoV-2.

Риски развития COVID-19

Традиционно считается, что хроническое аутоиммунное заболевание повышает риски заражения инфекционными заболеваниями. Однако, согласно данным наблюдательных когортных исследований пациентов с РС в разных странах, заболеваемость COVID-19 в популяции РС была не выше, чем в общей [2–9]. Например, по результатам когортного исследования в Бразилии, заболеваемость COVID-19 среди пациентов с РС составила 27,7 случая на 10 000 пациентов, а среди населения в целом — 29,2 случая на 10 000 жителей [10]. В последнем (ноябрь 2021 г.) сравнительном исследовании итальянской когорты пациентов РС и общей когорты населения показано, что у пациентов с РС с низким баллом по шкале EDSS (≤ 3) и отсутствием сопутствующих заболеваний риск тяжёлого течения COVID-19 очень близок к рискам для общей когорты населения того же возраста и пола [7].

Симптомы COVID-19

Бессимптомное течение заболевания выявляется в 45% случаев [11], при этом пациенты с РС в 5,3% случаев пере-

носят инфекцию без симптомов [12], однако такой низкий процент может быть обусловлен малым количеством исследований с оценкой анализа на антитела к вирусу SARS-CoV-2. Основными клиническими симптомами COVID-19 среди пациентов с РС были лихорадка, кашель, утомляемость, одышка, головная боль, диспепсия, anosmia и agnosia [12, 13]. Реже у пациентов с РС возникали артралгии и боли в мышцах [6, 14]. Таким образом, среди неврологических симптомов COVID-19 при РС наиболее часто встречались головные боли, anosmia и/или агевзия [3–10, 14–16], менее часто — двигательные и сенсорные нарушения, снижение когнитивных функций [9, 16].

Степень тяжести течения COVID-19 и летальность

Степень тяжести COVID-19 в большинстве исследований делится на 3 группы:

- лёгкое течение заболевания, не требующее госпитализации или искусственной вентиляции лёгких;
- течение средней тяжести, госпитализация или потребность в вентиляции лёгких;
- тяжёлое течение, лечение в условиях отделения интенсивной терапии и реанимации или смерть.

Наиболее часто COVID-19 у пациентов с РС протекает в лёгкой форме [3–10, 14–16]. Согласно систематическому обзору [12], доля госпитализированных пациентов среди предполагаемых случаев инфекции и подтверждённых случаев составляет 20,7%. По сравнению с сопоставимой по возрасту и полу когортой здорового населения, пациенты с РС чаще госпитализируются в стационар [7].

Показатели летальности среди пациентов с РС неоднородны: от 1,6–1,7% в итальянской и французских когортах [15] до 3,6% в североамериканской [9]. По обобщённым данным обзоров, примерная летальность у пациентов с РС и COVID-19 составляет 3%, а общемировая летальность — 2% по данным ВОЗ на ноябрь 2021 г., однако необходимо учитывать, что показатели не скорректированы с учётом возраста, пола и наличия сопутствующих заболеваний [12]. Анализируя смертельные случаи, авторы приходят к выводу, что пожилой возраст, прогрессирующий тип течения РС и отсутствие приёма ПИТРС являются предикторами тяжёлого течения COVID-19 и летального исхода [7, 14].

Факторы риска развития и тяжёлого течения COVID-19

Среди факторов высокого риска развития COVID-19 в общей популяции отмечаются такие сопутствующие заболевания, как артериальная гипертензия, сахарный диабет, инсульт, злокачественные новообразования, заболевания почек, высокий уровень холестерина [17]. У пациентов с РС среди сопутствующих заболеваний наиболее часто встречаются артериальная гипертензия, сахарный диабет, заболевания сердечно-сосудистой системы, злокачественные новообразования [3–10, 14–16].

У пациентов с РС выделяют следующие факторы риска более тяжёлого течения COVID-19:

- возраст 60 лет и старше [3, 5, 14, 16];
- более высокий балл по шкале EDSS [3, 5, 9, 14, 16];
- более длительное течение заболевания [14];
- наличие сопутствующих заболеваний (как минимум 1) [5, 14];
- прогрессирующее течение РС [5, 14];

¹ CDC. Coronavirus disease 2019 (COVID-19).

URL: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/faq.html> (дата обращения: 09.01.2022).

- пульс-терапия преднизолоном в течение последнего месяца [8, 14];
- терапия анти-CD20 моноклональными антителами (ритуксимаб, окрелизумаб) [8, 14];
- негроидная раса [8, 18];
- сопутствующие сердечно-сосудистые заболевания [8];
- ожирение [3, 8];
- отсутствие приёма ПИТРС [3].

Терапия обострения. Приём глюкокортикостероидов

В условиях пандемии COVID-19 пациенты с обострением и при отсутствии признаков вирусной инфекции подлежат госпитализации для проведения пульс-терапии по стандартному протоколу² (метилпреднизолон 1000 мг внутривенно капельно 3–5 инфузий) [19]. Поэтому желательное проведение теста на коронавирусную инфекцию перед началом терапии³. У пациентов с обострением РС лёгкой степени возможно осуществление сосудистой и метаболической терапии на дому, без использования гормонотерапии [20]. Также возможно заменить метилпреднизолон на плазмаферез или введение внутривенных иммуноглобулинов, однако изолированное применение данных методов оказывает недостаточный терапевтический эффект⁴. Проведение плазмафереза желательно сочетать с последующим введением метилпреднизолона после каждого сеанса с целью более эффективного купирования обострения. Согласно большинству исследований, использование метилпреднизолона в течение 1–2 мес до инфицирования вирусом SARS-CoV-2 повышает в 2 раза риск возникновения COVID-19 [9, 14, 15]. Соответственно, в случае подтверждённого диагноза COVID-19 у пациента с РС назначение гормонотерапии нежелательно, если только польза не превышает риск осложнений.

Приём ПИТРС

По данным систематического обзора, наибольшая частота госпитализаций и смертности наблюдалась у пациентов, не принимавших ПИТРС, — 42,9 и 8,4%; у находящихся на анти-В-клеточной терапии — 29,2 и 2,5%, принимавших терифлуномид — 20,6 и 1,6% соответственно. Однако на данные показатели влияет общая частота приёма конкретных ПИТРС и профиль пациентов, не принимающих ПИТРС (пожилые пациенты в терминальной стадии РС) [12].

При этом есть ряд исследований, в которых не было показано влияния ПИТРС на течение COVID-19 [3, 6, 16].

Бета-интерфероны

Бета-интерфероны (БИ) — это иммуномодулирующие препараты, увеличивающие экспрессию противовоспалительных цитокинов и снижающие экспрессию провоспалительных цитокинов⁵.

² Клинические рекомендации. Рассеянный склероз — 2022–2023–2024 (13.07.2022) (утв. Минздравом РФ).

³ Временные методические рекомендации Ведение пациентов с рассеянным склерозом в условиях пандемии COVID-19. Версия 1 (19.04.2020) (утв. Минздравом РФ).

⁴ MS Ireland. COVID-19 and MS. 2020 May. URL: <https://www.ms-society.ie/covid-19-and-ms> (дата обращения 01.01.2022).

⁵ Avonex (interferon beta-1a) [prescribing information]. Cambridge; 2012.

URL: https://www.avonex.com/content/dam/commercial/avonex/pat/en_us/pdf/Avonex_US_Prescribing_Information.pdf (дата обращения 05.01.2022).

Показания к назначению. Рекомендованы всем пациентам с ремиттирующим РС (РРС) с уровнем EDSS ≤ 6,5 балла, не соответствующим критериям быстро прогрессирующего РС. БИ относятся к препаратам 1-й линии: интерферон бета-1a (для подкожного и внутримышечного введения), интерферон бета-1b, пэгинтерферон бета-1a. Интерферон бета-1a (для подкожного введения), интерферон бета-1b возможно использовать при вторично прогрессирующем РС с обострениями с целью предотвращения обострений. Обладает умеренной эффективностью [21–24].

Безопасность. При приёме пациентами БИ снижаются риски более тяжёлого течения COVID-19 по сравнению с другими ПИТРС [14, 25]. Частота случаев госпитализации у пациентов на БИ является одной из самых низких по сравнению с другими ПИТРС — 11% [13]. Приблизительный риск развития COVID-19 на терапии БИ — 0,61% [18]. Однако в североамериканской когорте не выявлено положительное влияние терапии БИ на течение COVID-19 [9]. Показана эффективность БИ в комбинации с противовирусными препаратами в общей популяции [26]. В настоящее время продолжается изучение эффективности БИ при COVID-19⁶ [27].

Тактика. У пациентов с РС и верифицированным диагнозом COVID-19 не следует отменять терапию БИ⁷. Сразу после постановки диагноза РРС препаратами выбора могут быть БИ, которые, несмотря на невысокую эффективность, подходят пациентам с лёгким течением РС [28].

Глатирамера ацетат

Глатирамера ацетат (ГА) представляет собой смесь синтетических полипептидов, которые конкурируют с белком миелином за связывание с молекулами основного комплекса гистосовместимости 2-го типа, что приводит к блокированию Т-клеточного ответа против миелина [29].

Показания к назначению. Входит в 1-ю линию терапии пациентов с РРС при отсутствии соответствия критериям быстро прогрессирующего РС⁸. ГА применяется подкожно ежедневно или 3 раза в неделю (с 18 лет) и обеспечивает умеренное снижение среднегодовой частоты рецидивов [23, 30, 31].

Безопасность. Риск развития у пациентов РС COVID-19 был ниже у пациентов, принимающих ГА, по сравнению с другими ПИТРС, кроме БИ [12, 18, 25, 32]. Приблизительный риск развития COVID-19 на терапии ГА составляет 0,51% [18].

Тактика. У пациентов с РС и верифицированным диагнозом COVID-19 возможно продолжить терапию ГА. Сразу после постановки диагноза РРС препаратом выбора может быть ГА⁹, который, несмотря на умеренную эффективность, подходит пациентам с лёгким течением РС [33].

⁶ National Institutes of Health. NIH clinical trial testing remdesivir plus interferon beta-1a for COVID-19 treatment begins. URL: <https://www.nih.gov/news-events/news-releases/nih-clinical-trial-testing-remdesivir-plus-interferon-beta-1a-covid-19-treatment-begins> (дата обращения 09.01.2022).

⁷ ABN Guidance on the use of disease-modifying therapies in multiple sclerosis in response to the COVID-19 pandemic. URL: <https://www.gov.im/media/1369107/abn-guidance-on-the-use-of-disease-modifying-therapies-in-multiple-sclerosis-covid19.pdf>

⁸ Клинические рекомендации. Рассеянный склероз — 2022–2023–2024 (утв. Минздравом РФ).

⁹ Временные методические рекомендации Ведение пациентов с рассеянным склерозом в условиях пандемии COVID-19. Версия 1 (19.04.2020) (утв. Минздравом РФ).

Терифлуноמיד

Препарат является ингибитором митохондриального фермента дигидрооратдегидрогеназы (ДГО-ДГ), который необходим для синтеза пиридина. Таким образом, под действием препарата снижается репликация аутореактивных лимфоцитов [34].

Показания к назначению. Входит в 1-ю линию терапии пациентов с РРС при отсутствии соответствия критериям быстро прогрессирующего РС. В некоторых странах терифлуноמיד рекомендован пациентам с клинически изолированным синдромом [35]. Терифлуноמיד принимается ежедневно перорально, обладает умеренной эффективностью [36, 37].

Безопасность. Терифлуноמיד и другие ингибиторы ДГО-ДГ могут препятствовать репликации SARS-CoV-2 в культуре клеток [38]. Новый высокоэффективный ингибитор ДГО-ДГ в настоящее время изучается для лечения инфекции COVID-19¹⁰. Приблизительный риск развития COVID-19 на терапии терифлуноמידом составляет 0,90% [18]. Согласно систематическому обзору [39], все пациенты, принимающие данный препарат, переносили COVID-19 в лёгкой или средней форме, за исключением 1,6% пациентов со смертельным исходом. Однако у умерших пациентов были сопутствующие факторы риска тяжёлого течения инфекции, не связанные с приёмом терифлуномида [2, 3, 5, 8–10, 14, 18, 40–42]. Примерная частота госпитализации пациентов — 20,6%, однако пациентов на терифлуномиде в когорте было зарегистрировано сравнительно немного [18]. Для тех немногих пациентов, которые нуждались в госпитализации и которым необходимо было отменить терифлуноמיד, терапия была начата вскоре после выписки из больницы без осложнений [39].

Тактика. Препаратами, вызывающими лейкопению и лимфопению, к которым относится терифлуноמיד, нежелательно начинать терапию в период пандемии COVID-19. У пациентов с РС и лёгким течением COVID-19 не следует прекращать приём терифлуномида, при тяжёлом течении необходимо отложить пероральный приём, возобновив лечение в течение 8 нед с целью предотвращения рецидива РС¹¹.

Диметилфумарат

Диметилфумарат активирует Nrf2-зависимые антиоксидантные гены, снижает образование провоспалительных цитокинов, повышает продукцию противовоспалительных цитокинов¹².

Показания к назначению. Диметилфумарат входит в 1-ю линию терапии пациентов с РРС при отсутствии соответствия критериям быстро прогрессирующего РС. Принимает

¹⁰ National Institutes of Health. Study to evaluate the efficacy and safety of oral RP7214, a DHODH inhibitor, in patients with symptomatic mild COVID-19 infection. 2021. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05007236?cond=DHODH&draw=2&rank=2> (дата обращения: 10.01.2022).

¹¹ ABN Guidance on the use of disease-modifying therapies in multiple sclerosis in response to the COVID-19 pandemic. URL: <https://www.gov.im/media/1369107/abn-guidance-on-the-use-of-disease-modifying-therapies-in-multiple-sclerosis-covid19.pdf>

¹² Instructions for use of the medicinal product are published on the website of the State Register of Medicinal Products. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=2477ec05-c31d-44f2-a3c1-ee8318243639&t (дата обращения: 10.01.2022).

ется перорально, рекомендуется пациентам с РРС с 18 лет. Используется также в качестве альтернативного препарата при индивидуальной непереносимости препаратов из группы БИ или ГА или при их недостаточной терапевтической эффективности [37, 43].

Безопасность. Приблизительный риск развития COVID-19 на терапии диметилфумаратом — 1,01% [18]. У большинства пациентов COVID-19 протекал в лёгкой и средне-тяжёлой форме, у всех пациентов проводился контроль лимфопении [3, 6, 9, 44, 45]. Общая частота случаев госпитализации составила 13,9% [12].

Тактика. При приёме диметилфумарата необходим контроль количества лимфоцитов каждые 3–6 мес во время терапии. Продолжать лечение у пациентов с лёгкими формами COVID-19, вероятно, безопасно при отсутствии лимфопении или с лимфопенией лёгкой степени (не ниже $0,8 \times 10^9/\text{л}$). При тяжёлом течении инфекции и лимфопении необходимо отложить пероральный приём, возобновив лечение в течение 8 нед [46]. Препаратами, вызывающими лимфопению, к которым относится диметилфумарат, нежелательно начинать терапию в период пандемии COVID-19 [25].

Модуляторы рецептора сфингозин-1-фосфата (финголимод и сипонимод)

Действуя в качестве антагонистов рецептора сфингозин-1-фосфата (S1P), модуляторы предотвращают выход лимфоцитов из лимфатических узлов, тем самым подавляя аутоиммунные реакции [29].

Показания к назначению. Финголимод входит во 2-ю линию терапии у пациентов с быстро прогрессирующим РРС или высокоактивным РС при уровне EDSS $\leq 6,5$ балла [47]. Рекомендуется пероральный приём (в некоторых странах с 10 лет) [47, 48]. Сипонимод (зарегистрирован в России 19.01.2021) одобрен для лечения пациентов старше 18 лет с вторично прогрессирующим РС, независимо от активности заболевания, перорально [49]. При приёме препаратов необходим контроль количества лимфоцитов каждые 3–6 мес во время терапии [49].

Безопасность. Приблизительный риск развития COVID-19 на терапии финголимодом — 1,07% [18]. Общая частота случаев госпитализации пациентов при приёме финголимодом — 14,7% [12]. Оценить риски при приёме сипонимодом не представляется возможным из-за малого числа описанных случаев. У большинства пациентов на терапии модуляторами S1P рецепторов наблюдалось относительно доброкачественное течение COVID-19, несмотря на лимфопению [39].

Иммунный ответ на терапии финголимодом. У пациентов, которые получают иммуносупрессивные ПИТРС (к ним относится и финголимод), чаще регистрируются отрицательные тесты на антитела к SARS-CoV-2 по сравнению с пациентами на иммуномодулирующих ПИТРС или без них [5, 13, 50–52]. С учётом механизма действия препаратов, иммунный ответ у пациентов может быть снижен [53].

Тактика. Относительно безопасно начинать или продолжать лечение финголимодом и сипонимодом, в том числе

во время периода острой фазы инфекции SARS-CoV-2, с необходимостью отмены терапии в случае снижения уровня лимфоцитов ниже $0,2 \times 10^9/\text{л}$ [39]. Риск агрессивного восстановления активности РС после отмены финголимода [54, 55], вероятно, перевешивает риски COVID-19. При тяжёлом течении инфекции рекомендуется отменить приём препаратов и возобновить его в течение 8 нед. Согласно российским рекомендациям, препаратами, вызывающими лимфопению, нежелательно начинать терапию в период пандемии COVID-19. При лечении финголимодом необходимо также учитывать его влияние на деятельность сердечно-сосудистой системы.

Натализумаб

Натализумаб является антагонистом альфа-4-интегрина. Блокируя взаимодействие данных рецепторов на поверхности лимфоцитов с молекулами адгезии, он предотвращает миграцию лимфоцитов через гематоэнцефалический барьер.

Показания к назначению. Натализумаб рекомендуется пациентам (с 18 лет) с быстро прогрессирующим РРС или с высокоактивным РРС внутривенно 1 раз в 28 дней, относится к препаратам 2-й линии. Необходим мониторинг статуса антител к вирусу Джона Каннингема каждые 6 мес, анализы крови — каждые 3 мес.

Безопасность. Лечение натализумабом у пациентов с РС в случае развития COVID-19 снижает риски госпитализации в отделение интенсивной терапии [9]. По обобщённым данным, 4,3% пациентов, заболевших COVID-19, умерли, однако они имели сопутствующие заболевания [6, 7, 9, 39, 56]. Приблизительный риск развития COVID-19 на терапии составляет 1,35% [18]. Натализумаб имеет, возможно, самый низкий риск тяжёлого заболевания COVID-19 среди высокоэффективных методов лечения.

Тактика. При подтверждённом контакте с инфицированными SARS-CoV-2 лицами пациентам с быстро прогрессирующим РРС, планирующим начинать терапию натализумабом внутривенно 1 раз в 28 дней, рекомендовано отложить назначение натализумаба на 1 мес¹³. Пациентам с РС, уже получающим препарат, рекомендовано увеличить интервал между инфузиями до 6 нед после 6 мес терапии с интервалом 4 нед между инфузиями. То же рекомендуется при COVID-19, протекающем в лёгкой форме.

Анти-CD20 и анти-CD52 моноклональные антитела (ритуксимаб, окрелизумаб, алемтузумаб)

Моноклональные антитела против В-клеток, экспрессирующих CD20-антиген, способствуют длительной В-клеточной лимфопении и снижению общего количества лимфоцитов на 25%¹⁴. Алемтузумаб как гуманизированное IgG1 каппа-моноклональное антитело, связывается с CD52 антигеном В- и Т-лимфоцитов. В результате развивается

иммуномодулирующий эффект после истощения популяции лимфоцитов и их последующей репопуляции¹⁵.

Показания к назначению. Все данные препараты относятся к препаратам 2-й линии. Ритуксимаб не зарегистрирован в России для лечения РС. Окрелизумаб применяется в дозировке 600 мг внутривенно 1 раз в 6 мес и рекомендуется пациентам с вторично прогрессирующим РС с обострениями, первично прогрессирующим РС, быстро прогрессирующим РРС или с высокоактивным РРС, а также при уровне EDSS $\leq 6,5$ балла (с 18 лет) [28, 57–59]. Алемтузумаб используется внутривенно 2 курсами терапии (5 инфузий в 1-й год и 3 инфузии во 2-й год) и рекомендуется пациентам (с 18 лет) с быстро прогрессирующим РРС или с высокоактивным РРС [52]. Пациентам, получающим терапию окрелизумабом, необходим контроль анализов крови каждые 6 мес, натализумабом — каждый месяц в течение 4 лет терапии [60, 61].

Безопасность. Приблизительный риск развития COVID-19 на анти-CD20 терапии — 3,45% [18]. В большом количестве когортных исследований анти-CD20 терапия (окрелизумаб или ритуксимаб) была значимо связана с повышенным риском тяжёлого течения COVID-19, даже с поправкой на возраст, пол и прогрессирующий РС [14, 15, 62]. Пациенты, принимавшие окрелизумаб, имели большую вероятность госпитализации (40,3%) и летального исхода (22,9%) [9]. По данным обзоров, частота госпитализаций на анти-CD20-терапии составила 29,2%, уровень смертности — 2,5%, что вдвое больше, чем на других ПИТРС. Однако есть данные многоцентрового исследования, в котором не было выявлено повышенного риска госпитализации при приёме окрелизумаба [16]. В ретроспективном российском отчёте о применении алемтузумаба большинство заболевших COVID-19 переносили инфекцию в лёгкой форме [56]. Необходимо дальнейшее изучение показателей в данной группе пациентов [12].

Иммунный ответ на анти-CD20-терапии. По данным крупного многоцентрового исследования, только у 25% переболевших COVID-19 пациентов и получавших анти-CD20-терапию, вырабатывались антитела к вирусу [16]. По данным небольших исследований [5, 13, 51] и отчётов [52, 64–68], пациенты, получающие анти-CD20-терапию, могут иметь низкий гуморальный ответ на инфекцию COVID-19. По сравнению с другими ПИТРС, у пациентов, принимающих анти-В-клеточную терапию, чаще обнаруживается отрицательный титр антител к вирусу SARS-CoV-2 [50].

Тактика. Необходимо наблюдение пациентов с РС в период наибольшей уязвимости к инфекции, т.е. в течение 4 нед после инфузии алемтузумаба и 2 нед — окрелизумаба. Пациентам с первично прогрессирующим РС, имеющим контакт с пациентами с подтверждённым COVID-19, рекомендуется отложить инфузию окрелизумаба на 1 мес, при лечении алемтузумабом — увеличить интервал между 1-м и 2-м лечебными циклами до 18 мес, а при запланированном 3-м или 4-м лечебных курсах — отложить терапию до 6 мес. При высоком риске инфицирования, согласно британским рекомендациям, введение окрелизумаба желатель-

¹³ Global COVID-19 Advice for People with MS Advice for People with MS. URL: <http://www.msif.org/wp-content/uploads/2021/06/June-2021-MSIF-Global-advice-on-COVID-19-for-people-with-MS-FINAL> (дата обращения: 10.01.2022).

¹⁴ Instructions for use of the medicinal product are published on the website of the State Register of Medicinal Products. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=21510cfo-f8b6-4f91-aaf5-0dbf66ec239e&t (дата обращения: 10.01.2022).

¹⁵ Instructions for use of the medicinal product are published on the website of the State Register of Medicinal Products. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=f5299788-391b-4d07-8088-cebdb76cb877&t (дата обращения: 10.01.2022).

но отложить до тех пор, пока CD19⁺- или CD19⁺CD27⁺-лимфоциты не восстановятся до более чем 1% от общей популяции лимфоцитов, либо перейти на альтернативную терапию. У пациентов с РС и COVID-19 лечение окрелизумабом и алемтузумабом следует отложить до исчезновения симптомов [63].

Кладрибин

Кладрибин является хлорсодержащим пуриновым производным и подавляет аутоиммунные воспалительные процессы за счёт избирательного угнетения активности лимфоцитов.

Показания к назначению. Кладрибин в таблетках 10 мг (3,5 мг/кг массы тела пациента в течение 2 лет: 1,75 мг/кг на 1 курс лечения в год общей продолжительностью не более 10 дней каждый из 2 курсов, без приёма препарата в следующие 2 года) рекомендуется пациентам старше 18 лет с быстро прогрессирующим РС или с высокоактивным РС. Относится к препаратам 2-й линии. На терапии необходим периодический контроль анализа крови на наличие лимфопении [79].

Безопасность. Во время фазы истощения (обычно в первые 6 мес) пациент наиболее подвержен инфекционным заболеваниям. В когортном исследовании приём кладрибина не увеличивал риски тяжёлого течения COVID-19 [14]. По данным обзора, 15% пациентов переносит инфекцию в тяжёлой форме. Из-за малого количества данных исследователями рекомендуется отложить лечение кладрибином до выздоровления от COVID-19 [70].

Иммунный ответ на терапии кладрибином. Данные немногочисленных клинических случаев неоднозначны, обнаруживаются как положительные титры антител, несмотря на лимфопению [71, 72], так и отрицательные [70, 73].

Тактика. Необходимо наблюдение пациентов с РС в период наибольшей уязвимости к инфекции, т.е. в течение первых 2–3 мес после каждого курса кладрибина. Начинать терапию кладрибином не рекомендуется при высоких рисках инфицирования. При подтверждённой инфекции COVID-19 необходимо отсрочить приём препарата.

Высокодозная иммуносупрессивная терапия с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеточных клеток (ВИСТ+АТГСК)

Поскольку процедура выполняется в рамках исследований, то на время пандемии COVID-19 было рекомендовано приостановить процедуру, за исключением случаев, при которых данная терапия является жизненно необходимой. После проведения ВИСТ+АТГСК пациенты подвержены наибольшему риску заражения инфекциями в течение 12 мес после процедуры. Заболеваемость COVID-19 в когортах гематологических пациентов варьировалась от 0,4% до 8,3%, показатели смертности — от 14,8 до 28,4%. Была показана связь между более тяжёлой степенью иммуносупрессии, смертности от COVID-19 и пациентами более пожилого возраста, перенёвшими трансплантацию в недавнем времени до заражения COVID-19 [79, 80]. Таким образом, данных о пациентах с РС и АТГСК недостаточно для выводов о безопасности и особенностях терапии во время пандемии.

Вакцинация пациентов с РС

На данный момент проведено небольшое количество исследований применения вакцины. По результатам одного из них, через 1 мес после вакцинации (препараты мРНК-1273 Moderna и BNT162b2 Pfizer) антитела вырабатывались у пациентов, принимающих кладрибин и терифлунамид. Сниженный иммунный ответ наблюдался у пациентов на анти-CD20-терапии и принимавших модуляторы рецептора сфингозин-1-фосфата. Отсрочка введения анти-CD20-терапии на 3–6 мес до вакцинации может увеличить выработку антител у пациентов [76].

По данным израильского исследования вакцины BNT162b2, у пациентов с РС не было зарегистрировано тяжёлых осложнений и аллергических реакций. Гриппоподобные реакции были зафиксированы у 2% и 4,8% пациентов после первой и второй доз вакцины соответственно. Между двумя дозами 3 (0,5%) пациента были инфицированы SARS-CoV-2, инфекция протекала бессимптомно или в лёгкой форме. Иммунный ответ на вакцинацию в 100% случаев был зарегистрирован у пациентов без терапии и у пациентов, которых лечили кладрибином, диметилфумаратом, натализумабом и терифлунамидом. Ответ был снижен у пациентов, получавших финголимод (9,5%), окрелизумаб (22,8%) и алемтузумаб (86,4%) [68, 77]. В описанных случаях вакцинации пациентов с РС на фоне приёма окрелизумаба [78–81] сообщается о низком иммунном ответе.

Преимущества вакцинации явно перевешивают любой потенциальный риск, связанный с введением вакцины в группе пациентов с РС. В настоящее время в России зарегистрированы 3 вакцины против COVID-19, они не являются живыми или аттенуированными: «Гам-КОВИД-Вак», «ЭпиВакКорона» и «КовиВак» [82]. В случае проведения терапии обострения метилпреднизолоном вакцинацию против COVID-19 следует отложить как минимум на 4 нед¹⁶. При проведении ВИСТ+АТГСК необходимо учитывать иммуносупрессивный эффект процедуры и запланировать вакцинацию до её проведения. Согласно рекомендациям, для БИ, ГА, диметилфумарата, терифлуномида, финголимода, сипонимода, натализумаба отмена препарата как средства повышения эффективности вакцинации не рекомендуется. В случае начала терапии этими препаратами необходимо завершить вакцинацию против COVID-19 как минимум за 4 нед до начала терапии [82]. Тем, кто уже принимает анти-CD20-терапию с 6-месячными интервалами, вакцинацию следует отложить до конца цикла, по крайней мере, до 12 нед после последней дозы препарата [82]. При терапии кладрибином вакцинацию можно проводить через 4 нед после последнего приёма препарата без снижения её эффективности и безопасности [78, 82].

Первичные демиелинизирующие заболевания центральной нервной системы после COVID-19 и вакцинации

Согласно описаниям клинических случаев, инфекция SARS-CoV-2 может вызвать активную воспалительную реакцию, которая может способствовать началу РС или его рецидиву [83–86], возникновению острого рассеянного энцефаломиелита [87–95] и заболеваниям спектра нейрооптикомиелита [96–98].

¹⁶ Societa Italiana di Neurologia. Raccomandazioni globali sul COVID-19 per le persone con SM. URL: <http://www.neuro.it/web/lib/> (дата обращения 10.01.2022).

После вакцинации возможен дебют РС [99], но немногочисленные данные показывают, что РС у пациентов, вероятно, протекает в клинической латентной форме ещё до вакцинации [100–102]. Вывод был сделан на основе МРТ головного мозга пациентов, у которых на снимках выявлялись старые и новые очаги демиелинизации. Описаны клинические случаи реактивации РС после введения векторной вакцины [100, 103]; заболеваний спектра нейрооптикомиелита и острого рассеянного энцефаломиелита после использования векторных [104–106], инактивированных [107–109] и матричных вакцин [110–112]. Отсутствие контрольных групп в данных случаях затрудняет установление причинно-следственной связи и временной взаимосвязи между введениями вакцины и развитием демиелинизирующих заболеваний.

В обширном исследовании английской когорты пациентов выявлено повышение риска госпитализации больных с острыми демиелинизирующими заболеваниями ЦНС после перенесённой инфекции COVID-19, в течение 2 нед после положительного теста. Однако не выявлено связи между вакцинацией препаратами ChAdOx1nCoV-19 (AstraZeneca) или BNT162b2 и госпитализацией с острым демиелинизирующим заболеванием ЦНС в течение 28 дней после вакцинации [113].

Заключение

Заболеваемость COVID-19 в популяции РС не выше, чем в общей популяции. Симптомы инфекции включают лихорадку, кашель, утомляемость, одышку, головную боль, anosmia, агевзию и не отличаются от симптомов у пациентов без РС. Среди факторов риска развития COVID-19 и более тяжёлого течения заболевания можно выделить пожилой возраст, высокий балл по шкале EDSS, наличие сопутствующих заболеваний. Среди факторов риска,

связанных с лечением РС, показано, что пульс-терапия преднизолоном в течение последнего месяца и приём анти-CD20 моноклональных антител ухудшают течение COVID-19. В случае заражения пациента вирусом SARS-CoV-2 считается безопасной терапия БИ и ГА, относительно безопасен при лёгком течении инфекции приём терифлуномада, диметилфумарата, финголимода. Использование других ПИТРС при инфекции требует временной отмены, изменения схемы приёма или перехода на другой препарат.

Случаи дебюта демиелинизирующих заболеваний после COVID-19 и вакцинации требуют тщательной оценки, осторожности медицинского персонала и показывают важность продолжения исследований в этой области. Нельзя утверждать, что вакцинация является пусковым механизмом развития РС, т.к. нет сравнительных исследований с контрольными группами пациентов, а случаи дебюта РС остаются относительно редкими. Степень долгосрочности иммунного ответа на вакцины против COVID-19 неизвестна, а эффективность введения вакцин в настоящее время оценивается. Среди ПИТРС в наибольшей степени препятствует развитию адекватного иммунного ответа на вакцинацию анти-CD20-терапия. В то же время общие преимущества вакцинации против COVID-19 нельзя недооценивать.

Наблюдательных исследований, оценивающих течение COVID-19 у пациентов с РС, опубликовано много, но значительная часть из них имеет существенные недостатки: малый объём выборки и неоднородность пациентов, сбор данных, основанных на самоотчётах пациентов, отсутствие лабораторного тестирования пациентов. Однако за короткое время выполнено большое количество клинических исследований, и их необходимо продолжить для получения более точных данных.

Список источников / References

- Colais P., Cascini S., Balducci M. et al. Impact of the COVID-19 pandemic on access to healthcare services amongst patients with multiple sclerosis in the Lazio region, Italy. *Eur. J. Neurol.* 2021;28(10):3403–3410. doi: 10.1111/ene.14879
- Safavi F., Nourbakhsh B., Azimi A.R. B-cell depleting therapies may affect susceptibility to acute respiratory illness among patients with multiple sclerosis during the early COVID-19 epidemic in Iran. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2020;43:102195. doi: 10.1016/j.msard.2020.102195
- Louapre C., Collongues N., Stankoff B. et al. Clinical characteristics and outcomes in patients with Coronavirus Disease 2019 and multiple sclerosis. *JAMA Neurol.* 2020;77(9):1079–1088. doi: 10.1001/jamaneurol.2020.2581
- Chaudhry F., Bulka H., Rathnam A.S. et al. COVID-19 in multiple sclerosis patients and risk factors for severe infection. *J. Neurol. Sci.* 2020;418:117147. doi: 10.1016/j.jns.2020.117147
- Zabalza A., Cárdenas-Robledo S., Tagliani P. et al. COVID-19 in multiple sclerosis patients: susceptibility, severity risk factors and serological response. *Eur. J. Neurol.* 2021;28(10):3384–3395. doi: 10.1111/ene.14690
- Parrotta E., Kister I., Charvet L. et al. COVID-19 outcomes in MS: observational study of early experience from NYU Multiple Sclerosis Comprehensive Care Center. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm.* 2020;7(5):e835. doi: 10.1212/NXI.0000000000000835
- Sormani M.P., Schiavetti I., Carmisciano L. et al. COVID-19 severity in multiple sclerosis: putting data into context. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm.* 2021;9(1):e1105. doi:10.1212/NXI.0000000000001105
- Evangelou N., Garjani A., dasNair R. et al. Self-diagnosed COVID-19 in people with multiple sclerosis: a community-based cohort of the UK MS Register. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2020;92(1):107–109. doi: 10.1136/jnnp-2020-324449
- Salter A., Fox R.J., Newsome S.D. et al. Outcomes and risk factors associated with SARS-CoV-2 infection in a North American registry of patients with multiple sclerosis. *JAMA Neurol.* 2021;78(6):699–708. doi: 10.1001/jamaneurol.2021.0688

- REDONE.br — Neuroimmunology Brazilian Study Group Focused on COVID-19 and MS. Incidence and clinical outcome of Coronavirus disease 2019 in a cohort of 11,560 Brazilian patients with multiple sclerosis. *Mult. Scler.* 2021:1352458520978354. doi: 10.1177/1352458520978354
- Oran D.P., Topol E.J. The proportion of SARS-CoV-2 infections that are asymptomatic: a systematic review. *Ann. Intern. Med.* 2021;174(5):655–662. doi: 10.7326/M20-6976
- Barzegar M., Mirmosayyeb O., Gajarzadeh M. et al. COVID-19 among patients with multiple sclerosis: a systematic review. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm.* 2021;8(4):e1001. doi: 10.1212/NXI.0000000000001001
- van Kempen Z.L.E., Strijbis E.M.M., Al M.M.C.T. et al. SARS-CoV-2 antibodies in adult patients with multiple sclerosis in the Amsterdam MS Cohort. *JAMA Neurol.* 2021;78(7):880–882. doi: 10.1001/jamaneurol.2021.1364
- Sormani M.P., De Rossi N., Schiavetti I. et al. Disease-modifying therapies and coronavirus disease 2019 severity in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 2021;89(4):780–789. doi: 10.1002/ana.26028
- Sormani M.P., Salvetti M., Labauge P. et al. DMTs and Covid-19 severity in MS: a pooled analysis from Italy and France. *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 2021;8(8):1738–1744. doi: 10.1002/acn3.51408
- Klineova S., Harel A., Straus Farber R. et al. Outcomes of COVID-19 infection in multiple sclerosis and related conditions: one-year pandemic experience of the multicenter New York COVID-19 Neuroimmunology Consortium (NYCNIC). *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2021;55:103153. doi: 10.1016/j.msard.2021.103153
- Zaki N., Alashwal H., Ibrahim S. Association of hypertension, diabetes, stroke, cancer, kidney disease, and high-cholesterol with COVID-19 disease severity and fatality: a systematic review. *Diabetes Metab. Syndr.* 2020;14(5):1133–1142. doi: 10.1016/j.dsx.2020.07.005
- Reider A.T., Centonze D., Naylor M.L. et al. COVID-19 in patients with multiple sclerosis: associations with disease-modifying therapies. *CNS Drugs.* 2021;35(3):317–330. doi: 10.1007/s40263-021-00804-1

19. Citterio A., La Mantia L., Ciucci G. et al. Corticosteroids or ACTH for acute exacerbations in multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2000;2000(4). doi: 10.1002/14651858.CD001331
20. Топузова М.П., Алексеева Т.М., Чайковская А.Д. и др. Особенности ведения пациентов с неврологическими заболеваниями в период пандемии COVID-19. *Артериальная гипертензия.* 2020;26(4):447–461. Топузова М.П., Алексеева Т.М., Чайковская А.Д. et al. The management of patients with neurological diseases during the COVID-19 pandemic. *Arterial hypertension.* 2020;26(4):447–461. (In Russ.) doi: 10.18705/1607-419X-2020-26-4-447-461
21. Kieseier B.C. The mechanism of action of interferon- β in relapsing multiple sclerosis. *CNS Drugs.* 2011;25(6):491–502. doi: 10.2165/11591110-000000000-00000
22. Jacobs L.D., Cookfair D.L., Rudick R.A. et al. Intramuscular interferon beta-1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis. The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG). *Ann. Neurol.* 1996;39(3):285–294. doi: 10.1002/ana.410390304
23. La Mantia L., Di Pietrantonj C., Rovaris M. et al. Interferons-beta versus glatiramer acetate for relapsing-remitting multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016;2016(11):CD009333. doi: 10.1002/14651858.CD009333.pub3
24. Newsome S.D., Kieseier B.C., Arnold D.L. et al. Subgroup and sensitivity analyses of annualized relapse rate over 2 years in the ADVANCE trial of peginterferon beta-1a in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *J. Neurol.* 2016;263(9):1778–1787. doi: 10.1007/s00415-016-8182-4
25. Berger J.R., Brandstadter R., Bar-Or A. COVID-19 and MS disease-modifying therapies. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm.* 2020;7(4):e761. doi: 10.1212/NXI.0000000000000761
26. Hung I.F., Lung K.C., Tso E.Y. et al. Triple combination of interferon beta-1b, lopinavir–ritonavir, and ribavirin in the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19: an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet.* 2020;395(10238):1695–1704. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31042-4
27. Ader F., Discovery French Trial Management Team. Protocol for the DisCoVeRy trial: multicentre, adaptive, randomised trial of the safety and efficacy of treatments for COVID-19 in hospitalised adults. *BMJ Open.* 2020;10(9):e041437. doi: 10.1136/bmjopen-2020-041437
28. Hauser S.L., Bar-Or A., Comi G. et al. Ocrelizumab versus interferon beta-1a in relapsing multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2017;376(3):221–234. doi: 10.1056/NEJMoa1601277
29. Cross A.H., Naismith R.T. Established and novel disease modifying treatments in multiple sclerosis. *J. Intern. Med.* 2014;275(4):350–363. doi: 10.1111/joim.12203
30. Comi G., Filippi M., Wolinsky J.S. European/Canadian multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study of the effects of glatiramer acetate on magnetic resonance imaging – measured disease activity and burden in patients with relapsing multiple sclerosis. European/Canadian Glatiramer Acetate Study Group. *Ann. Neurol.* 2001;49(3):290–297.
31. Khan O., Rieckmann P., Boyko A. et al. Three times weekly glatiramer acetate in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 2013;73(6):705–713. doi: 10.1002/ana.23938
32. Giovannoni G., Hawkes C., Lechner-Scott J. et al. The COVID-19 pandemic and the use of MS disease-modifying therapies. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2020;39:102073. doi: 10.1016/j.msard.2020.102073
33. Fox R.J., Miller D.H., Phillips J.T. et al. Placebo controlled, phase 3 study of oral BG-12 or glatiramer in multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2012;367:1087–1097. doi: 10.1056/NEJMoa1206328
34. Magne D., Mézin F., Palmer G., Guerne P.A. The active metabolite of leflunomide, A77 1726, increases proliferation of human synovial fibroblasts in presence of IL-1beta and TNF-alpha. *Inflamm. Res.* 2006;55(11):469–475. doi: 10.1007/s00011-006-5196-x
35. Paolicelli D., Manni A., Iafaldano A., Trojano M. Efficacy and safety of oral therapies for relapsing-remitting multiple sclerosis. *CNS Drugs.* 2020;34(1):65–92. doi: 10.1007/s40263-019-00691-7
36. Vermersch P., Czlonkowska A., Grimaldi L.M. et al. Teriflunomide versus subcutaneous interferon beta-1a in patients with relapsing multiple sclerosis: a randomised, controlled phase 3 trial. *Mult. Scler. J.* 2014;20(6):705–716. doi: 10.1177/1352458513507821
37. Gold R., Kappos L., Arnold D.L. et al. Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 for relapsing multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2012;367(12):1098–1107. doi: 10.1056/NEJMoa1114287
38. Xiong R., Zhang L., Li S. et al. Novel and potent inhibitors targeting DHODH are broad-spectrum antivirals against RNA viruses including newly-emerged coronavirus SARS-CoV-2. *Protein Cell.* 2020;11(10):723–739. doi: 10.1007/s13238-020-00768-w
39. Cabreira V., Abreu P., Soares-Dos-Reis R. et al. Multiple sclerosis, disease-modifying therapies and COVID-19: a systematic review on immune response and vaccination recommendations. *Vaccines (Basel).* 2021;9(7):773. doi: 10.3390/vaccines9070773
40. Bowen J.D., Brink J., Brown T.R. et al. COVID-19 in MS: initial observations from the Pacific Northwest. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm.* 2020;7(5):e783. doi: 10.1212/NXI.0000000000000783
41. Ciampi E., Uribe-San-Martin R., Cárcamo C. COVID-19 pandemic: the experience of a multiple sclerosis centre in Chile. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2020;42:102204. doi: 10.1016/j.msard.2020.102204
42. Maghzi A.H., Houtchens M.K., Preziosa P. et al. COVID-19 in teriflunomide-treated patients with multiple sclerosis. *J. Neurol.* 2020;267(10):2790–2796. doi: 10.1007/s00415-020-09944-8
43. Xu Z., Zhang F., Sun F. et al. Dimethyl fumarate for multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2015;2015(4). doi: 10.1002/14651858.CD011076.pub2
44. Capone F., Ferraro E., Motolese F., Di Lazzaro V. COVID-19 in multiple sclerosis patients treated with dimethyl fumarate. *J. Neurol.* 2021; 268(9):3132–3134. doi: 10.1007/s00415-021-10446-4
45. Mantero V., Abate L., Basilio P. et al. COVID-19 in dimethyl fumarate-treated patients with multiple sclerosis. *J. Neurol.* 2020;268:2023–2025. doi: 10.1007/s00415-020-10015-1
46. Zheng C., Kar I., Chen C.K. et al. Multiple sclerosis disease-modifying therapy and the COVID-19 pandemic: implications on the risk of infection and future vaccination. *CNS Drugs.* 2020;34(9):879–896. doi: 10.1007/s40263-020-00756-y
47. Calabresi P.A., Radue E.W., Goodin D. et al. Safety and efficacy of fingolimod in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis (FREEDOMS II): A double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Neurol.* 2014;13(6):545–556. doi: 10.1016/S1474-4422(14)70049-3
48. La Mantia L., Tramacere L., Firwana B. et al. Fingolimod for relapsing-remitting multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016;2016(4):CD009371. doi: 10.1002/14651858.CD009371.pub2
49. Хачанова Н.В., Бойко А.Н., Бахтиярова К.З. и др. Рекомендации экспертного совещания «Вторично-прогрессирующий рассеянный склероз: нерешенные вопросы и перспективы». *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* 2019;11(4):172–175.
- Khachanova N.V., Boyko A.N., Bakhtiyarova K.Z. et al. Recommendations from the Expert Meeting «Secondary progressive multiple sclerosis: unresolved issues and prospects». *Neurology, neuropsychiatry, psychosomatics.* 2019;11(4):172–175. (In Russ.)
50. Habek M., Jakob Brecl G., Bašič Kes V. et al. Humoral immune response in convalescent COVID-19 people with multiple sclerosis treated with high-efficacy disease-modifying therapies: A multicenter, case-control study. *J. Neuroimmunol.* 2021;359:577696. doi: 10.1016/j.jneuroim.2021.577696
51. Bsteh G., Dürauer S., Assar H. et al. Humoral immune response after COVID-19 in multiple sclerosis: a nation-wide Austrian study. *Mult. Scler.* 2021;27(14):2209–2218. doi: 10.1177/13524585211049391
52. Conte W.L. Attenuation of antibody response to SARS-CoV-2 in a patient on ocrelizumab with hypogammaglobulinemia. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2020;44:102315. doi: 10.1016/j.msard.2020.102315
53. Bollo L., Guerra T., Bavaro D.F. et al. Seroconversion and indolent course of COVID-19 in patients with multiple sclerosis treated with fingolimod and teriflunomide. *J. Neurol. Sci.* 2020;416:117011. doi: 10.1016/j.jns.2020.117011
54. Foerch C., Friedauer L., Bauer B. et al. Severe COVID-19 infection in a patient with multiple sclerosis treated with fingolimod. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2020;42:102180. doi: 10.1016/j.msard.2020.102180
55. Valencia-Sanchez C., Wingerchuk D.M. A fine balance: immunosuppression and immunotherapy in a patient with multiple sclerosis and COVID-19. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2020;42:102182. doi: 10.1016/j.msard.2020.102182
56. Rimmer K., Farber R., Thakur K. et al. Fatal COVID-19 in an MS patient on natalizumab: a case report. *Mult. Scler. J. Exp. Transl. Clin.* 2020;6(3):2055217320942931. doi: 10.1177/2055217320942931
57. Menge T., Dubey D., Warnke C. et al. Ocrelizumab for the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis. *Exp. Rev. Neurother.* 2016;16(10):1131–1139. doi: 10.1080/14737175.2016.1227242
58. Montalban X., Hauser S.L., Kappos L. et al. Ocrelizumab versus placebo in primary progressive multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2017;376(3):209–220. doi: 10.1056/NEJMoa1606468
59. Coles A.J., Twyman C.L., Arnold D.L. et al. Alemtuzumab for patients with relapsing multiple sclerosis after disease-modifying therapy: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet.* 2012;380(9856):1829–1839. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61768-1
60. Rommer P.S., Zettl U.K., Kieseier B. et al. Requirement for safety monitoring for approved multiple sclerosis therapies: an overview. *Clin. Exp. Immunol.* 2014;175(3):397–407. doi: 10.1111/cei.12206
61. Касаткин Д.С., Смирин Н.Н., Бойко А.Н., Власов Я.В. Унификация оценки побочных эффектов терапии препаратами, изменяющими течение рассеянного склероза. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2014;114(2-2):78–82.
- Kasatkin D., Spirin N., Boyko A., Vlasov Ya. Unification of the assessment of side effects of therapy with drugs that change the course of multiple sclerosis. *Journal of Neurology and Psychiatry named after S.S. Korsakov.* 2014;(2):78–82.
62. Sahraian M.A., Azimi A., Navardi S. et al. Evaluation of the rate of COVID-19 infection, hospitalization and death among Iranian patients with multiple sclerosis. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2020;46:102472. doi: 10.1016/j.msard.2020.102472
63. Попова Е.В. Клинический случай COVID-19 у пациента на терапии препаратом алектумзаб. *Медицинский совет.* 2021;(19):148–152. Porova E.V. Clinical case of COVID-19 in a patient treated with alemtuzumab. *Medical advice.* 2021;19:148–152. doi: 10.21518/2079-701X-2021-19-148-152

64. Iannetta M., Cesta N., Stingone C. et al. Mild clinical manifestations of SARS-CoV-2 related pneumonia in two patients with multiple sclerosis under treatment with ocrelizumab. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2020;45:102442. doi: 10.1016/j.msard.2020.102442
65. Wurm H., Attfield K., Iversen A.K. et al. Recovery from COVID-19 in a B-cell-depleted multiple sclerosis patient. *Mult. Scler.* 2020;26(10):1261–1264. doi: 10.1177/1352458520943791
66. Woo M.S., Steins D., Häußler V. et al. Control of SARS-CoV-2 infection in rituximab-treated neuroimmunological patients. *J. Neurol.* 2021;268(1):5–7. doi: 10.1007/s00415-020-10046-8
67. Maillart E., Papeix C., Lubetzki C. et al. Beyond COVID-19: DO MS/NMO-SD patients treated with anti-CD20 therapies develop SARS-CoV2 antibodies? *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2020;46:102482. doi: 10.1016/j.msard.2020.102482
68. Thornton J.R., Harel A. Negative SARS-CoV-2 antibody testing following COVID-19 infection in two MS patients treated with ocrelizumab. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2020;44:102341. doi: 10.1016/j.msard.2020.102341
69. Giovannoni G. Cladribine to treat relapsing forms of multiple sclerosis. *Neurotherapeutics.* 2017;14(4):874–887. doi: 10.1007/s13311-017-0573-4
70. Gelibter S., Orrico M., Filippi M., Moina L. COVID-19 with no antibody response in a multiple sclerosis patient treated with cladribine: implication for vaccination program? *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2021;49:102775. doi: 10.1016/j.msard.2021.102775
71. De Angelis M., Petracca M., Lanzillo R. et al. Mild or no COVID-19 symptoms in cladribine-treated multiple sclerosis: Two cases and implications for clinical practice. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2020;45:102452. doi: 10.1016/j.msard.2020.102452
72. Celius E.G. Normal antibody response after COVID-19 during treatment with cladribine. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2020;46:102476. doi: 10.1016/j.msard.2020.102476
73. Preziosa P., Rocca M.A., Nozzolillo A. et al. COVID-19 in cladribine-treated relapsing-remitting multiple sclerosis patients: a monocentric experience. *J. Neurol.* 2021;268(8):2697–2699. doi: 10.1007/s00415-020-10309-4
74. Lafarge A., Mabrouki A., Yvin E. et al. Coronavirus disease 2019 in immunocompromised patients: a comprehensive review of coronavirus disease 2019 in hematopoietic stem cell recipients. *Curr. Opin. Crit. Care.* 2022;28(1):83–89. doi: 10.1097/MCC.0000000000000907
75. Fernández-Ruiz M., Aguado J.M. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection in the stem cell transplant recipient — clinical spectrum and outcome. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2021;34(6):654–662. doi: 10.1097/QCO.0000000000000790
76. Disanto G., Sacco R., Bernasconi E. et al. Association of disease-modifying treatment and anti-CD20 infusion timing with humoral response to 2 SARS-CoV-2 vaccines in patients with multiple sclerosis. *JAMA Neurol.* 2021;78(12):1529–1531. doi: 10.1001/jamaneuro.2021.3609
77. Achiron A., Mandel M., Dreyer-Alster S. et al. Humoral immune response in multiple sclerosis patients following Pfizer/BNT162b2 COVID-19 vaccination: up to 6 months cross-sectional study. *J. Neuroimmunol.* 2021;361:577746. doi: 10.1016/j.jneuroim.2021.577746
78. Buttari F., Bruno A., Dolcetti E. et al. COVID-19 vaccines in multiple sclerosis treated with cladribine or ocrelizumab. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2021;52:102983. doi: 10.1016/j.msard.2021.102983
79. Khayat-Khoei M., Conway S., Rubinson D.A. et al. Negative anti-SARS-CoV-2 S antibody response following Pfizer SARS-CoV-2 vaccination in a patient on ocrelizumab. *J. Neurol.* 2021;268(10):3592–3594. doi: 10.1007/s00415-021-10463-3
80. Chilimuri S., Mantri N., Gongati S. et al. COVID-19 vaccine failure in a patient with multiple sclerosis on ocrelizumab. *Vaccines (Basel).* 2021;9(3):219. doi: 10.3390/vaccines9030219
81. Tillett R.L., Sevinsky J.R., Hartley P.D. et al. Genomic evidence for reinfection with SARS-CoV-2: a case study. *Lancet Infect. Dis.* 2021;21(1):52–58. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30764-7
82. Хачанова НВ, Тоголян НА, Власов ЯВ и др. Рекомендации по вакцинации пациентов с рассеянным склерозом от COVID-19. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* 2021;13(2):157–161.
83. Khachanova N.V., Totolyan N.A., Vlasov Ya.V. et al. COVID-19 vaccination guidelines for patients with multiple sclerosis. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics.* 2021;13(2):157–161. DOI: 10.14412/20742711-2021-2-157-161
84. Pignolo A., Aprile M., Gagliardo C. et al. Clinical onset and multiple sclerosis relapse after SARS-CoV-2 infection. *Neural. Int.* 2021;13(4):695–700. doi: 10.3390/neurolint13040066
85. Moore L., Ghannam M., Manousakis G. A first presentation of multiple sclerosis with concurrent COVID-19 infection. *eNeurologicalSci.* 2021;22:100299. doi: 10.1016/j.ensci.2020.100299
86. Palao M., Fernández-Díaz E., Gracia-Gil J. et al. Multiple sclerosis following SARS-CoV-2 infection. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2020;45:102377. doi: 10.1016/j.msard.2020.102377
87. Yavari F., Raji S., Moradi F., Saedi M. Demyelinating changes alike to multiple sclerosis: a case report of rare manifestations of COVID-19. *Case Rep. Neurol. Med.* 2020;2020:6682251. doi: 10.1155/2020/6682251
88. Berrichi S., Bouayed Z., Berrajaa S. et al. Acute disseminated encephalomyelitis: a rare form of COVID-19's neurotropism. *Ann. Med. Surg. (Lond).* 2021;71:102940. doi: 10.1016/j.amsu.2021.102940
89. Ozgen Kenangil G., Ari B.C., Guler C., Demir M.K. Acute disseminated encephalomyelitis-like presentation after an inactivated coronavirus vaccine. *Acta Neurol. Belg.* 2021;121(4):1089–1091. doi: 10.1007/s13760-021-01699-x
90. Cao L., Ren L. Acute disseminated encephalomyelitis after severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 vaccination: a case report. *Acta Neurol. Belg.* 2022;122(3):793–795. doi: 10.1007/s13760-021-01608-2
91. Wong P.F., Craik S., Newman P. et al. Lessons of the month 1: a case of rhombencephalitis as a rare complication of acute COVID-19. *Clin. Med.* 2020;20:293–299. doi: 10.7861/clinmed.2020-0182
92. Utukuri P.S., Bautista A., Lignelli A., Moonis G. Possible acute disseminated encephalomyelitis related to severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection. *Am. J. Neuroradiol.* 2020;41:E82–E83. doi: 10.3174/ajnr.A6714
93. Paterson R.W., Brown R.L., Benjamin L. et al. The emerging spectrum of COVID-19 neurology: clinical, radiological and laboratory findings. *Brain.* 2020;143:3104–3120. doi: 10.1093/brain/awaa240
94. Novi G., Rossi T., Pedemonte E. et al. Acute disseminated encephalomyelitis after SARS-CoV-2 infection. *Neural. Neuroimmunol. Neuroinflamm.* 2020;7:e797. doi: 10.1212/NXI.0000000000000797
95. Otluoğlu G.D., Yener U., Demir M.K., Yılmaz B. Encephalomyelitis associated with COVID-19 infection: case report. *Br. J. Neurosurg.* 2020:1–3. doi: 10.1080/02688697.2020.1787342
96. McCuddy M., Kelkar P., Zhao Y., Wicklund D. Acute demyelinating encephalomyelitis (ADEM) in COVID-19 infection: a case series. *Neurol. India.* 2020;68(5):1192–1195. doi: 10.4103/0028-3886.299174
97. de Ruijter N.S., Kramer G., Gons R.A.R., Hengstman G.J.D. Neuromyelitis optica spectrum disorder after presumed COVID-19 infection: a case report. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2020;46:102474. doi: 10.1016/j.msard.2020.102474
98. Ghosh R., De K., Roy D. et al. A case of area postrema variant of neuromyelitis optica spectrum disorder following SARS-CoV-2 infection. *J. Neuroimmunol.* 2020;350:577439. doi: 10.1016/j.jneuroim.2020.577439
99. Batum M., Kisabay Ak A., Mavioglu H. COVID-19 infection-induced neuromyelitis optica: a case report. *Int. J. Neurosci.* 2022;132(10):999–1004. doi: 10.1080/00207454.2020.1860036
100. Toljan K., Amin M., Kunchok A., Ontaneda D. New diagnosis of multiple sclerosis in the setting of mRNA COVID-19 vaccine exposure. *J. Neuroimmunol.* 2022;362:577785. doi: 10.1016/j.jneuroim.2021.577785
101. Khayat-Khoei M., Bhattacharyya S., Katz J. et al. COVID-19 mRNA vaccination leading to CNS inflammation: a case series. *J. Neurol.* 2022;269(3):1093–1106. doi: 10.1007/s00415-021-10780-7
102. Havla J., Schultz Y., Zimmermann H. et al. First manifestation of multiple sclerosis after immunization with the Pfizer-BioNTech COVID-19 vaccine. *J. Neurol.* 2022;269(1):55–58. doi: 10.1007/s00415-021-10648-w
103. Fujimori J., Miyazawa K., Nakashima I. Initial clinical manifestation of multiple sclerosis after immunization with the Pfizer-BioNTech COVID-19 vaccine. *J. Neuroimmunol.* 2021;361:577755. doi: 10.1016/j.jneuroim.2021.577755
104. Voysey M., Clemens S.A.C., Madhi S.A. et al. Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *Lancet.* 2021;397(10269):98–111. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32661-1
105. Badrawi N., Kumar N., Albastaki U. Post COVID-19 vaccination neuromyelitis optica spectrum disorder: Case report & MRI findings. *Radiol. Case Rep.* 2021;16(12):3864–3867. doi: 10.1016/j.radcr.2021.09.033
106. Permezel F., Borojevic B., Lau S., de Boer H.H. Acute disseminated encephalomyelitis (ADEM) following recent Oxford/AstraZeneca COVID-19 vaccination. *Forensic Sci. Med. Pathol.* 2022;18(1):74–79. doi: 10.1007/s12024-021-00440-7
107. Rinaldi V., Bellucci G., Romano A. et al. ADEM after ChAdOx1 nCoV-19 vaccine: a case report. *Mult. Scler.* 2022;28(7):1151–1154. doi: 10.1177/13524585211040222
108. Chen S., Fan X.R., He S. et al. Watch out for neuromyelitis optica spectrum disorder after inactivated virus vaccination for COVID-19. *Neurol. Sci.* 2021;42(9):3537–3539. doi: 10.1007/s10072-021-05427-4
109. Cao L., Ren L. Acute disseminated encephalomyelitis after severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 vaccination: a case report. *Acta Neurol. Belg.* 2022;122(3):793–795. doi: 10.1007/s13760-021-01608-2
110. Ozgen Kenangil G., Ari B.C., Guler C., Demir M.K. Acute disseminated encephalomyelitis-like presentation after an inactivated coronavirus vaccine. *Acta Neurol. Belg.* 2021;121(4):1089–1091. doi: 10.1007/s13760-021-01699-x
111. Fujikawa P., Shah F.A., Braford M. et al. Neuromyelitis optica in a healthy female after Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 mRNA-1273 vaccine. *Cureus.* 2021;13(9):e17961. doi: 10.7759/cureus.17961
112. Shimizu M., Ogaki K., Nakamura R. et al. An 88-year-old woman with acute disseminated encephalomyelitis following messenger ribonucleic acid-based COVID-19 vaccination. *eNeurologicalSci.* 2021;25:100381. doi: 10.1016/j.ensci.2021.100381
113. Kania K., Ambrosius W., Tokarz Kupczyk E., Kozubski W. Acute disseminated encephalomyelitis in a patient vaccinated against SARS-CoV-2. *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 2021;8(10):2000–2003. doi: 10.1002/acn3.51447
114. Patone M., Handunnetthi L., Saati D. et al. Neurological complications after first dose of COVID-19 vaccines and SARS-CoV-2 infection. *Nat. Med.* 2021;27(12):2144–2153. doi: 10.1038/s41591-021-01556-7

Информация об авторах

Малько Валерия Алексеевна — аспирант каф. неврологии и психиатрии с клиникой ИМО ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Россия,

<https://orcid.org/0000-0003-2230-3750>

Бисага Геннадий Николаевич — д.м.н., профессор каф. неврологии и психиатрии с клиникой ИМО ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Россия,

<https://orcid.org/0000-0002-1848-8775>

Топузова Мария Петровна — к.м.н., доцент каф. неврологии и психиатрии с клиникой ИМО, с.н.с. НИЛ новой коронавирусной инфекции и постковидного синдрома НЦМУ «Центр персонализированной медицины» ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Россия,

<https://orcid.org/0000-0002-0175-3085>

Терновых Иван Константинович — ассистент каф. неврологии и психиатрии с клиникой ИМО ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Россия,

<https://orcid.org/0000-0002-0074-4021>

Алексеева Татьяна Михайловна — д.м.н., профессор, зав. каф. неврологии и психиатрии ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Россия,

<https://orcid.org/0000-0002-4441-1165>

Вклад авторов. *Малько В.А.* — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста; *Бисага Г.Н., Топузова М.П., Алексеева Т.М.* — концепция и дизайн исследования, редактирование; *Терновых И.К.* — сбор и обработка материала, написание текста. Все авторы прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Information about the authors

Valeriya A. Malko — postgraduate student, Department of neurology and psychiatry with the clinic, Medical Education Institute, Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2230-3750>

Gennady N. Bisaga — D. Sci. (Med.), Professor, Department of neurology and psychiatry with the clinic, Medical Education Institute, Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1848-8775>

Mariya P. Topuzova — Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of neurology and psychiatry with the clinic, Medical Education Institute, senior researcher, Research laboratory of new Coronavirus infection and postcovid syndrome of the world-class scientific center "Center for Personalized Medicine", Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0175-3085>

Ivan K. Ternovykh — assistant, Department of neurology and psychiatry with the clinic, Medical Education Institute, Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0074-4021>

Tatyana M. Alekseeva — D. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of neurology and psychiatry with the clinic, Medical Education Institute, Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-4441-1165>

Author contribution. *Malko V.A.* — conceive and design of the study, collection and processing of material, writing a text of article; *Bisaga G.N., Topuzova M.P., Alekseeva T.M.* — conceive and design of the study, editing; *Ternovykh I.K.* — collection and processing of material, writing a text of article. All authors made a final approval of the version to be published.



Некоторые факторы риска аневризматического субарахноидального кровоизлияния

П.Г. Шнякин^{1,2}, И.А. Казадаева¹

¹ФГБОУ «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого», Красноярск, Россия;

²КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Красноярск, Россия

Аннотация

Представлен обзор современной литературы о влиянии сезонных, метеорологических и циркадных факторов на риск разрыва церебральных аневризм. Выявлено, что наиболее часто разрыв церебральных аневризм случается в зимнее и весеннее время года, наиболее редко — летом. Максимальное количество случаев аневризматического субарахноидального кровоизлияния происходит утром, между 8 и 12 ч. Данные по влиянию метеорологических факторов на риск разрыва церебральных аневризм противоречивы, при этом можно отметить, что колебания атмосферного давления и снижение температуры воздуха сопряжены с риском аневризматического субарахноидального кровоизлияния.

Ключевые слова: субарахноидальное кровоизлияние; аневризма; факторы риска

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешних источников финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Адрес для корреспонденции: Россия, 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1. E-mail: inna.alex913@gmail.com. Казадаева И.А.

Для цитирования: Шнякин П.Г., Казадаева И.А. Некоторые факторы риска аневризматического субарахноидального кровоизлияния. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2023;17(2):61–64.
DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.8>

Поступила 06.05.2022 / Принята в печать 17.06.2022 / Опубликовано 25.06.2023

Several Risk Factors for Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage

Pavel G. Shnyakin^{1,2}, Inna A. Kazadaeva¹

¹Professor V.F. Voino-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia;

²Krasnoyarsk Regional Clinical Hospital, Krasnoyarsk, Russia

Abstract

We reviewed current literature on the role of seasonal, meteorological, or circadian factors in ruptured cerebral aneurysms. We found that cerebral aneurysm rupture most frequently occurs in winter and spring, and less frequently — in summer. The highest number of ruptured cerebral aneurysms happens in the morning, between 8 am and 12 pm. The data regarding meteorological factors' effect on the risk of cerebral aneurysm rupture are conflicting. However, it should be noted that changes in barometric pressure and falling temperature are associated with the risk of aneurysmal subarachnoid hemorrhage.

Keywords: subarachnoid hemorrhage; aneurysm; risk factors

Source of funding. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For correspondence: 660022, Russia, Krasnoyarsk, Partisan Zheleznyak Str., 1. E-mail: inna.alex913@gmail.com. Kazadaeva I.A.

For citation: Shnyakin P.G., Kazadaeva I.A. Several risk factors for aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Annals of Clinical and Experimental Neurology.* 2023;17(2):61–64. (In Russ.)
DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.8>

Received 06.05.2022 / Accepted 17.06.2022 / Published 25.06.2023

Внейрохирургической литературе и научных публикациях подробно описаны факторы риска разрывов церебральных аневризм (ЦА). Среди них выделяют модифицируемые (артериальная гипертензия, курение, злоупотребление алкоголем) и немодифицируемые факторы риска, в первую очередь, связанные с размерами, формой и локализацией аневризм, а также с возрастом, женским полом и наследственным анамнезом субарахноидального кровоизлияния (САК) [1, 2]. Несколько меньше внимание уделяется другим немодифицируемым факторам риска, таким как сезонные, метеорологические факторы и циркадные ритмы, влияние которых на риск разрыва ЦА отмечено в ряде исследований [1, 3–7, 8–14, 15–21].

Изучение сезонных, метеорологических и циркадных факторов риска поможет углубить существующее представление об общем патогенезе цереброваскулярной патологии и разрывах ЦА, в частности. В данной работе представлен обзор научных публикаций по обозначенной проблеме.

Аневризматическое субарахноидальное кровоизлияние в разное время года

При изучении сезонных колебаний того или иного заболевания необходимо принимать во внимание климат определённой территории и изменения средней температуры и влажности в разные сезоны года, в связи с чем не всегда возможно суммировать полученные данные и проводить сравнительный анализ разных стран и континентов. Тем не менее относительно разрывов ЦА большинство исследователей из разных стран отмечают, что в летнее время они случаются значительно реже, чем в зимний и весенний периоды [1, 3, 7, 9, 16, 22–26]. В метаанализе W.A.A. de Steenhuijsen Piters и соавт., включающем 72 694 пациентов с аневризматическим САК, выявлено, что наиболее часто разрывы аневризм случаются в январе, а наиболее редко — в период с июня по сентябрь [7]. Возможно, выявленные сезонные закономерности связаны не только с изменениями температуры и влажности воздуха, но и с продолжительностью светового дня. В исследовании французских учёных J.P. Lejeune и соавт. короткий световой день явился одним из самых значимых факторов риска разрыва ЦА среди других внешних факторов [23]. В исследовании P.M. Lai и соавт. на основании анализа 16 970 пациентов с САК, поступивших в американские клиники в 2001–2010 гг., также отмечается, что снижение продолжительности светового дня является значимым фактором риска развития аневризматического САК [27].

Большинство исследователей, занимающихся изучением влияния времени года на риск разрыва ЦА, раздельно оценивают мужчин и женщин, а также подразделяют исследуемых на разные возрастные группы. T. Inagawa и соавт. выявили, что САК зимой встречается значимо чаще, чем летом, но только у лиц моложе 59 лет, не имеющих других существенных факторов риска. У мужчин и женщин старше 59 лет сезонных колебаний разрыва ЦА не наблюдалось [10]. Похожие данные обнаруживаются в исследовании учёных из Цюриха: пик разрывов аневризм приходился на весну, но только у лиц моложе 60 лет [24].

Несколько иные данные получены в исследовании H. Ishihara и соавт., которые выявили сезонную зависимость аневризматического САК только у пациентов старше 50 лет,

особенно среди женщин [11]. В возрасте 50–69 лет наиболее часто разрыв ЦА среди женщин случался в октябре, наиболее редко — в июне, в возрасте старше 70 лет — наиболее часто в декабре, наиболее редко — в июле. У мужчин выявлена сезонная зависимость только в группе старше 70 лет, где пик разрывов аневризм приходился на январь.

Аневризматическое субарахноидальное кровоизлияние и метеорологические факторы риска

Большой интерес представляют исследования о влиянии метеорологических параметров на риск разрыва ЦА. Наиболее вероятно именно через изменения метеорологических условий реализуются сезонные колебания аневризматического САК.

Некоторые исследователи не нашли статистически значимых закономерностей между метеорологическими параметрами и риском разрыва ЦА [5, 15]. Среди этих исследований продуманностью дизайна и качеством статистического анализа выделяется исследование M.C. Neidert и соавт., которые изучили метеорологические параметры при поступлении 511 пациентов с САК в клинику в Цюрихе. Авторы не обнаружили статистически значимого влияния продолжительности светового дня, атмосферного давления, температуры, влажности и силы ветра на риск разрыва аневризм. Несмотря на качество данного исследования, стоит отметить, что оно является одноцентровым с достаточно небольшой выборкой для решения такой масштабной задачи.

Влияние атмосферного давления на риск развития инсульта имеет длительную историю исследования. E. Slatina и соавт. изучили влияние атмосферного давления на все виды инсульта и выявили, что небольшие колебания атмосферного давления значимо не сказываются на повышении риска развития инсульта и только экстремально низкие или экстремально высокие изменения атмосферного давления сопряжены с риском нарушений мозгового кровообращения [18].

Рядом авторов обнаружена связь между повышенным атмосферным давлением и риском разрыва ЦА [3, 22, 14]. Американские исследователи M. Kellogg и соавт. по данным анализа 312 пациентов с аневризматическим САК, поступивших в клинику Нью-Джерси, выявили тенденцию к повышению частоты поступлений при повышении атмосферного давления [12]. M. Li и соавт., проведя подобное исследование, в котором участвовало 1751 пациент с аневризматическим САК, выявили, что высокое среднесуточное атмосферное давление является значимым фактором риска разрывов ЦА [14]. Похожие данные опубликованы в анализе 5-летнего многоцентрового исследования Q. Huang и соавт., где повышенное атмосферное давление было сопряжено с риском разрыва ЦА [22].

M. Kockler и соавт. выявили слабую статистическую связь между повышением атмосферного давления и повышением частоты аневризматического САК через 3 дня [13].

Обратная ситуация выявлена в исследовании E. Шу и соавт.: выявлена статистически значимая связь между понижением атмосферного давления и аневризматическим САК [9].

Учитывая разноречивые данные по влиянию атмосферного давления на риск аневризматического САК, возможно предположить, что на разрыв ЦА влияет не высокое или низкое

атмосферное давление, а его колебание в короткий промежуток времени, что, возможно, оказывает влияние на повышение артериального давления у пациентов и повышает риск разрыва ЦА. Так, в исследовании голландских учёных С.Е. van Donkelaar и соавт., включающем анализ 1535 пациентов с аневризматическим САК за 2000–2015 гг., выявлена статистически значимая связь между изменением атмосферного давления (в предшествующие 2–3 дня) и развитием САК [25].

Связь низкой температуры воздуха с разрывом ЦА отмечена в ряде исследований [3, 12, 14, 22, 23]. В этой связи обозначенное ранее повышение количества САК в зимний период может быть сопряжено как со снижением продолжительности светового дня, так и со снижением средней температуры воздуха.

Представляет интерес исследование R.S. Gill и соавт., которые выявили, что не низкая температура воздуха является фактором риска разрыва ЦА, а её значительное снижение от одного дня к другому. Примечательно, что особенно сильная связь между этими событиями выявлена у женщин [28]. Таким образом, как и в исследованиях о влиянии атмосферного давления, фактором риска, возможно, является не высокая или низкая температура воздуха, а её колебания (в первую очередь в сторону снижения), что опять же может влиять на колебания артериального давления у пациента.

Стоит отметить, что имеются исследования, где не удалось выявить связи между температурой воздуха и риском разрыва аневризм [8, 29]. М.А. Hughes и соавт. в пятилетнем ретроспективном анализе не обнаружили влияния изменений температуры воздуха и колебаний атмосферного давления на частоту аневризматического САК, при этом выявили, что высокая влажность являлась статистически значимым фактором риска. Однако в ряде других исследований влияние влажности воздуха на риск разрыва ЦА не подтвердилось [3, 4, 6, 13].

Аневризматическое субарахноидальное кровоизлияние и циркадные ритмы

Большинством исследователей, изучающих влияние циркадных ритмов на развитие аневризматического САК, установлено, что в утренние часы случается максимальное количество разрывов аневризм [1, 16, 19–21, 30].

В исследовании R.E. Temes и соавт. доказывалось, что в ночное время наблюдается минимальное количество разрывов аневризм, а в утренние часы — максимальное, при этом пик разрывов аневризм приходится на 7–8 утра. Интересно, что к утренним разрывам аневризм были более предрасположены некурящие, чем курильщики [20].

Список источников / References

1. Inagawa T., Takechi A., Yahara K. et al. Primary intracerebral and aneurysmal subarachnoid hemorrhage in Izumo City, Japan. Part I: incidence and seasonal and diurnal variations. *J. Neurosurg.* 2000;93(6):958–966. doi: 10.5137/1019-5149.JTN.29821-20.2
2. Lee J.M., Jung N.Y., Kim M.S. et al. Relationship between circadian variation in ictus of aneurysmal subarachnoid hemorrhage and physical activity. *J. Korean Neurosurg. Soc.* 2019;62(5):519–525. doi: 10.3340/jkns.2019.0061
3. Abe T., Ohde S., Ishimatsu S. et al. Effects of meteorological factors on the onset of subarachnoid hemorrhage: a time-series analysis. *J. Clin. Neurosci.* 2008;15(9):1005–1010. doi: 10.1016/j.jocn.2007.07.081

Важные сведения по циркадным ритмам и их связи с инсультом обнаруживаются в исследовании М.А. Sloan и соавт., которые, как и многие другие исследователи, выявили, что разрывы аневризм чаще случаются в утренние часы, но, что самое интересное, эта закономерность обнаружена только среди лиц, имеющих в анамнезе гипертоническую болезнь [19]. Таким образом, возможно предположить, что циркадные ритмы связаны с риском разрыва ЦА опосредованно, через их влияние на подёмы артериального давления у лиц с гипертонической болезнью.

Низкая частота разрывов аневризм в вечернее и ночное время также может быть объяснена меньшей физической активностью в эти часы. Однако не все исследователи согласны с этим мнением. J.M. Lee и соавт. выявили два периода наиболее частого разрыва ЦА в течение суток: с 8 до 12 ч утра (максимальное количество) и с 16 до 20 ч [2]. Самое интересное в данной работе заключается в анализе влияния фактора физической активности в разное время суток на риск разрыва аневризм. В ходе исследования было доказано, что, независимо от физической активности или её отсутствия в указанные временные интервалы (с 8 до 12 ч и с 16 до 20 ч), происходило максимальное количество разрывов аневризм у лиц обо-его пола и всех возрастов В этой связи авторы считают циркадные ритмы независимым фактором риска разрывов ЦА.

Некоторые исследователи проводили анализ частоты инсультов в зависимости от дня недели и выявили, что инсульты чаще встречаются в будние дни, чем в выходные, при этом наиболее часто — в понедельник [17, 26]. Однако отдельных данных по разрывам аневризм в зависимости от дня недели не обнаружено.

На основании проведённого обзора литературы получены неодинаковые данные о влиянии сезонных, метеорологических и временных факторов на риск разрыва ЦА. При этом можно выделить некоторые закономерности, которые встречаются в большинстве исследований. Так, разрывы ЦА чаще случаются в зимнее и весеннее время и преимущественно в утренние часы. Колебания атмосферного давления (преимущественно в сторону его повышения) и температуры воздуха (в сторону снижения) сопряжены с риском аневризматического САК.

Наиболее вероятно, что сезонные, метеорологические и циркадные факторы риска разрывов ЦА реализуются через их влияние на общий гомеостаз, гормональный статус и, в конечном счёте, на артериальное давление, повышение которого и приводит к увеличению риска аневризматического САК.

4. Bano-Ruiz E., Abarca-Olivas J., Duart-Clemente J.M. et al. Influence of the atmospheric pressure and other variable weather on the incidence of the subarachnoid hemorrhage. *Neurocirugia (Astur)*. 2010;21(1):14–21.
5. Besoglu K., Hänggi D., Stummer W. et al. Dependence of subarachnoid hemorrhage on climate conditions: a systematic meteorological analysis from the Dusseldorf metropolitan area. *Neurosurgery*. 2008;62(5):1033–1038. doi: 10.1227/01.neu.0000325864.91584.c7
6. Cao Y., Wang X., Zheng D. et al. Air pressure, humidity and stroke occurrence: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2016;13(7):675. doi: 10.3390/ijerph13070675

7. de Steenhuisen Piters W.A.A., Algra A., van den Broek M.F.M. et al. Seasonal and meteorological determinants of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review and meta-analysis. *J. Neurol.* 2013;260(2):614–619. doi: 10.1007/s00415-012-6687-z
8. Hughes M.A., Grover P.J., Butler C.R. et al. A 5-year retrospective study assessing the association between seasonal and meteorological change and incidence of aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Br. J. Neurosurg.* 2010;24(4):396–400. doi: 10.3109/02688697.2010.499154
9. Illy E., Gerss J., Fischer B.R. et al. Influence of meteorological conditions on the incidence of chronic subdural haematoma, subarachnoid and intracerebral haemorrhages — the “Bleeding Weather Hypothesis”. *Turk. Neurosurg.* 2020;30(6):892–898. doi: 10.5137/1019-5149.JTN.29821-20.2
10. Inagawa T. Seasonal variation in the incidence of aneurysmal subarachnoid hemorrhage in hospital- and community-based studies. *J. Neurosurg.* 2002;96(3):497–509. doi: 10.3171/jns.2002.96.3.0497
11. Ishihara H., Kunitsugu I., Nomura S. et al. Seasonal variation in the incidence of aneurysmal subarachnoid hemorrhage associated with age and gender: 20-year results from the Yamaguchi cerebral aneurysm registry. *Neuroepidemiology.* 2013;41(1):7–12. doi: 10.1159/000345247
12. Kellogg M., Petrov D., Agarwal N. et al. Effects of meteorological variables on the incidence of rupture of intracranial aneurysms in Central New Jersey. *J. Neurol. Surg. A Cent. Eur. Neurosurg.* 2017;78(3):238–244. doi: 10.1055/s-0036-1594308
13. Kockler M., Schlattmann P., Walthert M. et al. Weather conditions associated with subarachnoid hemorrhage: a multicenter case-crossover study. *BMC Neurol.* 2021;21(1):283. doi: 10.1186/s12883-021-02312-7
14. Li M., Hu S., Yu N. et al. Association between meteorological factors and the rupture of intracranial aneurysms. *J. Am. Heart Assoc.* 2019;8(17):e012205. doi: 10.1161/JAHA.119.012205
15. Neidert M.C., Sprenger M., Wernli H. et al. Meteorological influences on the incidence of aneurysmal subarachnoid hemorrhage — a single center study of 511 patients. *PLoS One.* 2013;8(12):e81621. doi: 10.1371/journal.pone.0081621
16. Nyquist P.A., Brown Jr R.D., Wiebers D.O. et al. Circadian and seasonal occurrence of subarachnoid and intracerebral hemorrhage. *Neurology.* 2001;56(2):190–193. doi: 10.1212/wnl.56.2.190
17. Shigematsu K., Watanabe Y., Nakano H. et al. Weekly variations of stroke occurrence: an observational cohort study based on the Kyoto Stroke Registry, Japan. *BMJ Open.* 2015;5(3):e006294. doi: 10.1136/bmjopen-2014-006294
18. Slatina E., Music M., Babic N. et al. Correlation of barometer pressure and incidence of cerebrovascular insult. *Mater. Sociomed.* 2012;24(4):232–237. doi: 10.5455/msm.2012.24.232-237
19. Sloan M.A., Price T.R., Foulkes M.A. Circadian rhythmicity of stroke onset. Intracerebral and subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 1992;23(10):1420–1426. doi: 10.1161/01.str.23.10.1420
20. Temes R.E., Bleck Th., Dugar S. et al. Circadian variation in ictus of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit. Care.* 2012;16(2):219–223. doi: 10.1007/s12028-011-9640-6
21. Turin T.Ch., Kita Y., Rumana N. et al. Diurnal variation in onset of hemorrhagic stroke is independent of risk factor status: Takashima Stroke Registry. *Neuroepidemiology.* 2010;34(1):25–33. doi: 10.1159/000255463
22. Huang Q., Lin S.W., Hu W.P. et al. Meteorological variation is a predisposing factor for aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a 5-year multicenter study in Fuzhou, China. *World Neurosurg.* 2019;132:687–695. doi: 10.1016/j.wneu.2019.08.048
23. Lejeune J.P., Vinchon M., Amouyel P. et al. Association of occurrence of aneurysmal bleeding with meteorologic variations in the north of France. *Stroke.* 2004;25:338–341. doi: 10.1161/01.str.25.2.338
24. Muroi C., Yonekawa Y., Khan N. et al. Seasonal variations in hospital admissions due to aneurysmal subarachnoid haemorrhage in the state of Zurich, Switzerland. *Acta Neurochir. (Wien).* 2004;146(7):659–665. doi: 10.1007/s00701-004-0278-4
25. van Donkelaar C.E., Potgieser A.R.E., Groen H. et al. Atmospheric pressure variation is a delayed trigger for aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *World Neurosurg.* 2018;112:783–790. doi: 10.1016/j.wneu.2018.01.155
26. Wang H., Sekine M., Chen X. et al. A study of weekly and seasonal variation of stroke onset. *Int. J. Biometeorol.* 2002;7(1):13–20. doi: 10.1007/s00484-002-0147-x
27. Lai P.M., Dasenbrock H., Du R. The association between meteorological parameters and aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a nationwide analysis. *PLoS One.* 2014;9(11):e112961. doi: 10.1371/journal.pone.0112961
28. van Donkelaar C.E., Potgieser A.R.E., Groen H. et al. Atmospheric pressure variation is a delayed trigger for aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *World Neurosurg.* 2018;112:783–790. doi: 10.1016/j.wneu.2018.01.155
29. McDonald R.J., McDonald J.S., Bida J.P. et al. Subarachnoid hemorrhage incidence in the United States does not vary with season or temperature. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 2012;33(9):1663–1668. doi: 10.3174/ajnr.A3059
30. Vermeer S.E., Rinkel G.J., Algra A. et al. Circadian fluctuations in onset of subarachnoid hemorrhage. New data on aneurysmal and perimesencephalic hemorrhage and a systematic review. *Stroke.* 1997;28(4):805–808. doi: 10.1161/01.str.28.4.805

Информация об авторах

Шнякин Павел Геннадьевич — д.м.н., доцент, зав. каф. травматологии, ортопедии и нейрохирургии с курсом ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого», Красноярск, Россия; зам. руководителя регионального сосудистого центра КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Красноярск, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-6321-4557>

Каздаева Инна Александровна — ординатор кафедры нервных болезней с курсом ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого», Красноярск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1562-6976>

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Information about the authors

Pavel G. Shnyakin — D. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Head, Department of traumatology, orthopedics and neurosurgery with a course of postgraduate education, Professor V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia; Head, Regional Vascular Center, Regional Clinical Hospital, Krasnoyarsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-6321-4557>

Inna A. Kazadaeva — resident, Department of nervous diseases with a course of postgraduate education, Professor V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1562-6976>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.



Анти-В-клеточная терапия в авангарде лечения демиелинизирующих заболеваний центральной нервной системы

Т.О. Симанив, А.А. Белкина, М.Н. Захарова

ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия

Аннотация

Демиелинизирующие заболевания центральной нервной системы в целом и рассеянный склероз в частности являются актуальной медико-социальной проблемой. Разработка и внедрение в практику высокоэффективной патогенетической терапии существенно влияет на замедление развития заболевания и позволяет пациентам сохранять качество жизни и социальную активность. В настоящем обзоре проанализированы патогенетические механизмы развития рассеянного склероза и других заболеваний, связанных с В-клеточным звеном иммунитета, и рассмотрены терапевтические подходы, направленные на основные этапы патологического процесса.

Ключевые слова: рассеянный склероз; патогенез; иммуномодулирующая терапия; В-лимфоциты; демиелинизирующие заболевания; центральная нервная система

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешних источников финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Адрес для корреспонденции: 125367, Москва, Волоколамское шоссе, д. 80. ФГБНУ «Научный центр неврологии». E-mail: simaniv@neurology.ru. Симанив Т.О.

Для цитирования: Симанив Т.О., Белкина А.А., Захарова М.Н. Анти-В-клеточная терапия в авангарде лечения демиелинизирующих заболеваний центральной нервной системы. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2023;17(2):65–74.

DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.9>

Поступила 14.03.2023 / Принята в печать 05.04.2023 / Опубликовано 25.06.2023

B Cell Depletion Therapy as a Cutting-Edge Treatment of Demyelinating Diseases of the Central Nervous System

Taras O. Simaniv, Anna A. Belkina, Maria N. Zakharova

Research Center of Neurology, Moscow, Russia

Abstract

Demyelinating diseases of the central nervous system and multiple sclerosis in particular are a pressing issue for medical community and society as a whole. Development and implementation of highly effective specific therapy significantly slow the disease progression and help maintain patients' quality of life and social participation. We analyzed pathogenic mechanisms of multiple sclerosis and other B cell-mediated diseases and reviewed therapeutic options for main disease stages.

Keywords: multiple sclerosis; pathogenesis; immunomodulatory therapy; B cells; demyelinating diseases; central nervous system

Source of funding. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For correspondence: 125367, Russia, Moscow, Volokolamskoye shosse, 80. Research Center of Neurology. E-mail: simaniv@neurology.ru. Simaniv T.O.

For citation: Simaniv T.O., Belkina A.A., Zakharova M.N. B cell depletion therapy as a cutting-edge treatment of demyelinating diseases of the central nervous system. *Annals of Clinical and Experimental Neurology.* 2023;17(2):65–74. (In Russ.)

DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.9>

Received 14.03.2023 / Accepted 05.04.2023 / Published 25.06.2023

Введение

Демиелинизирующие заболевания центральной нервной системы (ЦНС) представляют собой гетерогенную группу патологий, которые отличаются патогенетическими механизмами, клиническими проявлениями и подходами к терапии [1]. Рассеянный склероз (РС) является наиболее частым демиелинизирующим заболеванием ЦНС, поражает лиц преимущественно молодого, трудоспособного возраста и является важной не только медицинской, но и социальной проблемой [2, 3]. Патологический процесс при РС представляет собой комбинацию процессов хронического воспаления и нейродегенерации, в основе которых лежат иммуноопосредованные механизмы развития [4].

Патогенетической основой РС является нарушенный иммунный ответ, направленный против собственных белков организма (аутоантигенов), подавляющее большинство которых входят в состав миелина ЦНС: основной белок миелина, миелин-олигодендроцитарный гликопротеин, миелин-ассоциированный гликопротеин, протеолипидный протеин. Ввиду постоянного наличия аутоантигенов в организме, непрерывно идёт иммунный ответ, таким образом патологический процесс при РС является хроническим и самоподдерживающимся [5, 6].

Представления о патогенезе РС менялись с течением времени. Ранее считалось, что основную роль в развитии заболевания играют Т-лимфоциты. Действительно, в иммунопатогенезе РС выделяют несколько этапов, связанных с Т-клеточным звеном иммунитета [7]. Активация Т-лимфоцитов происходит на периферии, в дальнейшем они мигрируют через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Th1- и Th17-лимфоциты вырабатывают провоспалительные интерлейкины (ИЛ), в частности ИЛ-17, и интерферон- γ , что способствует дестабилизации и повышению проницаемости ГЭБ. Th17-лимфоциты, сенсibilизированные против аутоантигенов миелина, мигрируют через ГЭБ при экспрессии хемокиновых рецепторов CCR-6. Миграция иммунных клеток происходит из менингеальных кровеносных сосудов при прямом пересечении ГЭБ, субарахноидального пространства или сосудистых сплетений. Клетки накапливаются в периваскулярных пространствах и проникают в паренхиму ЦНС. В ЦНС развивается воспаление, опосредованное Th1- и Th17- и В-лимфоцитами, что приводит к деструкции миелина, нейроаксональному повреждению и дегенерации нервной ткани [8]. По мере развития заболевания инфильтрация иммунных клеток в ЦНС снижается. Хронизация патологического процесса развивается за счёт активации иммунокомпетентных клеток ЦНС, в частности микроглии. Астроциты продуцируют медиаторы воспаления и хемокины, в частности, CCL2 и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), что ещё больше усиливает активацию микроглии, а также приводит к снижению ремиелинизации за счёт ингибирования трансформации клеток-предшественников в олигодендроциты [9].

Позже было продемонстрировано, что В-клеточное звено иммунитета не только участвует в патогенезе РС, но и играет в нём ведущую роль, модулируя сразу несколько процессов. Образно говоря, В-лимфоцит является «дирижёром», который управляет Т-лимфоцитами, макрофагами, микроглией, т.е. теми клетками, которые непосредственно вызывают деструкцию нервной ткани [10].

Для понимания подходов к ингибированию В-клеточного звена иммунитета на различных стадиях необходимо иметь представление об этапах созревания и активации В-лимфоцитов. В-лимфоциты образуются в костном мозге из клетки-предшественницы лимфоидных клеток и в своём развитии проходят антигеннезависимую и антигензависимую стадии. На антигеннезависимой стадии путём V(D)J-рекомбинации ДНК происходит перестройка паттернов экспрессии генов, ответственных за синтез тяжёлых и лёгких цепей иммуноглобулинов. В результате рекомбинации на поверхности клетки экспрессируются варибельные домены каждой из цепей антитела, что обуславливает разнообразие поверхностных рецепторов В-лимфоцитов (BCR). На взаимодействии с BCR основана селекция В-клеток, в ходе которой отбираются лимфоциты, способные связывать представленный антигенпрезентирующей клеткой чужеродный лиганд (позитивная селекция) и одновременно демонстрирующие индифферентность к собственным антигенам организма (негативная селекция). В противном случае В-клетки подвергаются клональной делеции, «редактированию» рецептора или анергии [11].

После антигеннезависимой дифференцировки В-клетки из костного мозга мигрируют во вторичные лимфоидные органы (селезёнку и лимфатические узлы), где из незрелых В-лимфоцитов они становятся наивными зрелыми В-лимфоцитами. В зависимости от сигналов микроокружения В-клетки могут дифференцироваться в активно циркулирующие фолликулярные В-клетки или нециркулирующие В-клетки маргинальной зоны. Дальнейшая антигензависимая активация В-лимфоцитов может происходить по двум сценариям, в зависимости от природы антигена [12].

Белковые антигены способны вызывать гуморальный иммунный ответ только при участии Т-лимфоцитов (Т-зависимый иммунный ответ). Антиген распознаётся поверхностными рецепторами В-лимфоцитов, подвергается эндцитозу, процессингу и последующему представлению Т-клеткам в виде пептидных фрагментов в комплексе с молекулами МНС-II на клеточной мембране. Фолликулярные Т-хелперы распознают и связывают эти МНС-II-пептидные комплексы через свой Т-клеточный рецептор, в ответ происходит экспрессия поверхностного белка CD40L. CD40L служит необходимым костимулирующим фактором для активации В-клеток и способствует пролиферации В-клеток и их активации. Антитела, синтезируемые путём антигензависимой активации, обладают высокой аффинностью и специфичностью [13, 14].

Антигены полисахаридной и нуклеотидной природы активируют В-лимфоциты без участия Т-клеток (Т-независимый иммунный ответ). Необходимые для активации сигналы обеспечиваются либо распознаванием и связыванием микробного компонента с toll-подобными рецепторами, либо путём связывания BCR с повторяющимися эпитопами бактериальной клетки. В результате взаимодействия быстро развивается иммунный ответ, однако антитела отличаются низкой аффинностью и меньшей функциональностью [15].

После активации В-клетки вступают в завершающие этапы дифференцировки. На первом этапе, протекающем экстрафолликулярно, происходит пролиферация В-лимфоцитов и их дифференцировка в плазмобласты — короткоживу-

щие пролиферирующие клетки, секретирующие антитела с низкой аффинностью (IgM), но обеспечивающие немедленный иммунный ответ [16].

На втором этапе активированные В-клетки проникают в лимфоидный фолликул и формируют зародышевый центр — специализированное микроокружение, под влиянием которого В-клетки подвергаются пролиферации, переклассификации иммуноглобулинов и созреванию аффинности путём соматической гипермутации. Дальнейшая судьба активированных клеток определяется длительностью взаимодействия между фолликулярными Т-хелперами и В-клетками на границе В-клеточной/Т-клеточной зон. При длительном взаимодействии образуются В-клетки памяти — высокоаффинные длительно циркулирующие клетки, обеспечивающие быстрый эффективный ответ при повторном контакте с антигеном. При меньшей продолжительности взаимодействия образуются плазматические клетки — долгоживущие непролиферирующие клетки, мигрирующие в костный мозг и длительно секретирующие высокоаффинные антитела.

По функции В-клетки подразделяются на регуляторные и провоспалительные.

Провоспалительные В-лимфоциты вносят вклад в развитие аутоиммунных процессов несколькими способами:

- синтезируют антитела, вызывающие повреждение ткани посредством активации комплемента или путём антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности;
- осуществляют презентацию антигена, что индуцирует клональную экспансию цитотоксических Т-лимфоцитов (CD80, CD86) и повреждение собственных тканей;
- секретируют провоспалительные цитокины (ИЛ-6, -12, -15, ФНО- α , ГМ-КСФ), активирующие макрофаги и усиливающие повреждение тканей;
- *de novo* формируют эктопические зародышевые центры и поддерживают их развитие [17].

Роль регуляторных В-лимфоцитов

Незрелые и зрелые В-лимфоциты и плазмобласты способны дифференцироваться в регуляторные В-клетки, обладающие иммуносупрессивным действием. Путём синтеза ИЛ-10, -35, трансформирующего фактора роста- β , лиганда рецептора запрограммированной клеточной смерти PD1 они ингибируют синтез ФНО- α и подавляют эффекторные CD4⁺ Т-клетки, моноциты и дендритные клетки [18]. Нарушение функции регуляторных В-клеток способствует активации провоспалительных Т-лимфоцитов.

Значение В-лимфоцитарного звена

Рассеянный склероз

В последние годы произошла эволюция взглядов относительно роли В-лимфоцитов в патогенезе РС [19]. В ходе клинических исследований было обнаружено, что, несмотря на очевидную эффективность таргетной анти-В-клеточной терапии в терапии РС, уровень плазматических клеток и антител в сыворотке крови и ликворе на фоне лечения оставался неизменным. Это позволило установить, что, помимо секреции аутоантител, значительный вклад в течение РС вносят антитело-независимые функции

В-лимфоцитов: презентация антигена Т-клеткам, секреция провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, формирование эктопических фолликулов [20].

Секреция антител. Впервые вовлечённость В-клеток в патогенез РС была подтверждена благодаря обнаружению олигоклональных полос — продукта повышенной интраклеточной секреции иммуноглобулинов G и M, а также их свободных лёгких κ - и λ -цепей. Установлено, что источником интраклеточных антител являются подвергшиеся клональной экспансии В-лимфоциты в ликворе. Впоследствии были идентифицированы антитела, связывающие миелиновый олигодендроцитарный гликопротеин, основной белок миелина, липиды из миелина, нейрофасцин, контактин-2, а также внутриклеточные аутоантитела (ДНК и РНК). Ряд исследований свидетельствует о том, что периферические антитела к миелину приводят к активации периферических миелин-реактивных Т-лимфоцитов путём опсонизации антигенов ЦНС в глубоких шейных лимфатических узлах [21]. Депозиты комплемента в периваскулярных очагах РС свидетельствуют об участии В-лимфоцитов в комплемент-опосредованной демиелинизации в ЦНС [20]. Ещё одной мишенью интраклеточных аутоантител при РС является сперма-ассоциированный антиген 16 (SPAG16) [22]. Повышенный уровень анти-SPAG16-антител ассоциирован с повышенным баллом по шкале EDSS (Expanded Disability Status Scale) и повышенным индексом прогрессирования при первично прогрессирующем РС. Предполагается, что высвобождение SPAG16 в процессе повреждения астроцитов способствует синтезу анти-SPAG16-антител и последующему комплемент-опосредованному повреждению нейронов [22, 23].

Презентация антигена. Активация патогенных Т-лимфоцитов (Th1, Th17, фолликулярные Т-хелперы) при РС и экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите происходит в лимфатических узлах ЦНС. У пациентов с РС В-клетки памяти во вторичных лимфоидных органах являются эффективными антиген-презентирующими клетками [24]. Связываясь со специфическими антигенами, осуществляя их процессинг и презентуя ЦНС-специфичным патогенным Т-лимфоцитам, В-лимфоциты способствуют активности и прогрессированию РС [20].

Секреция цитокинов. Многочисленные исследования свидетельствуют об изменённом цитокиновом профиле В-лимфоцитов и нарушении баланса провоспалительных и противовоспалительных цитокинов при РС [25]. Отмечается значительное повышение уровня секреции ИЛ-6, фактора некроза опухоли- α (ФНО- α), лимфотоксина- α (LT α) и ГМ-КСФ по сравнению со здоровыми индивидуумами. Усиленная провоспалительная активность В-лимфоцитов способствует активации Т-лимфоцитов, миелиноидных клеток и прогрессированию заболевания. В частности, секреция ИЛ-6 индуцирует дифференцировку Т-хелперов 17 и, наоборот, ингибирует дифференцировку регуляторных Т-клеток [26].

Исследования также продемонстрировали способность В-лимфоцитов регулировать иммунный ответ путём синтеза противовоспалительных цитокинов: ИЛ-10, ИЛ-35 и трансформирующего фактора роста- β [27]. По результатам клинических исследований было обнаружено, что В-лимфоциты, восстановленные после деплецирующей терапии, отличаются от В-лимфоцитов нелеченых пациентов

высоким уровнем синтеза ИЛ-10 и низким уровнем синтеза ИЛ-6, ФНО, лимфотоксина- α и ГМ-КСФ [28].

Эктопические лимфоидные фолликулы. Напоминающие вторичные лимфоидные органы структуры, известные как эктопические лимфоидные фолликулы (ЭЛФ), были впервые описаны в 1980-х гг. и впоследствии признаны маркером тяжёлых хронических воспалительных аутоиммунных заболеваний. По мере развития патологического процесса при РС в ЦНС образуются лимфоцитарные инфильтраты вокруг лептоменингеальных сосудов из стромальных, дендритных клеток и Т- и В-лимфоцитов. Лимфоциты продуцируют лимфотоксин- $\alpha 1\beta 2$, что приводит к формированию лимфоцитарного агрегата. Функциональные дендритные клетки подвергаются дифференцировке, повышается продукция CXCL13, образуется организованный эктопический фолликул, в дальнейшем дендритные клетки объединяются в сети, что приводит к формированию герминативного центра, где происходит пролиферация В-лимфоцитов [29]. Таким образом, в ЦНС на поздних этапах РС образуются высокоорганизованные автономно функционирующие лимфоидные органы, гомологичные фолликулам в лимфоузлах [30], формируется компартментализация воспаления за ГЭБ, поддержание «глюющего» воспаления, что ассоциировано с развитием стойкого неврологического дефицита [8]. Отмечено, что у пациентов с вторично прогрессирующим РС часто обнаруживаются высокоорганизованные менингеальные ЭЛФ с фолликулярными дендритными клетками, отчётливыми Т- и В-клеточными зонами и эндотелиальными венулами, в то время как для пациентов с ремиттирующим РС и первично прогрессирующим РС более характерно наличие агрегатов В- и Т-лимфоцитов без чёткой организации. ЭЛФ обеспечивают все этапы созревания В-лимфоцитов, в норме происходящие во вторичных лимфоидных органах: созревание аффинности, пролиферацию и дифференцировку [15, 31]. Наличие В-клеточных фолликулов в значительной степени коррелирует со степенью субпиалярной кортикальной демиелинизации, тяжестью нейродегенерации и прогрессированием заболевания [32].

Заболевания спектра оптиконевромиелита

Заболевания спектра оптиконевромиелита (ЗСОНМ) представляют собой аутоиммунную астроцитопатию, в основе которой лежит гуморально-опосредованный механизм. В-лимфоциты трансформируются в плазмобласты, которые вырабатывают антитела к аквапориному-4. Впоследствии данные антитела проникают через ГЭБ и связываются со своей мишенью. Это приводит к интернализации аквапорины-4 внутрь клетки, развитию воспалительной реакции, активации системы комплемента, разрушению астроцитов по типу комплемент-зависимой цитотоксичности. Нарушение клеточных механизмов транспорта воды, повреждение ГЭБ и активная инфильтрация периваскулярного пространства нейтрофилами и эозинофилами способствуют развитию массивной демиелинизации и гибели нейронов. Деплеция В-лимфоцитов является одним из терапевтических подходов, направленных на предупреждение обострений ЗСОНМ [33].

Другие заболевания

Помимо РС, В-лимфоциты играют ключевую роль патогенезе других заболеваний ЦНС (аутоиммунные энцефалиты, синдром ригидного человека), аутоиммунных поли-

нейропатий (синдром Гийена–Барре, хроническая воспалительная демиелинизирующая полинейропатия, анти-МАГ (миелин-ассоциированный гликопротеин) парапротеин-ассоциированная периферическая нейропатия), нервномышечных заболеваний (миастения гравис) и воспалительных миопатий (полимиозит, миозит с включениями) [15].

К ревматологическим заболеваниям, патогенез которых прямым или косвенным образом обусловлен активацией В-лимфоцитов, относятся склеродермия, системная красная волчанка, постинфекционный синдром раздражённой кишки и ревматоидный артрит [34].

Злокачественная трансформация В-клеток и их предшественников лежит в основе развития хронического лимфоцитарного лимфолейкоза, острого лимфобластного лейкоза, неходжкинской лимфомы, лимфомы Ходжкина и др. К заболеваниям плазматических клеток относятся моноклональная гаммапатия неопределённого значения, множественная миелома, лимфоплазмочитарная лимфома/макроглобулинемия Вальденстрёма, амилоидоз и синдром РОEMS [35].

Подходы к терапии

Роль В-лимфоцитов в развитии широкого спектра неврологических, ревматологических и гематологических заболеваний спровоцировала поиск различных подходов к модуляции их функций. Основными точками приложения анти-В-клеточной терапии в настоящее время являются:

1. Деплеция В-клеток (антитела против поверхностных антигенов лимфоцитов).
2. Модуляция активности В-клеток (ингибиторы BAFF, APRIL, ингибиторы ВТК, антитела к ИЛ-6).
3. Деплеция плазматических клеток (ингибиторы протеасом).
4. Удаление циркулирующих антител (плазмаферез).
5. Ингибирование эффекторной функции антител (внутривенный иммуноглобулин, ингибирование комплемента) [36].

Деплеция В-лимфоцитов

Для таргетной деплеции В-клеток используются препараты моноклональных антител (МКА), синтезируемые путём клонирования уникальной плазматической клетки-предшественницы и обладающие аффинностью к строго определённым кластерам дифференцировки на поверхности лейкоцитов. Кластеры дифференцировки — поверхностные мембранные белки лейкоцитов, экспрессия которых отражает принадлежность клетки к конкретной субпопуляции со своими специфичными функциями [37]. К данным белкам могут быть синтезированы антитела, которые при связывании с антигеном приводят к лизису клетки за счёт прямой гибели, комплемент-зависимой цитотоксичности и антителозависимой клеточной цитотоксичности. Наиболее часто в качестве мишеней для таргетной терапии выступают CD20, CD19, CD22, CD52 [38]. В практике используются мышинные, химерные (гуманизированы на 65%), гуманизированные (на 66–99%) и полностью человеческие антитела. По мере увеличения человеческих белков снижается иммуногенность препарата [39].

CD19 представляет собой трансмембранный белок, связанный с BCR и функционирующий для усиления передачи

сигналов. В-лимфоциты экспрессируют CD19 на всех стадиях своего развития, постепенно утрачивая этот кластер дифференцировки к моменту полного созревания. Эффективность инебилизумаба — МКА к рецептору CD19 — продемонстрирована при ЗСОНМ. Данный препарат связывается с В-лимфоцитами, плазмобластами и плазмочитами, вызывая их апоптоз, таким образом, происходит нейтрализация клеток, продуцирующих антитела к аквапорино-4. В исследовании N-Momentum были включены 174 пациента, получавших лечение инебилизумабом, и 56 пациентов, распределённых в группу плацебо. Клиническая эффективность в отношении профилактики обострений ЗСОНМ была показана в большей степени у серопозитивных по AQP4-IgG пациентов в сравнении с плацебо [40]. Также в группе плацебо были выше частота госпитализаций и активность по результатам нейровизуализации [41].

Проводятся исследования по применению данного подхода при миастении, заболеваниях, связанных с IgG4, и при трансплантации почек. Изучение клинического значения данной группы препаратов для лечения В-клеточной лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза, множественной миеломы, РС и системной склеродермии было прекращено [42].

Гликопротеин **CD52** широко экспрессируется на поверхности зрелых лимфоцитов, клеток врождённого иммунитета (NK-киллеров, эозинофилов, нейтрофилов, моноцитов, макрофагов и дендритных клеток) и участвует в межклеточных взаимодействиях иммунных клеток, миграции Т-клеток и их дополнительной стимуляции [43]. Препараты МКА (алемтузумаб), направленные против CD52, вызывают неселективную деплецию циркулирующих Т- и В-лимфоцитов, после чего происходит репопуляция лимфоцитов, длящаяся 3–12 мес. Алемтузумаб продемонстрировал эффективность в отношении снижения частоты обострений и активности РС по данным МРТ, данный препарат зарегистрирован для лечения ремиттирующего РС. Продолжается изучение применения анти-CD52-терапии в трансплантологии [44].

Самой частой мишенью для деплеции В-лимфоцитов является **CD20**. Трансмембранный белок CD20 состоит из 297 аминокислотных остатков массой 33–37 кДа, относится к семейству негликозилированных мембранных белков III типа [45]. CD20 экспрессируется на всех стадиях развития зрелых В-лимфоцитов, за исключением плазмобластов и плазматических клеток, а также функционирует как регулятор транспорта ионов кальция через клеточную мембрану [46]. Он играет ключевую роль в дифференцировке активированных В-лимфоцитов в плазматические клетки и активации антиген-зависимого Т-клеточного ответа. Воздействие препаратов МКА реализуется следующим образом: Fab-фрагмент препарата связывается с CD20-антигеном на лимфоцитах и при участии Fc-домена инициирует иммунологические реакции, опосредующие лизис В-клеток. Возможные механизмы клеточного лизиса включают комплементзависимую цитотоксичность, антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность и прямо индуцированный клеточный апоптоз [47].

Химерные МКА против CD20 первоначально были разработаны и одобрены для лечения неходжкинской лимфомы и хронического лимфолейкоза, а впоследствии показали клиническую эффективность в лечении ревматоидного

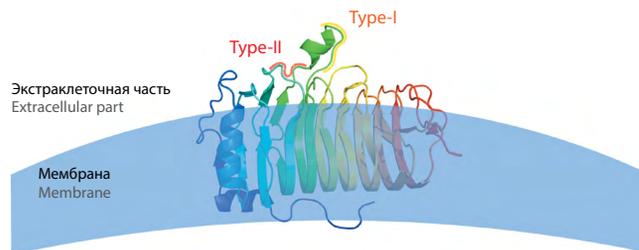


Рис. 1. CD20 и эпитопы связывания.

Fig. 1. CD20 and epitopes.

артрита, гранулематоза с полиангиитом и истинной пузырчатки. Эффективность ритуксимаба (химерное МКА против CD20) при ЗСОНМ продемонстрирована в небольшом (38 пациентов) рандомизированном исследовании III фазы RIN-1 на японской популяции. Ритуксимаб не зарегистрирован при ЗСОНМ, тем не менее широко применяется для профилактики обострений (off-label терапия) [48]. В настоящее время также проводится клинические исследования применения новых препаратов антител против CD20 у пациентов с ЗСОНМ, в частности, исследование препарата офатумумаб (I/II фаза) и MIL62 (Ib/III фазы) в Китае и исследование препарата дивозилимаб (III фаза) в России и Республике Беларусь.

Для решения проблемы повышенной иммуногенности химерных препаратов и связанных с этим нежелательных реакций были разработаны препараты анти-CD20 нового поколения, являющиеся либо гуманизированными (окрелизумаб, дивозилимаб, велтузумаб и обинтузумаб), либо полностью человеческими (офатумумаб). Для повышения эффективности многие анти-CD20-МКА второго поколения обладают повышенной аффинностью связывания с Fc-рецептором на В-клетках и повышенной комплементзависимой и/или антителозависимой клеточной цитотоксичностью [49]. При этом разные МКА связываются с отдельными эпитопами, что может оказывать влияние на терапевтический эффект. Выделяют два основных эпитопа связывания: первый — линейная часть большой петли, высокоспецифичный (не встречается на других мембранных белках), второй эпитоп образован не линейной последовательностью аминокислот, а конформацией двух отдельно стоящих петель (рис. 1) [50].

Модуляция активации В-клеток

В связи с тем, что на поверхности плазматических клеток не экспрессируется CD20, на фоне терапии МКА долгоживущие плазматические клетки могут циркулировать в крови и поддерживать синтез аутоиммунных антител. Это спровоцировало поиск альтернативных мишеней для активации В-клеток, в частности, факторов их выживания и роста. К этим факторам относятся два представителя суперсемейства ФНО: стимулятор В-лимфоцитов (BLyS, также называемый фактором, активирующим В-клетки BAFF) и лиганд, индуцирующий пролиферацию (APRIL) [38]. Препараты гуманизированных МКА к BAFF (белимумаб) одобрены для лечения системной красной волчанки. Препарат атакицепт, блокирующий TAC1, рецепторы для BAFF и APRIL, не продемонстрировал эффективность при РС, оптическом неврите, ревматоидном артрите или системной красной волчанке [38, 51].

Тирозинкиназа Брутона (ВТК) представляет собой нерецепторный цитоплазматический белок, играющий центральную роль в передаче и усилении сигнала с поверхностных рецепторов лимфоцитов (BCR). В результате связывания BCR с антигеном происходит активация ВТК и запускается сигнальный каскад, лежащий в основе дальнейшей клональной экспансии В-лимфоцитов, экспрессии активирующих маркеров и цитокинов и синтеза антител [52]. Интересно, что сверхэкспрессия ВТК в В-лимфоцитах приводит к спонтанному образованию зародышевых центров, выработке антинуклеарных аутоантител и развитию аутоиммунного заболевания, подобного системной красной волчанке [52]. Ингибиторы тирозинкиназы препятствуют фосфорилированию остатков тирозина, тем самым блокируя сигнальный каскад и последующее развитие В-лимфоцитов [53]. Относящийся к этой группе препарат ибрутиниб зарегистрирован для применения при мантийноклеточной лимфоме, хронической лимфоцитарной лейкемии, макроглобулинемии Вальденстрёма и хронической реакции «трансплантат против хозяина». Блокаторы ВТК (эвобрутиниб, ибрутиниб, толебрутиниб и фенебрутиниб) исследуются при ремиттирующем и вторично прогрессирующем РС [54].

ИЛ-6 является ещё одним провоспалительным фактором, участвующим в модуляции специфических клеточных и гуморальных иммунных реакций, включая дифференцировку В-лимфоцитов, секрецию иммуноглобулина и активацию Т-клеток [55]. Гуманизированные МКА против ИЛ-6 (толизумаб) одобрены для лечения ревматоидного артрита, гигантоклеточного артериита, системного ювенильного идиопатического артрита, синдрома высвобождения цитокинов и COVID-19 [56]. Для профилактики обострений заболеваний спектра оптикомиелита, ассоциированных с антителами к аквапорину-4, используется другой препарат гуманизированных МКА к рецепторам ИЛ-6 — сатрализумаб. В клинических исследованиях продемонстрирована эффективность сатрализумаба по сравнению плацебо в отношении предупреждения обострений ЗСОНМ как в качестве монотерапии (исследование SAKuraStar, 95 пациентов), так и при совместном назначении с иммуносупрессивными препаратами (исследование SAKuraSky, 83 пациента). Различия между группами были статистически значимыми у пациентов, положительных по AQP4-IgG. В исследовании SAKuraSky риск развития обострений в группе сатрализумаба был ниже на 79% по сравнению с плацебо, а в исследовании SAKuraStar — на 74% [57, 58].

Деплеция плазматических клеток

Плазматические клетки продуцируют большое количество белка (IgG), часть которого подвергается неправильному фолдингу и впоследствии деградации и утилизации при помощи протеасом. Ингибирование активности протеасом приводит к накоплению неправильно свёрнутых белков и последующему апоптозу плазматических клеток. Кроме того, ингибирование протеасом снижает активность NF-κB (универсального фактора транскрипции в иммунных клетках), что приводит к снижению транскрипции ИЛ-6 [59]. Ингибитор протеасом (бортезомиб) одобрен FDA для лечения множественной лимфомы.

Удаление циркулирующих антител или ингибирование их эффекторной функции

Чаще всего аутоантитела не оказывают непосредственного повреждающего действия и выступают в качестве маркеров

заболевания (например, при паранеопластических нейропатиях, мультифокальной моторной нейропатии, синдроме ригидного человека). Роль В-лимфоцитов в патогенезе данных заболеваний включает презентацию антигена, ко-стимуляцию, выработку цитокинов и координацию межклеточных взаимодействий.

При некоторых неврологических заболеваниях происходит синтез антител, прямо повреждающих ткани: антител к ацетилхолиновому рецептору при миастении, к MAG при парапротеинемической нейропатии, к NMDAR при лимбическом энцефалите или к AQP4 при оптиконевромиелите. Плазмаферез позволяет удалить циркулирующие антитела и оказать временный положительный эффект, однако титры антител быстро восстанавливаются. Внутривенный иммуноглобулин позволяет модулировать титры IgG путем Fc-зависимой блокады IgG, ингибирования мембранных атакующих комплексов (C5b-C9) и активированных компонентов комплемента. Применение различных препаратов внутривенного иммуноглобулина одобрено при иммунодефиците, хронической воспалительной демиелинизирующей полинейропатии, мультифокальной моторной нейропатии и синдроме Кавасаки [15].

Анти-В-клеточная терапия, применяемая для лечения рассеянного склероза

Ритуксимаб

Первым препаратом, направленным на CD20, является ритуксимаб, представляющий собой химерное МКА. Применяющийся изначально как противоопухолевый препарат при В-клеточных неходжкинских лимфомах, он оказался эффективным при заболеваниях соединительной ткани (системная красная волчанка, ревматоидный артрит, ANCA-ассоциированный васкулит, синдром Шегрена), а также при заболеваниях спектра оптикомиелита. Проведены 4 рандомизированных клинических исследования, в которых приняли участие в общей сложности 599 пациентов [60]. В 3 исследованиях была изучена эффективность ритуксимаба у пациентов с ремиттирующим РС, в четвёртом — при первично прогрессирующем РС. По результатам исследования различий между группами в скорости нарастания неврологического дефицита не выявлено, хотя скорость нарастания инвалидизации на фоне введения ритуксимаба была ниже у лиц младше 50 лет ($p = 0,01$) и у пациентов с наличием очагов, накапливающих контрастное вещество ($p = 0,009$), а также наблюдалось снижение количества увеличивающихся очагов по данным МРТ. Степень выраженности атрофии головного мозга была также одинаковой в группе ритуксимаба и плацебо. Частота нежелательных явлений в группе ритуксимаба и плацебо была сопоставимой, однако на фоне введения ритуксимаба чаще развивались инфекционные осложнения (4,5% против 0,1% на фоне плацебо) [61]. Несмотря на то что ритуксимаб не зарегистрирован для лечения РС, он применяется off-label в качестве высокоэффективного препарата, изменяющего течение РС [62].

Окрелизумаб

Окрелизумаб, гуманизированное МКА к CD20, — первый препарат, показавший эффективность в отношении замедления нарастания неврологического дефицита при первично прогрессирующем РС (комплекс исследований

ORCHESTRA). Окрелизумаб при ремиттирующем РС продемонстрировал эффективность в отношении снижения активности как по клиническим, так и по нейровизуализационным данным.

В исследованиях OPERA I и OPERA II были включены 1656 пациентов с ремиттирующим РС и с вторично прогрессирующим РС с обострениями. По результатам исследования показано относительное снижение частоты обострений за год на 46–47% по сравнению с интерфероном бета-1а в течение двухлетнего периода ($p < 0,001$). На 40% ($p = 0,0006$) снижался по сравнению с интерфероном бета-1а относительный риск подтверждённого прогрессирования инвалидизации. В группе окрелизумаба на T1-взвешенных изображениях с контрастным усилением было отмечено снижение общего количества очагов на 94–95% по сравнению с интерфероном бета-1а ($p < 0,001$), а на T2-взвешенных изображениях снижение общего количества новых и/или увеличившихся очагов составило 77–83% по сравнению с интерфероном бета-1а [63].

В отдельное исследование III фазы (ORATORIO) были включены 732 пациента с первично прогрессирующим РС. В результате исследования ORATORIO зафиксировано снижение относительного риска прогрессирования инвалидизации по шкале EDSS на 24% в группе окрелизумаба по сравнению с плацебо ($p = 0,0321$). По данным МРТ головного мозга в группе окрелизумаба отмечено уменьшение среднего значения атрофии за 120 нед на $0,39 \text{ см}^3$ на T2-взвешенных изображениях, в группе плацебо атрофия увеличилась на $0,79 \text{ см}^3$ ($p < 0,0001$) [64].

Окрелизумаб — первый препарат, который значительно замедлил прогрессирование инвалидизации и снизил МРТ-активность РС (очаги в головном мозге) по сравнению с плацебо при медиане наблюдения 3 года. Полученные данные явились основанием для регистрации окрелизумаба как первого (и в настоящее время единственного) препарата для изменения течения первично прогрессирующего РС.

Относительное количество пациентов с нежелательными явлениями и серьёзными нежелательными явлениями в группах окрелизумаба и плацебо также были сходными. Наиболее частыми нежелательными явлениями, связанными

с окрелизумабом, во всех исследованиях III фазы были инфузионные реакции и инфекции верхних дыхательных путей лёгкой и средней степени тяжести [63].

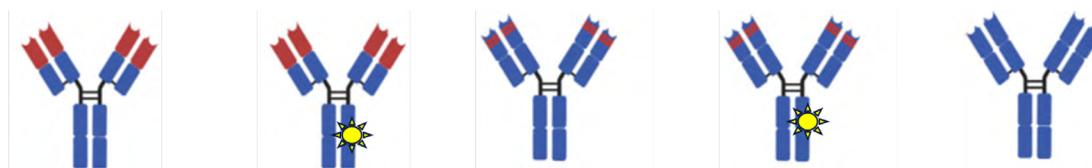
Офатумумаб

Офатумумаб, как и ритуксимаб, был разработан для терапии хронических лимфоцитарных лейкозов. В отличие от ритуксимаба и окрелизумаба, данное антитело к CD20 является человеческим, что снижает иммуногенность. В ходе исследования II фазы отмечался дозозависимый эффект в виде снижения количества В-лимфоцитов и радиологической активности заболевания [65].

Завершены клинические исследования офатумумаба III фазы при ремиттирующем и активном вторично прогрессирующем РС (ASCLEPIOS I и II). В результате исследований показано значимое снижение частоты обострений: относительно терифлуномида в группе офатумумаба на 50,5% в ASCLEPIOS I и на 58,5% в ASCLEPIOS II ($p < 0,001$). В группе офатумумаба также снижался риск подтверждённого прогрессирования инвалидизации на 34,4% в ASCLEPIOS I ($p = 0,002$) и на 32,5% в ASCLEPIOS II ($p = 0,012$) в сравнении с терифлуномидом. Клиническая эффективность подтверждена данными МРТ: значительно снижалось количество очагов, накапливающих контраст, у пациентов на терапии офатумумабом по сравнению с терифлуномидом: на 97,5% в ASCLEPIOS I и на 93,8% в ASCLEPIOS II ($p < 0,001$) [66].

Отдельный анализ показал большую эффективность офатумумаба в субпопуляции пациентов более молодого возраста, с меньшей длительностью заболевания и без предшествующего применения терапии ПИТРС 2-й линии. Данный анализ подчёркивает важность своевременного назначения высокоэффективных ПИТРС на ранних стадиях заболевания, поскольку МКА слабо проникают через ГЭБ и не могут воздействовать на клетки-мишени, находящиеся в ЭЛФ [67].

Отличие офатумумаба от окрелизумаба и ритуксимаба заключается не только в меньшей иммуногенности, но и в эпитопах связывания с CD20. Ритуксимаб и окрелизумаб связываются только с большой внеклеточной петлёй, при



Параметр Parameter	Ритуксимаб Rituximab	Ублитуксимаб Ublituximab	Окрелизумаб Ocrelizumab	Дивозилимаб Divozilimab	Офатумумаб Ofatumumab
Антитела Antibodies	Химерное Chimeric	Химерное Chimeric	Гуманизированное Humanized	Гуманизированное Humanized	Человеческое Human
Fc-фрагмент Fc region	Нет No	Модификация профиля гликозилирования (низкое содержание фукозы) Glycoengineered (low fucose content)	Нет No	Модификация профиля гликозилирования (низкое содержание фукозы) Glycoengineered (low fucose content)	Нет No

Рис. 2. Сравнение МКА.

Fig. 2. Comparison of monoclonal antibodies.

этом их эпитопы связывания также отличаются друг от друга, в то время как офатумумаб связывается и с большой, и с двумя малыми петлями, что приводит к более медленной скорости диссоциации и повышенной аффинности связывания, предположительно способствует отложению активированного комплемента на клеточной поверхности и, следовательно, усилению ответа. Таким образом, ведущим механизмом лизиса В-лимфоцитов в случае офатумумаба является комплемент-зависимая цитотоксичность, в то время как в случае окрелизумаба и ритуксимаба — антителозависимая клеточная цитотоксичность [68, 69]. Разные препараты МКА также по-разному влияют на субпопуляции В-лимфоцитов, в частности ритуксимаб в большей степени вызывает деплецию В-клеток памяти, а окрелизумаб — наивных В-клеток [70].

Повышение эффективности действия МКА может быть достигнуто не только за счёт снижения иммуногенности (по мере приближения по строению к человеческим антителам) и повышения аффинности связывания с мишенью, но и за счёт внесения изменений в эффекторный фрагмент антитела (рис. 2). Одним из таких подходов является модификация профиля гликозилирования Fc-фрагмента, что приводит к снижению содержания или отсутствию фукозы. За счёт этого антитело обладает повышенным сродством к FcγRIII-рецепторам на поверхности эффекторных клеток иммунной системы, в частности натуральных киллеров, макрофагов и моноцитов. Благодаря повышенной аффинности к FcγRIIIa за счёт отсутствия корового фукозилирования данные антитела более эффективно индуцируют антителозависимую клеточную цитотоксичность и антителозависимый клеточный фагоцитоз, что проявляется в более выраженном истощении пула В-клеток [71].

В настоящее время исследуются два препарата афукозилированных МКА к CD20: ублитуксимаб (химерное) и дивозилимаб (гуманизированное).

Ублитуксимаб

Опубликованы результаты исследований III фазы ублитуксимаба в сравнении с терифлуномидом у пациентов с ремиттирующим РС. На фоне лечения ублитуксимабом отмечена меньшая среднегодовая частота обострений: в исследовании ULTIMATE I в группе ублитуксимаба — 0,08, в группе терифлуномида — 0,19 ($p < 0,001$); в исследовании ULTIMATE II — 0,09 и 0,18 соответственно ($p = 0,002$). В группах ублитуксимаба также была значительно ниже активность по данным МРТ: среднее количество накапливающих Gd-содержащий контраст очагов в исследовании ULTIMATE I в группе ублитуксимаба — 0,02 против 0,49 в группе терифлуномида ($p < 0,001$); в исследовании ULTIMATE II — 0,01 против 0,25 соответственно. По данным обобщённой популяции двух исследований нарастание инвалидизации наблюдалось у 5,2% пациентов в группе ублитуксимаба и 5,9% пациентов в группе терифлуномида спустя 12 нед ($p = 0,51$). Наиболее частыми нежелательными явлениями в группе ублитуксимаба были инфузионные реакции (у 47,7% пациентов). Тяжёлые инфекции развивались у 5,0% пациентов при применении ублитуксимаба и у 2,9% пациентов в группе терифлуномида [72].

Дивозилимаб

Согласно опубликованным данным I фазы клинического исследования дивозилимаба, в которой участвовали 24 пациента с ремиттирующим РС, после выполнения однократной или двукратной инфузии в диапазоне суммарных доз препарата от 100 до 1000 мг у всех пациентов наблюдалось быстрое стремительное истощение пула CD19-В-клеток в крови. На протяжении всего анализируемого периода медианы относительного уровня CD20-В-клеток в крови, который оценивали как дополнительный фармакодинамический маркер, были незначительно выше 0% или не определялись, что было в десятки раз ниже исходного определяемого уровня. Данная тенденция сохранялась через 6 мес после проведения первой (в случае двукратной инфузии) или однократной инфузии дивозилимаба. При оценке пилотной эффективности по динамике МРТ-показателей за исследуемый период, ограниченный 6 мес наблюдения, использовался комплексный показатель CUA (combined unique active), который отражает совокупную оценку новых и увеличившихся очагов. При оценке средних значений показателя CUA отмечался тренд к его снижению в динамике. Так, среднее значение CUA через 85 сут составило $0,478 \pm 1,082$, через 168 сут — $0,391 \pm 1,033$. Оценка динамики отдельных ключевых показателей МРТ (количество очагов, накапливающих контраст в T1-режиме; количество новых или увеличившихся очагов в T2-режиме; изменение объёма очагов в T2-режиме; изменение объёма гипointенсивных очагов в T1-режиме) продемонстрировала отсутствие различий эффективности препарата в диапазоне всех исследуемых режимов дозирования препарата (100–1000 мг). При сравнении данных МРТ как между исследуемыми когортами, так и между группами пациентов статистически значимой разницы не обнаружено. У 87,5% пациентов через 6 мес после выполнения инфузии дивозилимаба не было отмечено новых очагов в T2WI- и T2FLAIR-режимах, у 79,2% — увеличившихся очагов. По данным МРТ, выполненной через 6 мес, более чем у 90% пациентов не было выявлено новых очагов, накапливающих контраст, что свидетельствует также об отсутствии активности демиелинизирующего процесса в головном мозге этих больных. Оценка динамики отдельных показателей МРТ также продемонстрировала отсутствие различий эффективности препарата в диапазоне всех исследуемых режимов дозирования препарата (100–1000 мг). Профиль безопасности дивозилимаба был достаточно благоприятным, в подавляющем большинстве случаев наблюдались нежелательные явления I-й и 2-й степени тяжести [73].

Заключение

Внедрение анти-В-клеточной терапии в практику лечения демиелинизирующих заболеваний, в частности РС, позволило в значительной степени эффективно влиять на предупреждение обострений, особенно при назначении на ранних стадиях заболевания. Внедрение в практику препаратов нового поколения МКА позволит существенно расширить арсенал средств, влияющих на активность демиелинизирующего процесса, и персонализированно подходить к ведению пациентов [74].

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / References

1. Papiri G., D'Andreamatteo G., Cacchiò G. et al. Multiple sclerosis: inflammatory and neuroglial aspects. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2023; 45(2):1443–1470. doi: 10.3390/cimb45020094
2. Kobelt G., Thompson A., Berg J. et al. New insights into the burden and costs of multiple sclerosis in Europe. *Mult. Scler.* 2017;23(8):1123–1136. doi: 10.1177/1352458517694432
3. Бойко А.Н., Кукель Т.М., Лысенко М.А. и др. Клиническая эпидемиология рассеянного склероза в Москве. Описательная эпидемиология на примере популяции одного из округов города. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски.* 2013;113(10–2):8–14. Boiko A.N., Kukul' T.M., Lysenko M.A. et al. Clinical epidemiology of multiple sclerosis in Moscow. Descriptive epidemiology in population of one region of Moscow. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S.S. Korsakova.* 2013;113(10–2):8–14.
4. Sun Y., Yu H., Guan Y. Glia connect inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis. *Neurosci. Bull.* 2023;39(3):466–478. doi: 10.1007/s12264-023-01034-9
5. Martinsen V., Kursula P. Multiple sclerosis and myelin basic protein: insights into protein disorder and disease. *Amino Acids.* 2022;54(1):99–109. doi: 10.1007/s00726-021-03111-7
6. Hughes E.G., Orthmann-Murphy J.L., Langseth A.J., Bergles D.E. Myelin remodeling through experience-dependent oligodendrogenesis in the adult somatosensory cortex. *Nat. Neurosci.* 2018;21(5):696–706. doi: 10.1038/s41593-018-0121-5
7. Neumann H., Medana I.M., Bauer J., Lassmann H. Cytotoxic T lymphocytes in autoimmune and degenerative CNS diseases. *Trends Neurosci.* 2002;25(6):313–319. doi: 10.1016/s0166-2236(02)02154-9
8. Filippi M., Bar-Or A., Pielhi F. et al. Multiple sclerosis. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 2014;4(1):43. doi: 10.1038/s41572-018-0041-4
9. Baecher-Allan C., Kaskow B.J., Weiner H.L. Multiple sclerosis: mechanisms and immunotherapy. *Neuron.* 2018;97(4):742–768. doi: 10.1016/j.neuron.2018.01.021
10. Pröbstel A.-K., Hauser S.L. Multiple sclerosis: B cells take center stage. *J. Neuroophthalmol.* 2018;38(2):251–258. doi: 10.1097/WNO.0000000000000642
11. Eibel H., Kraus H., Sic H. et al. B cell biology: an overview. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2014;14(5):434. doi: 10.1007/s11882-014-0434-8
12. Pieper K., Grimbacher B., Eibel H. B-cell biology and development. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013;131(4):959–971. doi: 10.1016/j.jaci.2013.01.046
13. Blum J.S., Wearsch P.A., Cresswell P. Pathways of antigen processing. *Annu. Rev. Immunol.* 2013;31:443–473. doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-095910
14. Kurosaki T., Kometani K., Ise W. Memory B cells. *Nat. Rev. Immunol.* 2015;15(3):149–159. doi: 10.1038/nri3802
15. Alexopoulos H., Biba A., Dalakas M.C. Anti-B-Cell Therapies in Autoimmune Neurological Diseases: Rationale and Efficacy Trials. *Neurotherapeutics.* 2016;13(1):20–33. doi: 10.1007/s13311-015-0402-6
16. Adlowitz D.G., Barnard J., Bear J.N. et al. Expansion of activated peripheral blood memory B cells in rheumatoid arthritis, impact of B cell depletion therapy, and biomarkers of response. *PLoS One.* 2015;10(6):e0128269. doi: 10.1371/journal.pone.0128269
17. Florou D., Katsara M., Feehan J. et al. Anti-CD20 agents for multiple sclerosis: spotlight on ocrelizumab and ofatumumab. *Brain Sci.* 2020;10(10):758. doi: 10.3390/brainsci10100758
18. Rosser E.C., Mauri C. Regulatory B cells: origin, phenotype, and function. *Immunity.* 2015;42(4):607–612. doi: 10.1016/j.immuni.2015.04.005
19. Comi G., Bar-Or A., Lassmann H. et al. Role of B cells in multiple sclerosis and related disorders. *Ann. Neurol.* 2021;89(1):13–23. doi: 10.1002/ana.25927
20. Gharibi T., Babaloo Z., Hosseini A. et al. The role of B cells in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Immunology.* 2020;160(4):325–335. doi: 10.1111/imm.13198
21. Kinzel S., Lehmann-Horn K., Torke S. et al. Myelin-reactive antibodies initiate T cell-mediated CNS autoimmune disease by opsonization of endogenous antigen. *Acta Neuropathol.* 2016; 132(1):43–58. doi: 10.1007/s00401-016-1559-8
22. de Bock L., Fraussen J., Villar L.M. et al. Anti-SPAG16 antibodies in primary progressive multiple sclerosis are associated with an elevated progression index. *Eur. J. Neurol.* 2016;23(4):722–728. doi: 10.1111/ene.12925
23. Fraussen J., de Bock L., Somers V. B cells and antibodies in progressive multiple sclerosis: contribution to neurodegeneration and progression. *Autoimmun. Rev.* 2016;15(9):896–899. doi: 10.1016/j.autrev.2016.07.008
24. Gharibi T., Hosseini A., Marofi F. et al. IL-21 and IL-21-producing T cells are involved in multiple sclerosis severity and progression. *Immunol. Lett.* 2019;216:12–20. doi: 10.1016/j.imlet.2019.09.003
25. Li R., Rezk A., Healy L.M. et al. Cytokine-defined B cell responses as therapeutic targets in multiple sclerosis. *Front. Immunol.* 2015;6:626. doi: 10.3389/fimmu.2015.00626
26. Korn T., Mitsdoerffer M., Croxford A. et al. IL-6 controls Th17 immunity in vivo by inhibiting the conversion of conventional T cells into Foxp3+ regulatory T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2008;105(47):18460–18465. doi: 10.1073/pnas.0809850105
27. Shen P., Fillatreau S. Antibody-independent functions of B cells: a focus on cytokines. *Nat. Rev. Immunol.* 2015;15(7):441–451. doi: 10.1038/nri3857
28. Li R., Rezk A., Miyazaki Y. et al. Proinflammatory GM-CSF-producing B cells in multiple sclerosis and B cell depletion therapy. *Sci. Transl. Med.* 2015;7(310):310ra166. doi: 10.1126/scitranslmed.aab4176
29. Wang A., Rojas O., Lee D., Gommerman J.L. Regulation of neuroinflammation by B cells and plasma cells. *Immunol. Rev.* 2021;299(1):45–60. doi: 10.1111/imr.12929
30. Uccelli A., Aloisi F., Pistoia V. Unveiling the enigma of the CNS as a B-cell fostering environment. *Trends Immunol.* 2005;26(5):254–259. doi: 10.1016/j.it.2005.02.009
31. Negron A., Stüve O., Forsthuber T.G. Ectopic lymphoid follicles in multiple sclerosis: centers for disease control? *Front. Neurol.* 2020;11:607766. doi: 10.3389/fneur.2020.607766
32. Bell L., Lenhart A., Rosenwald A. et al. Lymphoid Aggregates in the CNS of Progressive multiple sclerosis patients lack regulatory T cells. *Front. Immunol.* 2019;10:3090. doi: 10.3389/fimmu.2019.03090
33. Levy M., Mealy M.A. B-cell targeted treatments for neuromyelitis optica spectrum disorder: a focus on CD19 and CD20. *ImmunoTargets Ther.* 2021;10:325–331. doi: 10.2147/ITTS255722
34. Gorosito Serrán M., Fiocca Vernengo F., Beccaria C.G. et al. The regulatory role of B cells in autoimmunity, infections and cancer: perspectives beyond IL10 production. *FEBS Lett.* 2015;589(22):3362–3369. doi: 10.1016/j.febslet.2015.08.048
35. Castillo J.J. Plasma cell disorders. *Prim. Care.* 2016;43(4):677–691. doi: 10.1016/j.pop.2016.07.002
36. Clatworthy M.R. Targeting B cells and antibody in transplantation. *Am. J. Transplant.* 2011;11(7):1359–1367. doi: 10.1111/j.1600-6143.2011.03554.x
37. Cheson B.D., Leonard J.P. Monoclonal antibody therapy for B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *N. Engl. J. Med.* 2008;359(6):613–626. doi: 10.1056/NEJMra0708875
38. Bag-Ozbek A., Hui-Yuen J.S. Emerging B-cell therapies in systemic lupus erythematosus. *Ther. Clin. Risk Manag.* 2021;17:39–54. doi: 10.2147/TCRM.S252592
39. Vöge N.V., Alvarez E. Monoclonal antibodies in multiple sclerosis: present and future. *Biomedicines.* 2019;7(1): doi: 10.3390/biomedicines7010020
40. Cree B.A.C., Bennett J.L., Kim H.J. et al. Inebilizumab for the treatment of neuromyelitis optica spectrum disorder (N-Momentum): a double-blind, randomised placebo-controlled phase 2/3 trial. *Lancet.* 2019;394(10206):1352–1363. doi: 10.1016/S0140-6736(19)31817-3
41. Ali F., Sharma K., Anjum V., Ali A. Inebilizumab-cdon: USFDA approved for the treatment of NMOSD (neuromyelitis optica spectrum disorder). *Curr. Drug Discov. Technol.* 2022;19(1):e140122193419. doi: 10.2174/1570163818666210519103001
42. Frampton J.E. Inebilizumab: first approval. *Drugs.* 2020;80(12):1259–1264. doi: 10.1007/s40265-020-01370-4
43. Zhao Y., Su H., Shen X. et al. The immunological function of CD52 and its targeting in organ transplantation. *Inflamm. Res.* 2017;66(7):571–578. doi: 10.1007/s00011-017-1032-8
44. Coles A.J., Jones J.L., Vermersch P. et al. Autoimmunity and long-term safety and efficacy of alemtuzumab for multiple sclerosis: benefit/risk following review of trial and post-marketing data. *Mult. Scler.* 2022;28(5):842–846. doi: 10.1177/13524585211061335
45. Klein C., Lammens A., Schäfer W. et al. Epitope interactions of monoclonal antibodies targeting CD20 and their relationship to functional properties. *MAbs.* 2013;5(1):22–33. doi: 10.4161/mabs.22771
46. Kuipers T.W., Bende R.J., Baars P.A. et al. CD20 deficiency in humans results in impaired T cell-independent antibody responses. *J. Clin. Invest.* 2010;120(1):214–22. doi: 10.1172/JCI40231
47. Stathopoulos P., Dalakas M.C. Evolution of anti-B cell therapeutics in autoimmune neurological diseases. *Neurotherapeutics.* 2022;19(3):691–710. doi: 10.1007/s13311-022-01196-w
48. Ciron J., Audoin B., Bourre B. et al. Recommendations for the use of Rituximab in neuromyelitis optica spectrum disorders. *Rev. Neurol. (Paris).* 2018;174(4):255–264. doi: 10.1016/j.neuro.2017.11.005
49. Du F.H., Mills E.A., Mao-Draayer Y. Next-generation anti-CD20 monoclonal antibodies in autoimmune disease treatment. *Auto Immun. Highlights.* 2017;8(1):12. doi: 10.1007/s13317-017-0100-y
50. Massacesi L., Mariottini A., Nicoletti F. Relevance of pathogenetic mechanisms to clinical effectiveness of B-cell-depleting monoclonal antibodies in multiple sclerosis. *J. Clin. Med.* 2022;11(15):4288. doi: 10.3390/jcm11154288
51. Hewett K., Sanders D.B., Grove R.A. et al. Randomized study of adjunctive belimumab in participants with generalized myasthenia gravis. *Neurology.* 2018;90(16):e1425–e1434. doi: 10.1212/WNL.0000000000005323
52. Burger J.A. Bruton tyrosine kinase inhibitors: present and future. *Cancer J.* 2019; 25(6):386–393. doi: 10.1097/PPO.0000000000000412
53. Huang L., Jiang S., Shi Y. Tyrosine kinase inhibitors for solid tumors in the past 20 years (2001–2020). *J. Hematol. Oncol.* 2020;13(1):143. doi: 10.1186/s13045-020-00977-0

54. Geladaris A., Torke S., Weber M.S. Bruton's tyrosine kinase inhibitors in multiple sclerosis: pioneering the path towards treatment of progression? *CNS Drugs*. 2022;36(10):1019–1030. doi: 10.1007/s40263-022-00951-z
55. Lotan I., McGowan R., Levy M. Anti-IL-6 therapies for neuromyelitis optica spectrum disorders: a systematic review of safety and efficacy. *Curr. Neuropharmacol.* 2021;19(2):220–232. doi: 10.2174/1570159X18666200429010825
56. Le R.Q., Li L., Yuan W. et al. FDA approval summary: tocilizumab for treatment of chimeric antigen receptor T cell-induced severe or life-threatening cytokine release syndrome. *Oncologist*. 2018;23(8):943–947. doi: 10.1634/theoncologist.2018-0028
57. Yamamura T., Kleiter I., Fujihara K. et al. Trial of satralizumab in neuromyelitis optica spectrum disorder. *N. Engl. J. Med.* 2019;381(22):2114–2124. doi: 10.1056/NEJMoa1901747
58. Traboulsee A., Greenberg B.M., Bennett J.L. et al. Safety and efficacy of satralizumab monotherapy in neuromyelitis optica spectrum disorder: a randomised, double-blind, multicentre, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet Neurol.* 2020;19(5):402–412. doi: 10.1016/S1474-4422(20)30078-8
59. Everly J.J., Walsh R.C., Alloway R.R., Woodlee E.S. Proteasome inhibition for antibody-mediated rejection. *Curr. Opin. Organ Transplant.* 2009;14(6):662–666. doi: 10.1097/MOT.0b013e328330f304
60. Castillo-Trivino T., Braithwaite D., Bacchetti P., Waubant E. Rituximab in relapsing and progressive forms of multiple sclerosis: a systematic review. *PLoS One*. 2013;8(7):e66308. doi: 10.1371/journal.pone.0066308
61. Hawker K., O'Connor P., Freedman M.S. et al. Rituximab in patients with primary progressive multiple sclerosis: results of a randomized double-blind placebo-controlled multicenter trial. *Ann. Neurol.* 2009;66(4):460–471. doi: 10.1002/ana.21867
62. Chisari C.G., Sgarlata E., Arena S. et al. Rituximab for the treatment of multiple sclerosis: a review. *J. Neurol.* 2022;269(1):159–183. doi: 10.1007/s00415-020-10362-z
63. Hauser S.L., Bar-Or A., Comi G. et al. Ocrelizumab versus interferon beta-1a in relapsing multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2017;376(3):221–234. doi: 10.1056/NEJMoa1601277
64. Montalban X., Hauser S.L., Kappos L. et al. Ocrelizumab versus placebo in primary progressive multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2017;376(3):209–220. doi: 10.1056/NEJMoa1606468
65. Sorensen P.S., Lisby S., Grove R. et al. Safety and efficacy of ofatumumab in relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase 2 study. *Neurology*. 2014;82(7):573–581. doi: 10.1212/WNL.000000000000125
66. Hauser S.L., Bar-Or A., Cohen J.A. et al. Ofatumumab versus teriflunomide in multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2020;383(6):546–557. doi: 10.1056/NEJMoa1917246
67. Kira J.-I., Nakahara J., Sazonov D.V. et al. Effect of ofatumumab versus placebo in relapsing multiple sclerosis patients from Japan and Russia: phase 2 APOLITOS study. *Mult. Scler.* 2022;28(8):1229–1238. doi: 10.1177/13524585211055934
68. Frisch E.S., Pretzsch R., Weber M.S. A milestone in multiple sclerosis therapy: monoclonal antibodies against CD20—Yet progress continues. *Neurotherapeutics*. 2021;18(3):1602–1622. doi: 10.1007/s13311-021-01048-z
69. Bar-Or A., O'Brien S.M., Sweeney M.L. et al. Clinical perspectives on the molecular and pharmacological attributes of anti-CD20 therapies for multiple sclerosis. *CNS Drugs*. 2021;35(9):985–997. doi: 10.1007/s40263-021-00843-8
70. Cencioni M.T., Mattosio M., Magliozzi R. et al. B cells in multiple sclerosis — from targeted depletion to immune reconstitution therapies. *Nat. Rev. Neurol.* 2021;17(7):399–414. doi: 10.1038/s41582-021-00498-5
71. Pereira N.A., Chan K.F., Lin P.C., Song Z. The 'less-is-more' in therapeutic antibodies: Afucosylated anti-cancer antibodies with enhanced antibody-dependent cellular cytotoxicity. *MAbs*. 2018;10(5):693–711. doi: 10.1080/19420862.2018.1466767
72. Steinman L., Fox E., Hartung H.P. et al. Ublituximab versus teriflunomide in relapsing multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2022;387(8):704–714. doi: 10.1056/NEJMoa2201904
73. Бойко О.В., Бойко А.Н., Яковлев П.А. и др. Результаты I фазы клинического исследования моноклонального антитела против CD20 (BCD-132): фармакокинетика, фармакодинамика и безопасность. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2019;119(10-2):87–95.
74. Спирин Н.Н., Власов Я.В., Захарова М.Н. и др. Новые возможности в терапии пациентов с рассеянным склерозом (Резолюция совета экспертов 23 апреля 2022 года, Москва, АО «БИОКАД»). *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2022;122(7-2):84–88.
75. Spirin N.N., Vlasov Y.V., Zakharova M.N. et al. New opportunities in the treatment of patients with multiple sclerosis (Resolution of the Council of Experts on April 23, 2022, Moscow, JSC «BIOCAD»). *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2022;122(7-2):84–88. doi: 10.17116/jnevro202212207284

Информация об авторах

Симанив Тарас Олегович — к.м.н., с.н.с. 6-го неврологического отделения Института клинической и профилактической неврологии ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7256-2668>
 Белкина Анна Андреевна — врач-ординатор ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9444-0960>
 Захарова Мария Николаевна — д.м.н., г.н.с., руководитель 6-го неврологического отделения Института клинической и профилактической неврологии ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1072-9968>

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Information about the authors

Taras O. Simaniv — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, 6th Neurological department, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7256-2668>
 Anna A. Belkina — resident in neurology, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9444-0960>
 Maria N. Zakharova — D. Sci. (Med.), principal researcher, Head, 6th Neurological department, Institute of Clinical and Preventive Neurology, Research Center of Neurology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1072-9968>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.



Современные технологии изучения клеточно-молекулярных механизмов болезни Альцгеймера

М.А. Мухамедьяров, Л.А. Ахмадиева, К.К. Нагиев, А.Л. Зефилов

ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Россия

Аннотация

Болезнь Альцгеймера (БА) является самым распространённым нейродегенеративным заболеванием и самой частой причиной деменции. Данное заболевание характеризуется прогрессирующим угасанием когнитивных функций, связанным с развитием атрофии коры больших полушарий и гиппокампа. В обзоре рассмотрены ключевые факторы патогенеза БА: дисфункция синапсов, накопление и агрегация β -амилоидного пептида, фосфорилирование тау-белка с формированием нейрофибриллярных клубков, митохондриальная дисфункция, нейровоспаление и др. Рассмотрено влияние дисбиоза кишечника на развитие заболевания и показано, в какой степени двусторонняя коммуникация головного мозга и кишечника позволяет переосмыслить ряд патогенетических процессов, лежащих в основе БА. Описаны современные биомедицинские технологии, применяющиеся для изучения БА: создание трансгенных моделей заболевания, электрофизиологические методы, оптогенетика, омиксные технологии, нейровизуализационные подходы и др. Применение новейших биомедицинских технологий позволило добиться значительного прогресса в расширении представлений о патогенетических механизмах БА, а также создаёт основу для разработки современных подходов к терапии данного заболевания.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера; β -амилоидный пептид; таупатия; митохондриальная дисфункция; нейровоспаление; дисбиоз кишечника; биомедицинские технологии

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России по договору № 1/22-3 о предоставлении гранта от 13.07.2022 г. в рамках Программы развития ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Адрес для корреспонденции: 420012, Казань, ул. Бултерова, д. 49. ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет». E-mail: marat.muhamedyarov@kazangmu.ru. Мухамедьяров М.А.

Для цитирования: Мухамедьяров М.А., Ахмадиева Л.А., Нагиев К.К., Зефилов А.Л. Современные технологии изучения клеточно-молекулярных механизмов болезни Альцгеймера. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2023;17(2):75–83.

DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.10>

Поступила 28.02.2023 / Принята в печать 03.04.2023 / Опубликовано 25.06.2023

State-of-the-Art Technologies for Studying Cellular and Molecular Mechanisms Underlying Alzheimer's Disease

Marat A. Mukhamedyarov, Liaisan A. Akhmadieva, Kerim K. Nagiev, Andrey L. Zefirov

Kazan State Medical University, Kazan, Russia

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is the most common neurodegenerative disease and cause of dementia. It is associated with progressive cognitive decline due to the development of cortical and hippocampal atrophy.

We reviewed key factors in AD pathogenesis, such as synaptic dysfunction, accumulation and aggregation of amyloid beta ($A\beta$) peptide, tau phosphorylation causing neurofibrillary tangles, mitochondrial dysfunction, and neuroinflammation. We studied the dysbiosis role in AD development and demonstrated how much the bidirectional communication between the gut and brain sheds new light on some pathogenic processes underlying AD. We reviewed state-of-the-art biomedical technologies for studying AD: transgenic models, electrophysiological techniques, optogenetics, multi-omics approaches, neuroimaging, etc. New biomedical technologies significantly expanded our current knowledge of the AD pathogenesis and laid the groundwork for state-of-the-art treatment approaches.

Keywords: Alzheimer's disease; amyloid beta peptide; tauopathy; mitochondrial dysfunction; neuroinflammation; dysbiosis; biomedical technologies

Source of funding. This work was supported by grant from Kazan State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Grant Agreement No. 1/22-3 dated July 13, 2022) as part of Kazan State Medical University Development Program.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For correspondence: 420012, Russia, Kazan, Butlerova Str., 49, Kazan State Medical University.

E-mail: marat.muhamedyarov@kazangmu.ru. Mukhamedyarov M.A.

For citation: Mukhamedyarov M.A., Akhmadieva L.A., Nagiev K.K., Zefirov A.L. State-of-the-art technologies for studying cellular and molecular mechanisms underlying Alzheimer's disease. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2023;17(2):75–83. (In Russ.) DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.10>

Received 28.02.2023 / Accepted 03.04.2023 / Published 25.06.2023

Введение

Болезнь Альцгеймера (БА) — это нейродегенеративное заболевание, характеризующееся потерей памяти и прогрессирующей нейрокогнитивной дисфункцией в результате атрофии гиппокампа и коры больших полушарий. В 1963 г. были описаны патогномичные признаки БА — сенильные бляшки и нейрофибрилярные клубки [1]. На 2020 г. в мире насчитывалось более 50 млн человек с БА; согласно прогнозам, к 2050 г. это число возрастёт до 152 млн, почти удваиваясь каждые 20 лет [2].

Существуют спорадические и семейные формы БА [3]. Предполагается, что спорадическая форма вызвана сложным взаимодействием генетических и средовых факторов, при этом значительная доля наследуемого риска спорадической БА может быть обусловлена аллелем $\epsilon 4$ гена аполипопротеина E (*ApoE- $\epsilon 4$*) [4]. Семейная форма обусловлена мутациями в генах *APP*, *PSEN1* и *PSEN2*, кодирующих, соответственно, белок-предшественник амилоида, пресенилин-1 и пресенилин-2 [5].

Факторы риска БА

Мутации *APP* приводят к увеличению продукции нейротоксичного β -амилоидного пептида ($A\beta$) [6]. Гены *PSEN1* и *PSEN2*, которые являются частью семейства γ -секретазы, также способствуют выработке более токсичных форм $A\beta$. В одном исследовании в 42 семьях с поздним началом заболевания было выяснено, что риск развития БА возрастает с 20% до 90% с увеличением числа аллелей *ApoE4*. Полногеномное ассоциативное исследование 74 046 человек выявило 11 генов, ассоциированных с БА: *ApoE*, *TREM2*, *CD33*, *BIN1*, *CLU*, *CR1*, *MS4*, *CD2AP*, *ABCA7*, *PICALM* и *EPHA1* [7].

Одним из главных факторов риска, с которым больше всего ассоциируются БА и деменция в целом, является пожилой возраст. По мере старения происходит изменение клеточного состава и нарушается баланс между про- и противовоспалительными ответами организма [8]. Несколько исследований показали, что повышенное артериальное давление у людей среднего возраста является фактором повышенного риска развития БА. Однако имеются данные о том, что низкое артериальное давление в позднем возрасте также может быть ассоциировано с развитием данного заболевания. Исследователи связали нарушение обмена холестерина с развитием БА. Когнитивные функции снижаются быстрее у пациентов с высоким уровнем холестерина [7]. Доказана также взаимосвязь БА с анемией [9].

Патогенетические механизмы БА

В основе патогенеза БА лежит сложное взаимодействие ряда клеточных и молекулярных процессов (рис. 1). Одними из ключевых факторов патогенеза БА являются про-

дукция и накопление $A\beta$ — продукта фрагментации трансмембранного белка-предшественника амилоида [10]. На протяжении долгого времени $A\beta$ рассматривался лишь в качестве фактора патогенеза нейродегенерации. Однако $A\beta$ можно отнести к физиологическим пептидам. Он обнаруживается в пиколярных концентрациях в ликворе, плазме крови и тканях здоровых людей [11]. Исследования показали, что в нормальных физиологических условиях $A\beta$ выполняет ряд важных нейропротективных функций [12]. Мономерные формы $A\beta$ в очень низких концентрациях [11] способны ингибировать чрезмерную активацию синапсов и снижать эксайтотоксичность [11, 12]. Более того, $A\beta$ может быть антибактериальным пептидом системы врождённого иммунитета в ЦНС [12]. Следовательно, избыточная продукция и накопление $A\beta$ запускаются лишь при патологических условиях, что влечёт за собой развитие БА и ряда других нейродегенеративных заболеваний [11].

Тау-белок — это фосфопротеин, который кодируется путём альтернативного сплайсинга гена тау-белка, ассоциированного с микротрубочками [13]. При БА происходит полимеризация тау-белка в нерастворимые нейрофибрилярные клубки. Они обнаруживаются в голубом пятне, а также в транзенториальной и энторинальной областях мозга. Полимеризация тау-белка, в отличие от накопления $A\beta$, происходит внутриклеточно. В коре головного мозга таупатия поражает в первую очередь глутаматергические проекционные нейроны, тогда как ГАМКергические вставочные нейроны остаются в значительной степени нетронутыми [7]. $A\beta$ усиливает глутаматергическую нейротрансмиссию через воздействие на NMDA-рецепторы и увеличивает фосфорилирование тау [14]. Патологический тау-белок также может управлять расщеплением $A\beta$, улавливая в дендритах эндосомы с белком-предшественником амилоида и замыкая тем самым «порочный круг». Сама таупатия начинает развиваться примерно за 10 лет до появления бляшек $A\beta$. Согласно одной из гипотез агрегированный на микротрубочках патологический тау-белок вызывает «эндосомные пробки», которые могут управлять выработкой $A\beta$ [15].

В ряде работ показано, что самые ранние стадии БА характеризуются появлением митохондриальной дисфункции, что связано с накоплением $A\beta$ в этих органеллах [14, 16, 17]. Протеомные исследования продемонстрировали сниженную экспрессию белков окислительного фосфорилирования при БА [18]. Важным фактором патогенеза заболевания является также окислительный стресс [19].

Большое внимание при изучении БА в последние годы уделяется механизмам аутофагии [20]. Нарушение аутофагии рассматривается как один из ключевых факторов, способствующих развитию нейродегенерации [14]. Аутофагия является важным гомеостатическим механизмом в здоровых нейрональных клетках и элементом цитопротекторного ответа на стрессорные воздействия [21]. При БА имеет место

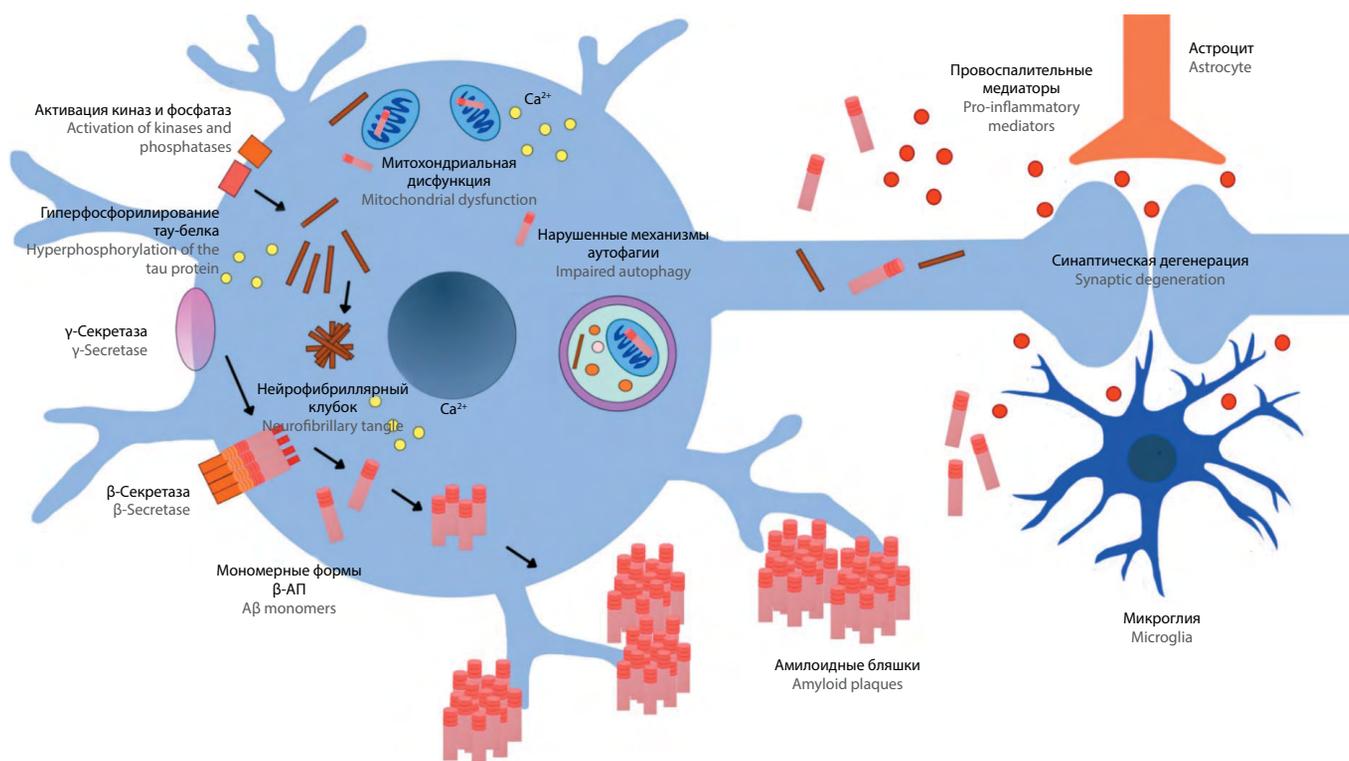


Рис. 1. Клеточно-молекулярные механизмы БА.

Fig. 1. Cellular and molecular mechanisms underlying AD.

взаимосвязь аутофагии и митохондриальной дисфункции [14, 21]. Так, БА характеризуется нарушением митофагии — избирательной формы аутофагии, что способствует накоплению повреждённых митохондрий в нейронах и развитию нейродегенеративного процесса [14]. Нарушение митофагии приводит к олигомеризации Aβ и α-синуклеина в мембране митохондрий, повышению её проницаемости и высвобождению цитохрома С, что способствует запуску нейродеструктивного каспазного каскада и нейровоспалению [21].

Нейровоспаление — это реакция иммунной системы, характеризующаяся активацией глиальных клеток и выработкой медиаторов воспаления. При БА нейровоспаление начинается уже на самых ранних стадиях заболевания. Активация микроглии может предшествовать накоплению Aβ и развитию таупатии в мозге пациентов с БА и животных с моделью данного заболевания [6, 14]. Понятие «активированная микроглия» предполагает запуск ряда динамических процессов в микроглии, включая изменения клеточной морфологии, секреторных медиаторов, пролиферативных реакций и поверхностного фенотипа, а именно поляризацию микроглии [22, 23].

Активация микроглии в ЦНС гетерогенна и происходит по двум противоположным путям: классическому или альтернативному. Классический путь активации запускает поляризацию микроглии по провоспалительному M1 фенотипу, когда как альтернативный путь — по противовоспалительному M2 фенотипу [23]. Изначально во время острого воспаления, вызванного накоплением Aβ, микроглия играет протективную роль и имеет M2 фенотип.

При БА постоянное накопление Aβ в веществе мозга приводит к развитию хронического воспаления, чрезмерной активации микроглии и её поляризации по фенотипу M1 [23, 24]. Чрезмерной активации микроглии способствуют много факторов, одним из которых является активация рецепторов комплемента, которая усугубляет процесс нейровоспаления [4]. В физиологических условиях микроглия и система комплемента играют важную роль в ремоделировании и элиминации синапсов [25]. Взаимосвязь микроглии с нейронами обеспечивает своевременное обнаружение сбоев и запуск ответной реакции в виде поглощения синапсов или быстрой элиминации апоптотических клеток и нефункционирующих синапсов [26]. В процессе развития головного мозга белки системы комплемента опсонизируют лишние синапсы, которые впоследствии фагоцитируются микроглией, экспрессирующей рецепторы комплемента [27].

Сформулирована гипотеза о том, что микроглия и система комплемента могут выступать в качестве ранних медиаторов потери синапсов и их дисфункции, которые возникают до образования сенильных бляшек [16]. Активация рецепторов комплемента микроглии при БА связана с возбуждением сигнального пути NF-κB [4]. Предполагается, что микроглия играет ключевую роль в опосредованной системой комплемента потере синапсов при БА: она является основным источником C1q в головном мозге, фагоцитирует синапсы при воздействии токсичного для синапсов Aβ и приводит астроциты в нейротоксическое состояние (реактивный астроглиоз) [16, 22, 28]. Реактивные астроциты A1 (по аналогии с провоспалительным фенотипом M1) теряют характерные для нормальных астроцитов функции и приобретают новые нейротоксические, впоследствии уничтожая

нейроны и зрелые олигодендроциты. При БА А1 астроциты могут вызывать нейродегенерацию не только за счёт секреции нейротоксина, но и за счёт высвобождения множества компонентов комплемента [29]. Индикатором активации астроцитов служит гиперэкспрессия низкомолекулярного белка S100b, синтез которого при БА может увеличиваться в несколько раз. При увеличении содержания белка S100B в астроцитах усиливается реактивный астроглиоз, что ведёт к нейровоспалению и нейрональной дисфункции [28].

Кальциевая гипотеза патогенеза БА была впервые выдвинута в 1989 г. Установлено, что нарушение гомеостаза кальция фиксируется в нейронах как при старении, так и у пациентов с БА. Дисбаланс влияет на выработку Аβ и гиперфосфорилирование тау-белка [30]. Появляется всё больше доказательств того, что мутации пресенилина, Аβ и гиперфосфорилированный тау-белок способствуют изменению гомеостаза кальция посредством нарушения нормального функционирования ряда транспортёров и каналов плазматической мембраны и мембраны эндоплазматического ретикулума, что, в частности, влияет на

перенос ионов кальция в митохондрии. К транспортёрам и каналам плазматической мембраны относятся кальций-транспортная АТФаза, натрий-кальциевый обменник или натрий-кальций-калиевый обменник, потенциал-управляемые, лиганд-управляемые и депо-управляемые каналы, тогда как к транспортной структуре эндоплазматического ретикулума относятся митохондриально-ассоциированные мембраны. В дополнение к этому олигомеры Аβ, вероятно, нарушают целостность липидного билayers плазматической мембраны с формированием пор [31].

Мутации пресенилина вызывают утечку кальция из эндоплазматического ретикулума в цитозоль [15]. Многие киназы могут быть активированы нарушением гомеостаза кальция, что стимулирует патологическое фосфорилирование тау-белка [30]. Уровень содержания кальция в цитозоле является одним из ключевых факторов, определяющих уязвимость микроокружения для аномального фосфорилирования тау-белка [15]. Однако аномальное накопление внутриклеточного тау-белка также может вызывать перегрузку ионами кальция, дефосфорилирование кальций/

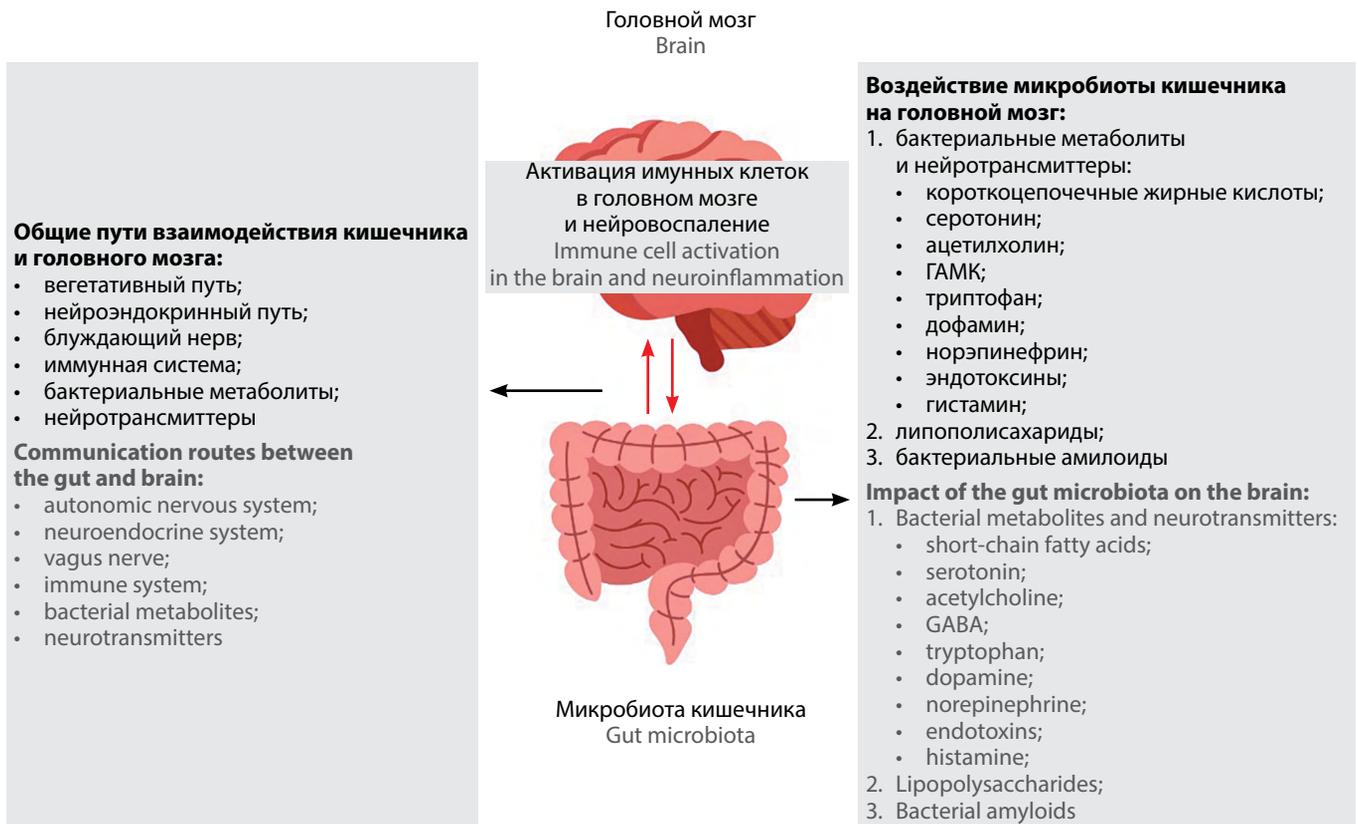


Рис. 2. Взаимодействие головного мозга и микробиоты кишечника при БА.

Ось «микробиота кишечника–мозг» сформирована разнообразными общими путями взаимодействия между кишечником и головным мозгом, которые могут работать независимо друг от друга или совместно. Кишечные микроорганизмы могут продуцировать метаболиты, липополисахариды и бактериальные амилоиды, влияющие на работу головного мозга. Посредством вегетативного, нейроэндокринного, метаболического и иммунологического путей при развитии дисбиоза кишечника в головном мозге запускаются процессы нейровоспаления, что способствует инициации и прогрессированию БА.

Fig. 2. Interaction between the brain and the gut microbiota in AD.

The gut microbiota–brain axis involves various communication routes between the gut and the brain that can operate together or independently. Metabolites, lipopolysaccharides, and bacterial amyloids produced by the gut microbiota can influence the brain functioning. In case of dysbiosis, such communication routes as autonomic nervous system, neuroendocrine system, metabolic pathway, and immune system trigger the brain neuroinflammation leading to AD onset and progression.

кальмодулинзависимой протеинкиназы IV типа и белка, связывающего элемент ответа цАМФ, за счёт активации кальциневрина, что говорит о взаимосвязи данных патологических процессов [30, 31]. Различные формы Аβ способны индуцировать массовое высвобождение ионов кальция из эндоплазматического ретикулума. Олигомеры Аβ могут нарушать гомеостаз эндоплазматического ретикулума косвенно — за счёт увеличения притока кальция из внеклеточного пространства, или напрямую — взаимодействуя с риадиноновым и инозитол-1,4,5-трифосфатным рецепторами, регуляторами высвобождения ионов кальция из внутриклеточных кальциевых депо [30, 31]. Увеличение содержания ионов кальция в цитозоле может стимулировать выработку Аβ [30]. Следовательно, накопление Аβ и дисбаланс ионов кальция — это два взаимодействующих процесса. При этом кальций активирует открытие митохондриальной кальций-зависимой поры со стороны матрикса, но блокирует её с наружной стороны митохондриальной мембраны [32]. Открытие митохондриальной кальций-зависимой поры происходит при усилении работы митохондриально-ассоциированных мембран, которые увеличивают перенос ионов кальция из эндоплазматического ретикулума в митохондрии. Этот процесс приводит к увеличению содержания ионов кальция в цитозоле и, следовательно, к нейрональной дисфункции, апоптозу и некрозу [31].

В последние годы появились данные о взаимосвязи между дисбиозом кишечника и БА. Микробиота кишечника — это совокупность микроорганизмов, живущих в желудочно-кишечном тракте [33]. На моделях животных установлено, что существуют пути двусторонней коммуникации между кишечником и головным мозгом, некоторые из них управляются иммунной системой, другие — блуждающим нервом или модуляцией нейротрансмиттеров микробиотой. Бактерии продуцируют широкий спектр нейротрансмиттеров, включая дофамин, норадреналин, серотонин или гамма-аминомасляную кислоту. Эти нейротрансмиттеры способны проникать через слизистую оболочку кишечника и попадать в кровотоки [34, 35]. Данные одного из исследований указывают на наличие потенциального механизма транслокации Аβ в ЦНС через волокна блуждающих нервов. Он может внести значительный вклад в возникновение БА и нейровоспаления [36]. Другой механизм, влияющий на усиление иммунного ответа, связан со способностью некоторых бактерий продуцировать функциональные внеклеточные амилоидные белки [37].

Дисбактериоз микробиоты в течение жизни может приводить к системной воспалительной реакции и влиять на иммунный ответ микроглии. Активированная микроглия и реактивные астроциты способствуют развитию нейровоспаления и дисфункции гематоэнцефалического барьера. Со временем проницаемость кишечника и гематоэнцефалического барьера увеличивается, что приводит к проникновению метаболитов, продуцируемых микробиотой кишечника, из крови в головной мозг, к воспалению и запуску порочного круга разрушения нейронов. К бактериальным метаболитам, способным прямо или косвенно влиять на функцию мозга, относятся короткоцепочечные жирные кислоты, в том числе ацетат, бутират и пропионат [33]. Обнаружено, что микробиота пожилых людей с БА имеет более низкое разнообразие микрофлоры, что может привести к усилению воспаления в головном мозге и прогрессированию когнитивной дисфункции [34]. Схематично взаимодействие микробиоты кишечника и мозга при БА представлено на рис. 2.

Современные технологии изучения БА

Моделирование БА на экспериментальных животных

Одной из основных технологий для исследования патогенетических механизмов БА является использование трансгенных мышей с целью создания моделей БА. Модели БА можно разделить на группы в зависимости от того, какие конкретно факторы молекулярного патогенеза болезни реализованы при их создании, а также в зависимости от генетических изменений в ключевых генах БА (гиперэкспрессия мутаций, модификации в генах без гиперэкспрессии) и от возраста манифестации моделируемой патологии (формы с ранним или поздним началом) [38, 39].

Раннее начало болезни характерно для семейных форм БА. Многие модели основаны на воссоздании семейной формы БА при помощи гиперэкспрессии мутаций в каузальных альцгеймеровских генах *APP*, *PSEN1* и *PSEN2*. Такие трансгенные модели обычно приводят к значительному церебральному накоплению Аβ в раннем возрасте, развитию таупатии и быстрому прогрессированию нейродегенеративной патологии. В данных моделях наблюдаются признаки сходства с агрегатами тау человека, имеют место более высокие уровни фосфорилирования тау и нестабильные нейрофибрилярные клубки [38]. К моделям БА с ранним началом относятся трансгенные мыши линий Tg2576, APP23, PDAPP, TgCRND8, APPPS1, 5XFAD и 3xTG-BA [33].

Моделирование БА с поздним началом неразрывно связано с воспроизведением факторов риска развития спорадической формы заболевания [38]. Самым известным фактором риска спорадической БА (помимо возраста и женского пола) является генетический аллель *ApoE-ε4*. Для исследовательских целей были созданы модели мышей с различными модификациями в гене *ApoE* (мыши как с инактивацией *ApoE*, так и со встраиванием в геном новых нуклеотидных вариаций данного гена) [39]. Существуют также модели БА на мышах с использованием генов, имеющих меньшее (по сравнению с *ApoE*) влияние на развитие БА, например, модели с нокаутом гена *TREM2* [38, 39]. Отдельно можно выделить модель с модификациями в гене белка-предшественника амилоида *APP* без его гиперэкспрессии (так называемая «нок-инная» модель). Мыши с нок-инной модификацией *APP* продуцируют высокий уровень патологической формы амилоида — Аβ(1-42), а также демонстрируют синаптическую патологию и нарушение памяти, аналогичные таковым у пациентов с БА. Однако эта модель не имеет проявлений таупатии и формирования нейрофибрилярных клубков, у таких животных отсутствуют нейродегенерация и массивная потеря нейронов [39].

При использовании моделей БА всегда возникает вопрос адекватности выбранных параметров развивающейся патологии для трансляции результатов экспериментальных исследований в клинику [38]. Например, в большинстве моделей в определённой степени отражены основные нейропатологические признаки БА (накопление Аβ и др.), а также характерные для БА поведенческие нарушения, но при этом экспериментальные модели БА на животных демонстрируют либо незначительную потерю клеток головного мозга, либо парадоксальное увеличение клеточности [40].

Оценка электрофизиологических характеристик ткани головного мозга

На клеточном уровне БА проявляется выраженными изменениями электрической активности нейронов. Фиксируют ингибирование долговременной потенциации и усиление долговременной депрессии в гиппокампе, а также изменение активности NMDA- и ГАМК-рецепторов [41].

В связи с тем, что БА является синаптической патологией, необходимо отметить важность применения электрофизиологических методов для изучения механизмов патогенеза данного заболевания. Электрофизиология позволяет исследовать состояние головного мозга при БА на разных уровнях. Накопление агрегатов бляшек Аβ и таупатия влияют на синхронизацию/десинхронизацию нейронной активности (т.е. постсинаптических потенциалов и потенциалов действия). Для измерения ионных токов через одиночные каналы в микромасштабе используется методика локальной фиксации потенциала (пэтч-кламп), являющаяся золотым стандартом в клеточной электрофизиологии [42, 43]. Метод локальной фиксации потенциала позволяет регистрировать крайне малые токи от единичных ионных каналов и суммарные ионные токи при фиксированном потенциале мембраны целой клетки. Данную технологию применяют в таких режимах, как «целая клетка», «наружная сторона снаружи» и «внутренняя сторона снаружи».

Первичные культуры нейронов для исследований можно получить от трансгенных мышей или культивировать *in vitro*. Регистрацию электрофизиологических сигналов также можно проводить на срезах головного мозга, полученных от животных моделей БА. Аберрантную нейронную синхронизацию головного мозга можно фиксировать в макромасштабе *in vivo* при помощи скальповых электродов и внутричерепной ЭЭГ. Внутричерепные и эпидуральные записи собирают данные об активности потенциалов локального поля и активности ЭЭГ в животных моделях БА, в то время как экстракраниальные записи активности ЭЭГ или данные магнитоэнцефалографии регистрируются у пациентов с БА на разных стадиях заболевания [43].

Оптогенетика и хемогенетика

Для понимания механизмов передачи сигналов по нейронным цепям и потери памяти при БА применяется оптогенетика. Суть оптогенетического метода заключается в доставке в нейроны или клетки глии генов, кодирующих белки опсины, которые являются светочувствительными ионными каналами и насосами, или белковые комплексы, созданные с использованием растительных или бактериальных фоторецепторов. Доставленные опсины (например, каналородопсин, халородопсин) и «фотопереклюаемые» белки (например, фитохромы, криптохромы) реагируют на разные длины волн электромагнитного излучения. Опсины тем самым инициируют открытие или закрытие ионных насосов и каналов, оказывая возбуждающее или тормозящее влияние на нейроны, а «фотопереклюаемые» белки обеспечивают пространственный и временной контроль белковой активности [44, 45]. Центральная идея оптогенетики заключается в тонкой настройке оптогенетических белков, чтобы они соответствовали определённым субпопуляциям клеток, а затем вызывали желаемые изменения мембранного потенциала с помощью света [40, 45].

Оптогенетический метод был применён для запуска олигомеризации Аβ под воздействием света [45, 46]. Разработаны флуоресцентно меченные оптогенетически активированные варианты Аβ, способные олигомеризоваться *in vitro* при освещении. В исследовании пространственный и временной контроль белковой активности достигаются при использовании «фотопереклюаемых» белков, а именно модифицированной версии белка криптохрома 2 *Arabidopsis thaliana*, который быстро и обратимо олигомеризуется в фототела в присутствии синего света с длиной волны 488 нм. Необходимо разделять метаболические и физические повреждения, вызываемые Аβ, а также повреждения, вызываемые индуцированной светом олигомеризацией Аβ и простой экспрессией Аβ. Индуцированная светом олигомеризация воспроизводит большое количество характерных признаков БА, что делает оптогенетику ценным методом для получения новой информации о механизме действия Аβ и молекулярном патогенезе БА в целом. Данный метод был усовершенствован для создания агрегации Аβ не только *in vitro*, но и *in vivo* [45, 46].

Для ранних стадий БА характерны нарушения эпизодической памяти, в которой решающую роль играет гиппокамп. С помощью оптогенетического исследования можно выявить кортико-гиппокампальные взаимодействия, нарушения медленноволновой активности, дисфункцию работы базального переднего мозга и холинергической системы [45]. Оптогенетические методы можно применять для исследования электрофизиологических особенностей нейронов на животных моделях нейродегенеративных заболеваний, в том числе БА. Например, возможно культивирование клеток гиппокампа и создание смешанной кортикостриатной культуры с последующим использованием оптогенетики. Оптогенетический метод позволил выявить изменения электрофизиологической активности нейронов на ранних этапах созревания культуры, что позволяет сделать вывод о практической важности оптогенетики как диагностического метода для выявления ранних отклонений от нормы [47].

Ещё одним методом, позволяющим (аналогично оптогенетике) избирательно и неинвазивно регулировать функциональное состояние нейронов, является хемогенетика. В рамках данной технологии вместо светочувствительных белков используются химически сконструированные молекулы и лиганды. Например, можно добиться активации модифицированных рецепторов, сопряжённых с G-белком, в результате доставки вирусами соответствующих генов в нейроны. Хемогенетика позволяет изучать функции группы нейронов в определённой структуре мозга посредством инъекции векторного носителя, несущего нужные гены, в «область интереса». Существуют активационный и тормозный типы рецепторов, активируемых исключительно синтетическим лигандом. С их помощью можно контролировать нейронную активность одной и той же популяции клеток в двух разных направлениях, что помогает выявлять их вовлечённость в конкретные физиологические процессы [44]. Поскольку рецепторы модифицируются посредством случайного или сайт-направленного мутагенеза, они могут реагировать только на специфические синтетические лиганды. Влияние эндогенных медиаторов на эти рецепторы невозможно, поэтому при их экспрессии в мозге и введении соответствующего экзогенного синтетического лиганда будет регистрироваться активность только тех клеток, в которых экспрессируются модифицированные

рецепторы. Рецепторы, сопряжённые с G-белком, называются «дизайнерскими» и активируются исключительно «дизайнерскими» лекарствами. Наиболее часто используются «дизайнерскими» лекарствами являются hM3Dq и hM4Di [48].

Оптогенетика и хомогенетика имеют огромные преимущества в функциональных исследованиях нейронных цепей. В сочетании с электрофизиологическими методами можно идентифицировать и оценивать функциональные изменения в связях между отдельными нейронами в моделях БА. При помощи поведенческих тестов также возможно обнаружить нейронные цепи, ответственные за БА-подобную когнитивную дисфункцию в различных животных моделях БА [48].

Омиксные технологии

В изучении патогенеза БА важную роль играют омиксные технологии, в первую очередь протеомика. Протеомный анализ подразумевает структуризацию полученных данных о протеоме и их организацию в модули коэкспрессируемых белков, отражающих различные фенотипы на молекулярном, клеточном уровнях и уровне нейронных цепей. В рамках протеомного анализа мозга при БА проводится ферментативное расщепление белков с последующим разделением с помощью жидкостной хроматографии и измерением пептидов методом tandemной масс-спектрометрии. Информативные сетевые анализы протеома при БА выявили высоковоспроизводимые протеомные модули, некоторые из которых демонстрируют высокую диагностическую чувствительность/специфичность и имеют выраженную корреляцию с накоплением A β и другими признаками БА. Так, с помощью протеомных подходов удалось идентифицировать большой пул микроглиальных и астроцитарных белков, уровень которых прогрессивно увеличивается по мере течения БА [49].

Кроме протеомного анализа, из омиксных методов в изучении механизмов развития БА активно используются геномные подходы. Именно благодаря анализу генома были выявлены как мутации в охарактеризованных выше генах наследственно-семейных форм БА (*APP*, *PSEN1*, *PSEN2*), так и множество других генетических факторов риска развития БА. Известно, что моногенные формы БА составляют лишь часть всех случаев болезни (< 5%), в то время как большинство пациентов имеют полигенную спорадическую форму заболевания. Для идентификации генов, ответственных за развитие спорадических случаев БА, используется полигеномный скрининг, например, полигеномный поиск ассоциаций: при данном исследовании проводится идентификация однонуклеотидных полиморфизмов, связанных с БА, путём статистического анализа частоты вариантов в геноме у пациентов из группы БА по сравнению с контрольной группой [50]. По итогам такого анализа выявление определённых полиморфных аллелей или генотипов позволяет оценивать риск развития БА у конкретного индивидуума [51].

В настоящее время исследуется также транскриптом пациентов с различными стадиями и типами течения БА. Например, транскриптомика одиночных клеток позволяет проводить секвенирование одноклеточной РНК в процессе профилирования десятков тысяч клеток. Полученные данные дают уникальное представление об изменениях

транскрипции, связанных с БА, на клеточном уровне, а также выявляют клеточно-специфические и более общие (системные) нарушения экспрессии большого числа генов [52]. С учётом позднего начала и низкой частоты моногенных форм БА, именно транскрипционные сдвиги, вызванные эпигенетическими изменениями (без нарушения последовательности ДНК), могут иметь большее влияние на инициацию патологического каскада заболевания [51].

Оценка патологических белков и гибели клеток

Одним из классических методов исследования БА является иммуногистохимия, протоколы и методические возможности которой постоянно совершенствуются. Так, в рамках одного из исследований БА был разработан новый протокол циклической мультимплексной флуоресцентной иммуногистохимии срезов височной доли с последующим количественным анализом изображений. По результатам применения методики была оценена гипотеза о различных астроцитарных и микроглиальных фенотипах коры головного мозга людей без когнитивных нарушений и пациентов с БА, а также показано, что фенотипы, ассоциированные с БА, являются гетерогенными [53].

Визуализация ткани головного мозга

Для изучения прогрессирования БА применяются общеизвестные методы нейровизуализации — магнитно-резонансная томография (МРТ) и позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ). С целью визуализации накопления A β в головном мозге пациентов с БА много лет с успехом применяется в клинике методика ПЭТ с использованием специального радиофармпрепарата — ¹¹C-меченного Питтсбургского соединения В (PiB) [54]. Выявление в головном мозге накоплений A β с помощью PiB и других аналогичных соединений стало «золотым стандартом» прижизненной верификации альцгеймеровской патологии и вошло в современные рекомендации по диагностике БА [54, 55]. С недавнего времени ПЭТ-визуализация применяется для выявления накопления тау-белка или активации микроглии [39]. МРТ как более доступный метод применяется сегодня для оценки тонких атрофических изменений гиппокампа и различных участков коры головного мозга (в том числе в режиме МРТ-морфометрии), реконструкции нейросетей (функциональная МРТ покоя), оценки целостности проводящих путей (МРТ-трактография) и прижизненной биохимии мозга (МРТ-спектроскопия) [54]. Всё это позволяет производить детальную нейровизуализацию для определения характерных для БА изменений [56].

Заключение

Механизмы нейродегенеративного процесса при БА включают множество компонентов. Развитие заболевания может быть связано как с определёнными генетическими мутациями, так и с воздействием разнообразных эндо- и экзогенных факторов риска. К ключевым факторам патогенеза БА относятся накопление A β в веществе мозга, фосфорилирование тау-белка с формированием нейрофибрилярных клубков, дисфункция синапсов, митохондриальные нарушения, сбой механизмов аутофагии, нейровоспаление, дисбиоз кишечника и др. Впечатляющий прогресс в изучении клеточно-молекулярных механизмов БА за последние десятилетия стал возможен благодаря развитию и внедрению новых биомедицинских исследо-

вательских технологий, основными из которых являются создание трансгенных моделей заболевания, электрофизиологические методы, опто- и хемотропика, омиксные технологии, нейровизуализационные подходы и др. Ожидается, что именно омиксные технологии смогут расши-

рить наше понимание патогенеза БА, а также внедриться в клиническую практику и удовлетворить многие имеющиеся потребности, такие как диагностика и мониторинг БА. Однако не стоит забывать и про потенциал других методов изучения БА.

Список источников / References

- Naseri N., Wang H., Guo J. et al. The complexity of tau in Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.* 2019;705:183–194. doi: 10.1016/j.neulet.2019.04.022
- Patterson C. World Alzheimer report 2018. The State of the art of dementia research: new frontiers. London; 2018; 48 p.
- Ghavami S., Shojaei S., Yeganeh B. et al. Autophagy and apoptosis dysfunction in neurodegenerative disorders. *Prog. Neurobiol.* 2014;112:24–49. doi: 10.1016/j.pneurobio.2013.10.004
- Eshraghi M., Adlimoghaddam A., Mahmoodzadeh A. et al. Alzheimer's disease pathogenesis: role of autophagy and mitophagy focusing in microglia. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(7):3330. doi: 10.3390/ijms22073330
- Laurent C., Buée L., Blum D. Tau and neuroinflammation: what impact for Alzheimer's disease and tauopathies? *Biomed. J.* 2018;41(1):21–33. doi: 10.1016/j.bj.2018.01.003
- Vidal C., Zhang L. An analysis of the neurological and molecular alterations underlying the pathogenesis of Alzheimer's disease и Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. *Cells.* 2021;10(3):546. doi: 10.3390/cells10030546
- Tiwari S., Atluri V., Kaushik A. et al. Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. *Int. J. Nanomedicine.* 2019;14:5541–5554. doi: 10.2147/IJN.S200490
- Xia X., Jiang Q., McDermott J., Jing-Dong J. Aging and Alzheimer's disease: comparison and associations from molecular to system level. *Aging Cell.* 2018;17(5):e12802. doi: 10.1111/acel.12802
- Faux N.G., Rembach A., Wiley J. et al. An anemia of Alzheimer's disease. *Mol. Psychiatry.* 2014;19(11):1227–1234. doi: 10.1038/mp.2013.178
- Татарникова О.Г., Орлов М.А., Бобкова Н.В. Бета-амилоид и тау-белок: структура, взаимодействие и приноподобные свойства. *Успехи биологической химии.* 2015;55:351–390.
- Tatarnikova O.G., Orlov M.A., Bobkova N.V. Beta-amyloid and tau-protein: structure, interaction, and prion-like properties. *Biochemistry (Mosc.).* 2015;80(13):1800–1819. (In Russ.). doi: 10.1134/S000629791513012X
- Мухамедьяров М.А., Зефирова А.Л. Влияние β-амилоидного пептида на функции возбудимых тканей: физиологические и патологические аспекты. *Успехи физиологических наук.* 2013;44(1):55–71.
- Muhamedjarov M.A., Zefirov A.L. Influence of β-amyloid peptide on functions of excitable tissues: physiological and pathological aspects. *Advances in physiological sciences.* 2013;44(1):55–71. (In Russ.)
- Huang Y., Liu R. The toxicity and polymorphism of β-amyloid oligomers. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(12):4477. doi: 10.3390/ijms21124477
- d'Errico P., Meyer-Luehmann M. Mechanisms of pathogenic tau and Aβ protein spreading in Alzheimer's disease. *Front. Aging Neurosci.* 2020;12:265. doi: 10.3389/fnagi.2020.00265
- Eshraghi M., Adlimoghaddam A., Mahmoodzadeh A. et al. Alzheimer's disease pathogenesis: role of autophagy and mitophagy focusing in microglia. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(7):3330. doi: 10.3390/ijms22073330
- Arnsten A., Datta D., Tredici K., Braak H. Hypothesis: tau pathology is an initiating factor in sporadic Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 2021;17:115–124. doi: 10.1002/alz.12192
- Chen J.X., Yan S.D. Amyloid-β-induced mitochondrial dysfunction. *J. Alzheimers Dis.* 2007;12(2):177–184.
- Chen G., Xu T., Yan Y. et al. Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. *Acta Pharmacol. Sin.* 2017;38(9):1205–1235. doi: 10.1038/aps.2017.28
- Perez Ortiz J.M., Swerdlow R.H. Mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease: Role in pathogenesis and novel therapeutic opportunities. *Br. J. Pharmacol.* 2019;176(18):3489–3507. doi: 10.1111/bph.14585
- Левченкова О.С., Новиков В.Е., Пожилова Е.В. Митохондриальная пора как мишень фармакологического воздействия. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии.* 2014;13(4):24–33.
- Levchenkova O.S., Novikov V.E., Pozhilova E.V. Mitochondrial pore as a target for pharmacological exposure. *Vestnik of Smolensk State Medical Academy.* 2014;13(4):24–33. (In Russ.)
- Glick D., Barth S., Macleod K.F. Autophagy: cellular and molecular mechanisms. *J. Pathol.* 2010;221(1):3–12. doi: 10.1002/path.2697
- Ghavami S., Shojaei S., Yeganeh B. et al. Autophagy and apoptosis dysfunction in neurodegenerative disorders. *Prog. Neurobiol.* 2014;112:24–49. doi: 10.1016/j.pneurobio.2013.10.004
- Hansen D.V., Hanson J.E., Sheng M. Microglia in Alzheimer's disease. *J. Cell Biol.* 2018;217(2):459–472. doi: 10.1083/jcb.201709069
- Guo S., Wang H., Yin Y. Microglia polarization from M1 to M2 in neurodegenerative diseases. *Front. Aging Neurosci.* 2022;14:815347. doi: 10.3389/fnagi.2022.815347
- Chew G., Petretto E. Transcriptional networks of microglia in Alzheimer's disease and insights into pathogenesis. *Genes (Basel).* 2019;10(10):798. doi: 10.3390/genes10100798
- Harry G.J. Microglia during development and aging. *Pharmacol. Ther.* 2013;139(3):313–326. doi: 10.1016/j.pharmthera.2013.04.013
- Borst K., Dumas A.A., Prinz M. Microglia: immune and non-immune functions. *Immunity.* 2021;54(10):2194–2208. doi: 10.1016/j.immuni.2021.09.014
- Soteros B.M., Sia G.M. Complement and microglia dependent synapse elimination in brain development. *WIREs Mech. Dis.* 2022;14(3):e1545. doi: 10.1002/wsbm.1545
- Горбачева Л.Р., Помыткин И.А., Сурин А.М. и др. Астроциты и их роль в патологии центральной нервной системы. *Российский педиатрический журнал.* 2018;21(1):46–53.
- Gorbacheva L.R., Pomytkin I.A., Surin A.M. et al. Astrocytes and their role in the pathology of the central nervous system. *The Russian Pediatric Journal.* 2018;21(1):46–53. (In Russ.)
- Liddelow S.A., Guttenplan K.A., Clarke L.E. et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature.* 2017;541(7638):481–487. doi: 10.1038/nature21029
- Casella R., Cecchi C. Calcium dyshomeostasis in Alzheimer's disease pathogenesis. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(9):4914. doi: 10.3390/ijms22094914
- Wang X., Zheng W. Ca²⁺ homeostasis dysregulation in Alzheimer's disease: a focus on plasma membrane and cell organelles. *FASEB J.* 2019;33(6):6697–6712. doi: 10.1096/fj.201801751R
- Wang W., Zhao F., Ma X. et al. Mitochondria dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's disease: recent advances. *Mol. Neurodegener.* 2020;15(1):30. doi: 10.1186/s13024-020-00376-6
- Sochocka M., Donskow-Lysoniewska K., Diniz B.S. The gut microbiome alterations and inflammation-driven pathogenesis of Alzheimer's disease — a critical review. *Mol. Neurobiol.* 2019;56(3):1841–1851. doi: 10.1007/s12035-018-1188-4
- Strandwitz P. Neurotransmitter modulation by the gut microbiota. *Brain Res.* 2018;1693(Pt B):128–133. doi: 10.1016/j.brainres.2018.03.015
- Megur A., Baltrukienė D., Bukelskienė V. The microbiota–gut–brain axis and Alzheimer's disease: neuroinflammation is to blame? *Nutrients.* 2020;24;13(1):37. doi: 10.3390/nu13010037
- Sun Y., Sommerville N.R., Liu J. Intra – gastrointestinal amyloid – β1–42 oligomers perturb enteric function and induce Alzheimer's disease pathology. *J. Physiol.* 2020;598(19):4209–4223. doi: 10.1113/JP279919
- Friedland R.P., Chapman M.R. The role of microbial amyloid in neurodegeneration. *PLoS Pathog.* 2017;13(12):e1006654. doi: 10.1371/journal.ppat.1006654
- Tai L.M., Weng J.M., LaDu M.J., Brady S.T. Relevance of transgenic mouse models for Alzheimer's disease. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2021;177:1–48. doi: 10.1016/bs.pmbts.2020.07.007
- Nakai T., Yamada K., Mizoguchi H. Alzheimer's disease animal models: elucidation of biomarkers and therapeutic approaches for cognitive impairment. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(11):5549. doi: 10.3390/ijms22115549
- Wirhth O., Zampar S. Neuron loss in Alzheimer's Disease: translation in transgenic mouse models. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(21):8144. doi: 10.3390/ijms21218144
- Tönnies E., Trushina E. Oxidative Stress, synaptic dysfunction, and Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 2017;57(4):1105–1121. doi: 10.3233/JAD-161088
- Babiloni C., Blinowska K., Bonanni L. et al. What electrophysiology tells us about Alzheimer's disease: a window into the synchronization and connectivity of brain neurons. *Neurobiol. Aging.* 2020;85:58–73. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2019.09.008
- Шуваев А.Н., Салмин В.В., Кувачева Н.В. и др. Современные тенденции в развитии метода локальной фиксации потенциала: новые возможности для нейрофармакологии и нейробиологии. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2015;9(4):54–58.
- Shuvaev A.N., Salmin V.V., Kuvacheva N.V. et al. Modern tendencies in the development of the patch-clamp technique: new opportunities for neuropharmacology and neurobiology. *Annals of clinical and experimental neurology.* 2015;9(4):54–58. (In Russ.)

44. Новиков Н.И., Бразник Е.С., Кичигина В.Ф. Применение опто- и хемогенетических методов для изучения двигательных нарушений при болезни Паркинсона. *Современные технологии в медицине*. 2019;11(2):150–163.
- Novikov N.I., Brazhnik E.S., Kichigina V.F. The use of optogenetic and dreads techniques: applications to the behavioral pathology in Parkinson's disease. *Sovremennye tehnologii v medicine*. 2019;11(2):150–163. (In Russ.). doi: 10.17691/stm2019.11.2.21
45. Mirzayi P., Shobeiri P., Kalantari A. et al. Optogenetics: implications for Alzheimer's disease research and therapy. *Mol. Brain*. 2022;15(1):20. doi: 10.1186/s13041-022-00905-y
46. Lim C.H., Kaur P., Teo E. et al. Application of optogenetic Amyloid- β distinguishes between metabolic and physical damages in neurodegeneration. *Elife*. 2020;9:e52589. doi: 10.7554/eLife.52589
47. Власова О.Л., Артамонов Д.Н., Ерофеев А.И., Безпрозванный И.Б. Применение оптогенетических подходов к исследованию электрофизиологических особенностей нейронов у мышей-моделей нейродегенеративных заболеваний. *Первая Всероссийская конференция и Школа с международным участием «Оптогенетика и оптофармакология»: сборник научных трудов*. СПб.; 2018:23–25.
- Vlasova O.L., Artamonov D.N., Erofeev A.I. Application of optogenetic approaches to the study of electrophysiological features of neurons in mouse models of neurodegenerative diseases. In: *First All-Russian Conference and School with International Participation "Optogenetics and Optopharmacology": collection of scientific papers*. St. Petersburg; 2018:23–25. (In Russ.)

Информация об авторах

Мухамедьяров Марат Александрович — д.м.н., профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0397-9002>

Ахмадиева Ляисан Айдаровна — студент лечебного факультета ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Россия, <https://orcid.org/0009-0000-4926-3192>

Нагиев Керим Казбекович — аспирант кафедры нормальной физиологии, ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Россия, <https://orcid.org/0009-0000-1577-9780>

Зефирова Андрей Львович — д.м.н., академик РАН, профессор каф. нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7436-7815>

Вклад авторов. *Мухамедьяров М.А.* — формулирование целей и задач, руководство и координация работы, анализ данных, написание и редактирование рукописи; *Ахмадиева Л.А.* — поиск и анализ данных, написание и редактирование рукописи; *Нагиев К.К.* — поиск и анализ данных; *Зефирова А.Л.* — анализ данных, редактирование рукописи. Все авторы одобрили финальную версию перед публикацией.

48. Ying Y., Wang J. Illuminating neural circuits in Alzheimer's disease. *Neurosci. Bull.* 2021;37(8):1203–1217. doi: 10.1007/s12264-021-00716-6
49. Rayaprolu S., Higginbotham L., Bagchi P. et al. Systems-based proteomics to resolve the biology of Alzheimer's disease beyond amyloid and tau. *Neuropsychopharmacology*. 2021;46(1):98–115. doi: 10.1038/s41386-020-00840-3
50. Jung T.J., Kim Y.H., Bhalla M. et al. Genomics: new light on Alzheimer's disease research. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(12):3771. doi: 10.3390/ijms19123771
51. Bertram L., Tanzi R.E. Genomic mechanisms in Alzheimer's disease. *Brain Pathol.* 2020;30(5):966–977. doi: 10.1111/bpa.12882
52. Mathys H., Davila-Velderrain J., Peng Z. et al. Single-cell transcriptomic analysis of Alzheimer's disease. *Nature*. 2019;570(7761):332–337. doi: 10.1038/s41586-019-1195-2
53. Muñoz-Castro C., Noori A., Magdamo C.J. et al. Cyclic multiplex fluorescent immunohistochemistry and machine learning reveal distinct states of astrocytes and microglia in normal aging and Alzheimer's disease. *J. Neuroinflammation*. 2022;19(1):30. doi: 10.1186/s12974-022-02383-4
54. Vinters H.V. Emerging concepts in Alzheimer's disease. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2015;10:291–319. doi: 10.1146/annurev-pathol-020712-163927
55. Reitz C., Mayeux R. Alzheimer disease: epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochem. Pharmacol.* 2014;88(4):640–651. doi: 10.1016/j.bcp.2013.12.024
56. Qiu S., Joshi P.S., Miller M.I. et al. Development and validation of an interpretable deep learning framework for Alzheimer's disease classification. *Brain*. 2020;143(6):1920–1933. doi: 10.1093/brain/awaa137

Information about the authors

Marat A. Mukhamedyarov — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of normal physiology, Kazan State Medical University, Kazan, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0397-9002>

Liaisan A. Akhmadieva — student, General medicine faculty, Kazan State Medical University, Kazan, Russia, <https://orcid.org/0009-0000-4926-3192>

Kerim K. Nagiev — postgraduate student, Department of the normal physiology, Kazan State Medical University, Kazan, Russia, <https://orcid.org/0009-0000-1577-9780>

Andrey L. Zefirov — D. Sci. (Med.), Academician of RAS, Professor, Department of normal physiology, Kazan State Medical University, Kazan, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7436-7815>

Author contribution. *Mukhamedyarov M.A.* — formulation of goals and objectives, management and coordination of work, data analysis, writing and editing the manuscript; *Akhmadieva L.A.* — search and analysis of data, writing and editing the manuscript; *Nagiev K.K.* — search and analysis of data; *Zefirov A.L.* — data analysis, manuscript editing. All authors made a final approval of the version to be published.



Одномоментное стентирование внутренней сонной артерии на экстракраниальном и интракраниальном уровнях у пациента с разомкнутым Виллизиевым кругом и сопутствующей вазоренальной гипертензией

М.В. Агарков^{1,2}, А.А. Сафуанов¹, О.С. Евреева¹, О.Б. Герцог¹, О.С. Сафуанова¹, В.В. Попов³, А.А. Хильчук³

¹ГБУЗ Калининградской области «Гусевская центральная районная больница», Гусев, Россия;

²АНО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», Санкт-Петербург, Россия;

³СПб ГБУЗ «Городская больница № 40», Сестрорецк, Россия

Аннотация

Представлен случай лечения пациента 72 лет с рецидивирующими транзиторными ишемическими атаками в бассейне правой внутренней сонной артерии (ВСА) на фоне неконтролируемой артериальной гипертензии. По данным дуплексного сканирования и прямой ангиографии у пациента выявлены стеноз до 60% с признаками нестабильной бляшки в шейном сегменте, а также стеноз до 90% в кавернозном сегменте правой ВСА. При дообследовании у пациента обнаружен стеноз левой почечной артерии 80%. На первом этапе пациенту выполнено отсроченное одномоментное стентирование экстракраниального и интракраниального стенозов правой ВСА, на втором этапе — стентирование левой почечной артерии. Осложнений во время операций и в послеоперационном периоде не возникло. Результаты показывают, что данная тактика лечения является малоинвазивной, безопасной и эффективной у симптомных пациентов и может рассматриваться как один из способов лечения данной патологии.

Ключевые слова: интракраниальный стеноз; каротидное стентирование; разомкнутый Виллизиев круг; церебральная ревазуляция

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациента.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешних источников финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Адрес для корреспонденции: 238051, Гусев, ул. Московская, д. 56, ГБУЗ Калининградской области «Гусевская центральная районная больница». E-mail: dr.agarkovmv@gmail.com. Агарков М.В.

Для цитирования: Агарков М.В., Сафуанов А.А., Евреева О.С., Герцог О.Б., Сафуанова О.С., Попов В.В., Хильчук А.А. Одномоментное стентирование внутренней сонной артерии на экстракраниальном и интракраниальном уровнях у пациента с разомкнутым Виллизиевым кругом и сопутствующей вазоренальной гипертензией. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2023;17(2):84–91.

DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.11>

Поступила 17.06.2022 / Принята в печать 23.08.2022 / Опубликовано 25.06.2023

Single-Stage Extracranial and Intracranial Stenting of the Internal Carotid Artery in a Patient with Open Circle of Willis and Associated Renovascular Hypertension

Maksim V. Agarkov^{1,2}, Alexey A. Safuanov¹, Svetlana T. Evreeva¹, Olga B. Gertsog¹, Olga S. Safuanova¹, Vitaly V. Popov³, Anton A. Khilchuk³

¹Gusev Central District Hospital, Gusev, Russia;

²Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, Saint-Petersburg, Russia;

³City Hospital No. 40, Sestroretsk, Russia

Abstract

We describe a case of 72-year-old patient with recurrent transient ischemic attacks in the right internal carotid artery (ICA) territory associated with uncontrolled hypertension. Duplex ultrasonography and carotid angiography showed a < 60% stenosis with signs of a vulnerable plaque in the cervical segment, as well as a < 90% stenosis in the cavernous segment of the right ICA. After further examination the patient was diagnosed with an 80% renal artery stenosis. First, the patient

had a single-stage stenting for extracranial and intracranial stenoses of the right ICA, then left renal artery stenting. No intraoperative and postoperative complications were observed. These results show that this surgical treatment is minimally invasive, safe, and effective in symptomatic patients and may be considered for the disease.

Keywords: intracranial stenosis; carotid stenting; open circle of Willis; cerebral revascularization

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patient.

Source of funding. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For correspondence: 238051, Russia, Gusev, Moskovskaya Str., 56. Gusev Central District Hospital. E-mail: dr.agarkovmv@gmail.com. Agarkov M.V.

For citation: Agarkov M.V., Safuanov A.A., Evreeva S.T., Gertsog O.B., Safuanova O.S., Popov V.V., Khilchuk A.A. Single-stage extracranial and intracranial stenting of the internal carotid artery in a patient with open circle of Willis and associated renovascular hypertension. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2023;17(2):84–91. (In Russ.) DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.11>

Received 17.06.2022 / Accepted 23.08.2022 / Published 25.06.2023

Введение

Связь сосудов шеи и сознания человека описана ещё во времена античной Греции — так, термин «сонная артерия» (СА) происходит от древнегреческого *karos* (κάρος), что означает «одурманивать». Первое описание СА приписывается Гиппократу [1]. С тех пор понимание причин инсульта постепенно расширялось. Первым в Средневековой Европе о связи стенозов СА и инсульта сообщил шведский патолог Wepfer, который в своей работе «Historiae Apoplecticorum» (1658) представил 4 случая смерти пациентов от апоплексического удара, у которых при вскрытии были обнаружены тромбы в СА. Важной вехой понимания церебрального кровообращения стала работа Thomas Willis «Cerebri Anatome» (1664), в которой он описал артериальный круг головного мозга, теперь носящий его имя. Значение анастомозов было подтверждено в данной работе случаем смерти от ракового поражения пациента, у которого при аутопсии была выявлена хроническая окклюзия СА, не приведшая к апоплексическому удару. В дальнейшем связь стенозов СА и нарушения мозгового кровообращения получила всё большую доказательную базу.

Так, в конце XIX в. была доказана связь между закупоркой СА и инфарктом головного мозга. Х. Киари выдвинул гипотезу тромбоземболии, изучая изъязвленную бляшку и поверхностный тромб. Его результаты были первыми, показавшими, что атеросклероз СА является важным источником церебральных эмболов, вызывающих инсульт, и побудили его предложить исследовать СА при вскрытии. В 1914 г. Р. Хант определил, что как окклюзия, так и стеноз СА могут вызывать церебральные синдромы, и для описания этого ввёл термин «церебральная перемежающаяся хромота». После накопления данных о влиянии стенозов СА на развитие инсульта во второй половине XX в. стали разрабатываться различные способы восстановления кровотока по СА. Первая хирургическая реконструкция СА была проведена в Буэнос-Айресе в 1951 г. нейрохирургом Р. Карреа, который выполнил редресацию внутренней СА (ВСА) с анастомозом наружной СА [2]. М. Дебейки провёл первую каротидную эндартерэктомию в августе 1953 г. [3]. С. Кербер в 1980 г. осуществил первую баллонную ангиопластику СА во время эндартерэктомии [4], М. Клаус в 1981 г. — первую изолированную ангиопластику СА [5]. На основании полученного опыта и данных о высокой эф-

фективности стентирования коронарных артерий каротидное стентирование также вскоре заменило изолированную баллонную ангиопластику СА.

В настоящее время проводится хирургическое лечение экстракраниальных стенозов у пациентов без симптоматики и перенесённых острых нарушений мозгового кровообращения (ОНМК) — при бессимптомных стенозах СА и у пациентов, перенёвших ОНМК или имеющих симптоматику — с церебральной недостаточностью. В обоих вариантах польза от восстановления просвета ВСА доказана. Современные исследования ревазуляризации направлены на уточнение показаний и выбор её оптимального способа в зависимости от сопутствующего клинического профиля и кумулятивной коморбидности. Дополняются как показания к ревазуляризации, так и способы её проведения: стентирование или открытое хирургическое вмешательство.

Одной из нерешённых проблем в хирургии ВСА является целесообразность лечения СА на интракраниальном уровне. Так, встречаемость симптомного поражения ВСА в интракраниальных сегментах составляет от 1 до 15 на 100 тыс. [6]. С учётом возможности ревазуляризации интракраниальных сегментов ВСА только эндоваскулярными методами или созданием технически сложного транскраниального анастомоза исследования, посвященные данной патологии, были сосредоточены в основном на сравнении эффективности медикаментозной терапии с баллонной ангиопластикой и стентированием СА в интракраниальных сегментах.

Эндоваскулярное лечение в качестве профилактики инсульта у пациентов с внутричерепными стенозами появилось в 1980-х гг. Баллонная ангиопластика выполнялась пациентам с повторными нарушениями мозгового кровообращения на фоне медикаментозной терапии. Ближайшие и отдалённые результаты ангиопластики сопровождалась высокой частотой тромбозов и рестенозов, а частота перипроцедурных инсультов составляла 4–50% [7–9]. Внедрение специальных стентов для интракраниальных отделов снизило частоту инсультов до 10% в год при рестенозе до 35% [10].

В многоцентровом исследовании SAMMPRIS (Stenting and Aggressive Medical Management for Preventing Recurrent

stroke in Intracranial Stenosis) оценивалась эффективность медикаментозного лечения в сочетании с ангиопластикой и стентированием стентом Wingspan по сравнению только с медикаментозным лечением в отношении профилактики инсульта у пациентов высокого риска со стенозами 70–99% интракраниальных артерий. Исследование было остановлено досрочно в связи с высокой частотой инсультов и смертей в течение 30 дней после операции в группе стентированных пациентов (14,7 против 5,8% в группе консервативной терапии) [11]. В 2019 г. в журнале «Stroke» вышла статья, посвящённая результатам исследования WEAVE (Wingspan Stent System Post Market Surveillance). В статье была представлена оценка безопасности установки интракраниального стента Wingspan. В анализ вошли 152 пациента, которым был имплантирован данный стент. Результаты анализа оказались достаточно обнадеживающими — перипроцедурные и ранние послеоперационные осложнения возникли лишь в 2,6% случаев. Отдалённые результаты применения интракраниальных стентов пока недоступны. Стоит также указать на сложные критерии отбора пациентов и экспертный уровень хирургических бригад, участвовавших в исследовании [12]. Таким образом, коррекция поражений интракраниальных отделов ВСА остается серьёзной проблемой. Результаты эндоваскулярных вмешательств у пациентов с интракраниальными стенозами ещё далеки от идеальных и уступают медикаментозной терапии [13, 14].

В современных рекомендациях стентирование стенозов интракраниальных артерий рассматривается только как эффективный метод профилактики повторной окклюзии в зоне стеноза после восстановления кровотока методом механической тромбэкстракции при остром ишемическом инсульте. Таким образом, при наличии выраженного, но асимптомного интракраниального стеноза в современных условиях рекомендовано проведение консервативной терапии [15]. Тем не менее существует большая группа больных с симптомными стенозами, вызывающими частые рецидивирующие транзиторные ишемические атаки (ТИА) или ОНМК. У подобных пациентов необходимо рассмотреть возможность выполнения эндоваскулярной ангиопластики и/или стентирования интракраниальных отделов ВСА для улучшения отдалённого прогноза [15].

Описание клинического случая

Пациент М., 72 года, поступил в ГБУЗ «Гусевская ЦРБ» с подозрением на ОНМК в бассейне правой ВСА спустя 4 ч от начала симптоматики. Жалобы при поступлении были на слабость в левых конечностях, головокружение, онемение лица.

Из анамнеза известно, что ранее на фоне подъёма артериального давления (АД) до 240 мм рт. ст. у пациента развивались нарушение речи и онемение лица, проходившие после нормализации АД до привычных цифр — 180/90 мм рт. ст. Пациент отмечал не менее 4 подобных эпизодов за последние 2 года. Последний эпизод онемения лица развился на фоне привычных цифр АД и сопровождался слабостью в левых конечностях. После обращения за медицинской помощью был госпитализирован с диагнозом: ЦВБ, ОНМК? Сопутствующие: Гипертоническая болезнь 3 степени, риск 4.

Анамнез жизни: ОНМК, острый инфаркт миокарда отрицает. Страдает артериальной гипертензией в течение



Рис. 1. Бесконтрастная КТ головного мозга пациента М. при поступлении. ASPECTS 10 баллов.

Fig. 1. Plain brain multislice computed tomography of patient M. on admission. ASPECTS 10.

длительного времени с максимальными цифрами АД 250/130 мм рт. ст., антигипертензивную терапию принимал нерегулярно. Стаж курения более 50 лет. На диспансерном учёте по поводу хронических заболеваний не состоит. Травмы отрицает, со слов алкоголь не употребляет.

Объективный осмотр: телосложение гиперстеническое, кожные покровы гиперемированы. Температура тела 36,3°C. АД на момент поступления 210/100 мм рт. ст. Электрокардиограмма: синусовый ритм с ЧСС 105 уд/мин. Признаки гипертрофии левого желудочка. Электрическая ось сердца смещена влево. ЧДД 18 в минуту. Глюкоза крови 4,4 ммоль/л; МНО — 0,9; тромбоциты 380×10^9 /л; эритроциты $5,2 \times 10^{12}$ /л%; гемоглобин 165 г/л; лейкоциты $9,4 \times 10^9$ /л, гематокрит 0,54.

Неврологический статус: Шкала Глазго — 15 баллов, сознание ясное, речь не нарушена. Общемозговая симптоматика отсутствует. Зрачки правильной формы, D = S, фото-реакции живые, движения глазных яблок не ограничены, нистагма нет. Слегка сглажена левая носогубная складка. Глотание не нарушено. Сухожильные рефлексы с конечностей D < S. Гипотония мышц левых конечностей: парез в левой руке 3 балла, парез в левой ноге 2 балла. Гемигипестезия слева. Пальценосовую пробу выполняет с промахиванием слева. Положительный рефлекс Бабинского слева. Суммарный неврологический дефицит по шкале NIHSS 8 баллов [16].

По данным мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) головного мозга выявлены постишемические кисты теменной доли правой гемисферы (рис. 1). Признаков ОНМК не установлено, шкала ASPECTS (Alberta Stroke Program Early CT Score) — 10 баллов [17].

По данным ультразвукового сканирования сонных артерий (УЗДГ), выполненного в приёмном покое, выявлен стеноз правой ВСА 70% в шейном сегменте, бляшка была описана как тип 3С по классификации GWN (Gray–Weale–Nicolaidis) и расценена как нестабильная [18, 19]. Скорость кровотока в зоне стеноза составила 140 см/с.

Учитывая характер бляшки по данным УЗДГ, отсутствие признаков геморрагического поражения, а также отсутствие ранних признаков ишемического поражения голов-

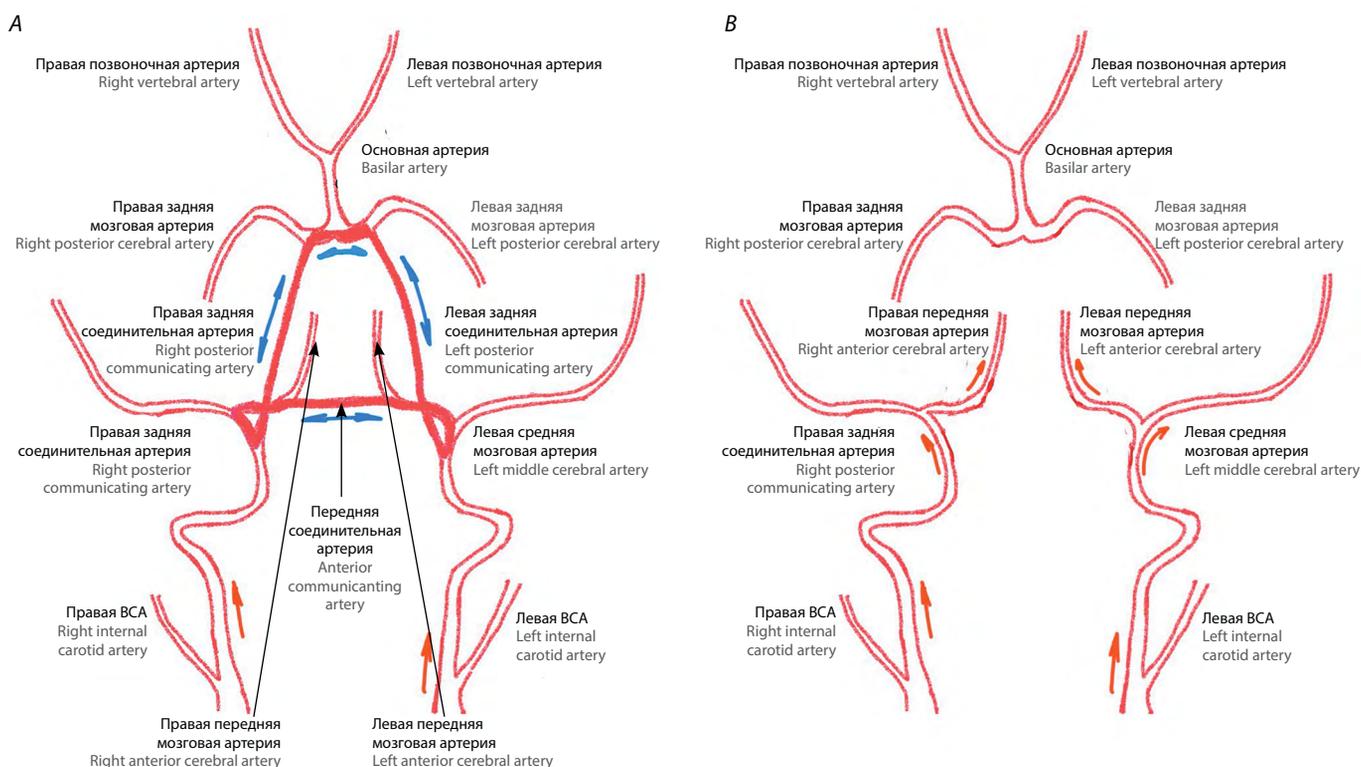


Рис. 2. Схема Виллизиева круга головного мозга пациента М.

A — тип О (полностью замкнутый Виллизиев круг, синими стрелками обозначен кровотока по кругу Вилленса — возможность реверсивного артериального кровотока при стенозе или окклюзии экстракраниальных артерий), встречаемость в популяции — 11,9%; *B* — тип Ac2Pc (полностью разомкнутый Виллизиев круг, нет возможности компенсации кровотока при поражении экстракраниальных артерий), встречаемость в популяции — 9,3%.

Fig. 2. The schematic view of the patient M.' circle of Willis.

A — type O (fully closed CoW, with blue arrows indicating blood flow in the Circle of Willis — possible reverse arterial blood flow if extracranial arteries are stenosed or occluded), incidence 11.9%; *B* — type Ac2Pc (fully open CoW, with un-compensatable blood flow if extracranial arteries are involved), incidence 9.3%.

ного мозга по данным МСКТ, невозможность проведения тромболитической терапии (время от начала симптоматики более 4,5 ч), пациенту выполнена церебральная ангиография для определения показаний и принятия решения об эндоваскулярной тромбэкстракции. Выполнение перфузии головного мозга не проводилось, т.к. время от начала заболевания составило менее 6 ч [20]. На церебральной ангиографии выявлены стеноз правой VCA в шейном сегменте (C1 сегмент) до 60% с признаками нестабильной бляшки (затёк контраста в полость ядра) и флотирующей интимы, стеноз правой VCA в кавернозном сегменте (C4 сегмент) [21] до 90%. Левая VCA, позвоночные артерии — без признаков стенозирования. Признаков артериовенозных мальформаций, аневризм головного мозга не выявлено. Тип Виллизиева круга был определён как разобщённый и классифицирован как тип Ac2Pc. Установлены отсутствие передней соединительной артерии, а также гипоплазия задних соединительных артерий [22] (рис. 2).

Церебральный кровоток в бассейне правой гемисферы — без признаков замедления, степень кровотока TICI3 (thrombolysis in cerebral infarction) [23] (рис. 3).

Учитывая сохранение кровотока на уровне TICI3 по правым VCA и средней мозговой артерии, а также повышенный риск геморрагической трансформации на фоне назначения

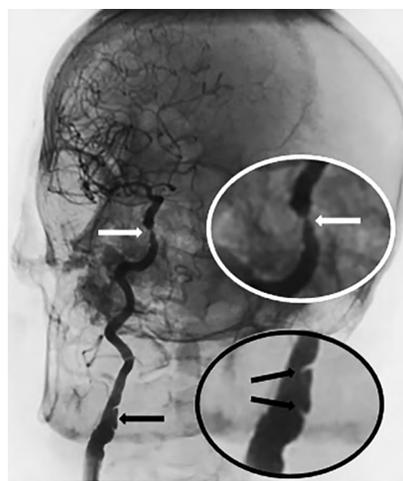


Рис. 3. Церебральная ангиография пациента М.

Выявлен стеноз правой VCA в C1 сегменте до 60% с признаками флотирующей интимы и затёком контраста в ядро бляшки (чёрные стрелки). Стеноз до 90% VCA в C4 сегменте (белые стрелки).

Fig. 3. Patient M.' cerebral angiography.

Right ICA C1 stenosis to 60% with signs of floating intima and contrast agent leakage into the plaque core (black arrows) in ICA C4 stenosis to 90% (white arrows).

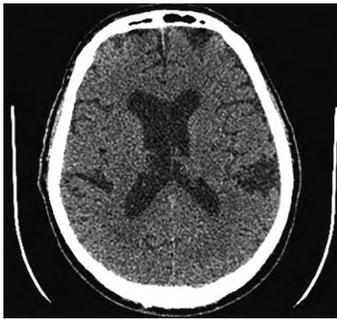


Рис. 4. МСКТ пациента М. через 24 ч после поступления. ASPECTS 10 баллов, данных за геморрагическую трансформацию не получено.

Fig. 4. Patient M.'s MSCT scan in 24 h after admission. ASPECTS 10, no signs of hemorrhagic transformation.

антиагрегантной терапии и гепаринизации от экстренного стентирования решено отказаться в пользу первичной консервативной тактики. Через 24 ч после повторной МСКТ (рис. 4) рекомендовано начать двойную антиагрегантную терапию. Спустя 12 ч после госпитализации у пациента отмечен полный регресс симптоматики.

При дообследовании по данным УЗДГ почечных артерий (ПА) выявлен стеноз левой ПА до 85% с ускорением кровотока в зоне стеноза до 270 см/с. Основываясь на исследованиях связи скорости кровотока в зоне стеноза и его гемодинамической значимости [24], пациенту был выставлен диагноз: Генерализованный атеросклероз. Гемодинамически значимый стеноз левой ПА. Вторичная артериальная гипертензия 3 степени. Цереброваскулярная болезнь. Транзиторная ишемическая атака. Риск 4 (очень высокий).

Для контроля АД пациенту была назначена следующая схема антигипертензивной терапии: амлодипин 10 мг 1 раз в сутки (утром), гипотиазид 100 мг 1 раз в сутки (утром), метопролол 50 мг 2 раза в сутки (утром и вечером). В первые 2 сут приёма препаратов АД оставалось на привычных для пациента цифрах.

На 5-й день госпитализации у пациента развился повторный эпизод слабости в левых конечностях на фоне АД 210/100 мм рт. ст. Учитывая анамнез, данные МСКТ головного мозга, данные церебральной ангиографии, показавшей выраженные стенозы ВСА при разомкнутом виллизиевом круге, высокий риск цереброваскулярных событий на фоне неконтролируемой артериальной гипертензии, рецидивирующие ТИА, принято решение первым этапом выполнить одномоментное стентирование правой ВСА в С1 и С4 сегментах, ангиографию ПА с решением вопроса о необходимости реваскуляризации. В случае подтверждения значимости стеноза левой ПА вторым этапом выполнить её стентирование.

Предварительно для контроля артериальной гипертензии и профилактики ишемии головного мозга во время манипуляций пациенту в операционной был назначен урапидил по следующей схеме: 25 мг внутривенно медленно, далее была налажена постоянная инфузия урапидила со скоростью 2 мг/мин. На фоне инфузии урапидила в течение 20 мин произошла стабилизация АД на уровне 170/100 мм рт. ст. В качестве премедикации пациенту было введено внутри-

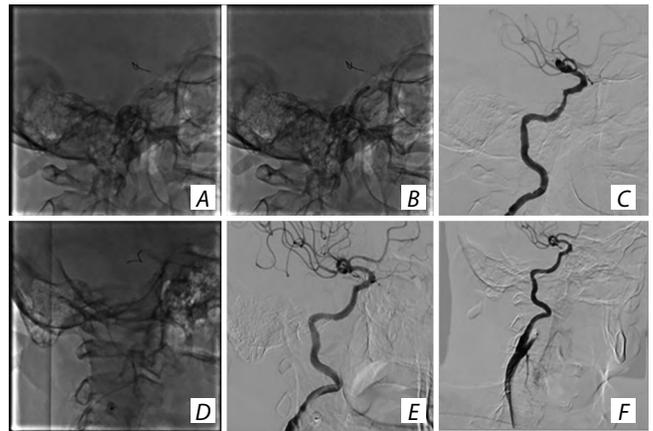


Рис. 5. Реваскуляризация СА пациента М.

A — проводник расположен в средней мозговой артерии; *B* — ангиопластика ВСА в С4 сегменте; *C* — ВСА после баллонной ангиопластики С4 сегмента; *D* — позиционирование стента в зоне остаточного стеноза ВСА; *E* — ВСА после стентирования С4 сегмента; *F* — стентирование ВСА в С1 сегменте.

Fig. 5. Transcarotid artery revascularization in patient M.

A — guidewire positioning in MCA; *B* — ICA C4 angioplasty; *C* — ICA post C4 angioplasty; *D* — stent positioning in the area of ICA residual stenosis; *E* — ICA post C4 stenting; *F* — C1 ICA stenting.

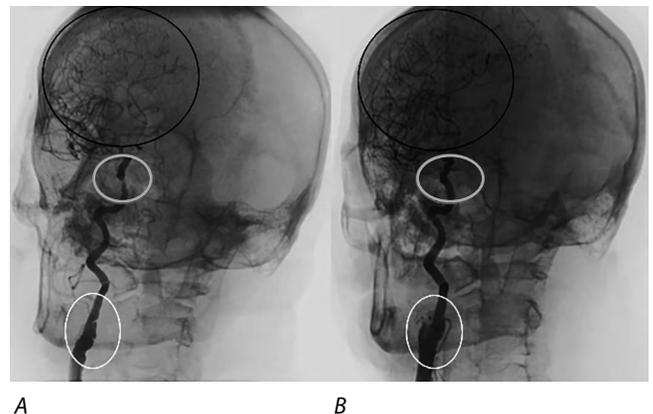


Рис. 6. Ангиография пациента М. до (*A*) и после (*B*) реваскуляризации.

Усиление кровотока по средней мозговой артерии (чёрный контур на фрагменте *B*) после стентирования.

Fig. 6. Patient M.'s angiography before (*A*) and after (*B*) revascularization.

Increased MCA blood flow (*B* black outline) post stenting.

мышечно 2 мг диазепама.

Под местной анестезией в общей СА позиционирована система проксимальной защиты MoMa 9Fr. В М1 сегмент средней мозговой артерии проведён проводник 0,014 дюйма (рис. 5, *A*). После раздутия баллонов системы проксимальной защиты выполнена баллонная ангиопластика стеноза кавернозного сегмента ВСА баллонным катетером 3,0 × 20 мм (рис. 5, *B*). Далее в зоне остаточного стеноза имплантирован коронарный голометаллический стент 4,0 × 26 (рис. 5, *D*, *E*). В зоне нестабильной бляшки в сегменте С1 позиционирован конусный каротидный стент 6,0–8,0 × 40 мм (рис. 5, *F*). Выполнена имплантация с последующим удалением доставочной системы стента с ва-

Данные суточного контроля АД на фоне приёма тройной антигипертензивной терапии, мм рт. ст.

24 h BP control in triple antihypertensive therapy, mm Hg

Показатель Parameter	Дневные часы Daytime 11:30–23:00	Ночные часы Nighttime 23:00–07:00
Среднеинтегральное систолическое АД Mean integral systolic BP	182,0	173,0
Среднеинтегральное диастолическое АД Mean integral diastolic BP	107,0	101,0
Наибольшее систолическое АД Maximum systolic BP	218,0	195,0
Наибольшее диастолическое АД Maximum diastolic BP	136,0	124,0
Наименьшее систолическое АД Minimum systolic BP	167,0	156,0
Наименьшее диастолическое АД Minimum diastolic BP	79	82

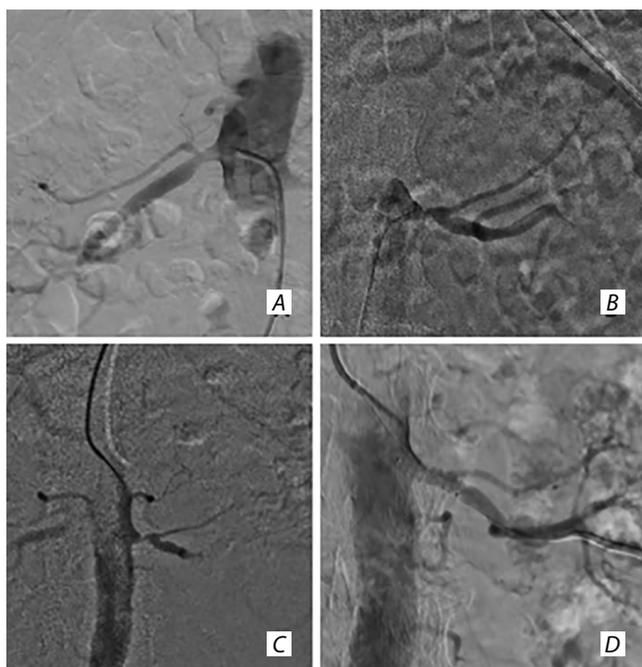


Рис. 7. Ангиография и стентирование левой ПА.

A — стеноз правой ПА 30%; *B* — стеноз левой ПА до 80%; *C* — ангиография перед стентированием левой ПА; *D* — стентирование левой ПА.

Fig. 7. Left renal artery angiography and stenting.

A — right renal artery stenosis 30%; *B* — left renal artery stenosis up to 80%; *C* — pre-stenting left renal artery angiography; *D* — left renal artery stenting.

кум-аспирацией (40 мл). В аспирате фрагментов бляшки не обнаружено.

Контрольная ангиография показала удовлетворительное позиционирование стентов, кровоток по бассейну правой ВСА — Т1С13 (рис. 6).

По окончании стентирования ВСА пациенту проведена ангиография ПА, выявлены стеноз правой ПА до 30%, устьевой стеноз левой ПА до 80% (рис. 7, *A, B*). Послеопе-

рационный период — без осложнений. На момент выписки неврологический дефицит составил по NIHSS 0 баллов, по модифицированной шкале Рэнкина — 0 баллов.

На 14-й день от момента госпитализации (на 12-й день назначения тройной антиагрегантной терапии, на 9-й день от момента каротидного стентирования) пациенту было проведено суточное мониторирование АД. Длительность исследования составила 19 ч 30 мин, выполнено 48 измерений. Успешных измерений 46. По данным суточного мониторирования АД (таблица) суточный тренд — АД гипертензивного типа. Значительное повышение среднего суточного пульсового АД. Суточный индекс САД и ДАД недостаточный (non-dippers).

Учитывая сохранение устойчивой артериальной гипертензии, принято решение о выполнении пациенту стентирования ПА по двум основным критериям:

- устойчивая артериальная гипертензия на фоне трёхкомпонентной антигипертензивной терапии;
- расположение стеноза ПА в устьевой зоне, что в дальнейшем не позволяет сформировать коллатеральный внутрипочечный кровоток при развитии ишемии из-за прогрессирования стеноза [25].

После выписки из неврологического отделения ввиду сохранения резистентной артериальной гипертензии пациент переведён в отделение сосудистой хирургии для стентирования левой ПА (рис. 7, *C, D*).

Период наблюдения составил 12 мес. За время наблюдения не было данных за ОНМК или ТИА. По данным УЗДГ стент в С1 сегменте проходим без признаков рестеноза, скорость кровотока по стентированному сегменту ВСА — 118 см/с. На фоне продолжающегося приёма тройной антигипертензивной терапии средние цифры АД составили 160/80 мм рт. ст.

Окончательный диагноз пациента при выписке из стационара:

Основной: Генерализованный атеросклероз. Стенозы брахиоцефальных артерий в сегментах С1 и С4 правой ВСА. Гемодинамически значимый стеноз левой ПА.

Осложнение: Цереброваскулярная болезнь. ТИА от 10.10.2021, повторная ТИА от 15.10.2021. Вторичная артериальная гипертензия 3 стадии, 3 степени, риск 4.

Экстренное одномоментное стентирование правой ВСА в сегментах С1 и С4 от 15.10.2021. Плановое стентирование левой ПА от 28.10.2021.

Обсуждение

Вопрос тактики лечения пациентов с тандемным поражением ВСА на экстракраниальном и интракраниальном уровнях остаётся открытым и до конца не определённым в крупных рандомизированных исследованиях. Лечение только проксимального стеноза может быть неэффективным, если основной причиной гипоперфузии головного мозга является дистальный стеноз. Дефицит церебрального кровотока усугубляется при отсутствии коллатералей из противоположного бассейна. Так, частота встречаемости разобщённого кровообращения Виллизиева круга АсР2 типа составляет 9,3% [22]. Определение того, какое из поражений является основным, и основной причины ОНМК (гипоперфузия вследствие тяжёлого стеноза или тромбоэмболические осложнения, связанные с нестабильной бляшкой проксимального стеноза) является приоритетной задачей для выработки тактики лечения [26]. В данном клиническом случае достаточно сложно определить ведущее

поражение — гипоперфузия может развиваться вследствие субокклюзирующего стеноза в С4 сегменте или тромбоэмболических осложнений стеноза с нестабильной атеросклеротической бляшкой в С1 сегменте ВСА. На течение церебральной недостаточности также оказывает влияние злокачественная вазоренальная гипертензия, вызванная стенозом ПА.

Представленные результаты лечения пациента показывают, что тандемное стентирование ВСА является эффективным и безопасным методом при невозможности определения ведущей причины инсульта. Выбранная первично консервативная тактика, с одной стороны, позволила выявить стеноз ПА до оперативного вмешательства, а с другой стороны — у пациента на фоне получения медикаментозной терапии развилась ТИА, и реваскуляризация выполнялась в экстренном порядке. Требуется больше данных для определения оптимальной тактики лечения подобных пациентов.

Экстраполируя данный клинический сценарий на возможных будущих пациентов, стоит обращать внимание на анатомию Виллизиева круга и в случае гипоплазии соединительных артерий рассматривать хирургическую тактику как более полезную в соотношении риск/польза. При наличии коллатерального кровотока по Виллизиеву кругу в соотношении риск/польза оправдана первично консервативная тактика.

Список источников / References

- Munster A.B., Thapar A., Davies A.H. History of carotid stroke. *Stroke*. 2016;47(4):e66–e69. doi: 10.1161/STROKEAHA.115.012044
- Friedman S.G., Rich N.M. The first carotid endarterectomy. *J. Vasc. Surg.* 2014;60(6):1703.e1–4–1708.e1–4. doi: 10.1016/j.jvs.2014.08.059
- DeBakey M.E. Successful carotid endarterectomy for cerebrovascular insufficiency: nineteen-year follow-up. *J. Am. Med. Assoc.* 1975;233(10):1083–1085.
- Kerber C.W., Cromwell L.D., Loehden O.L. Catheter dilatation of proximal carotid stenosis during distal bifurcation endarterectomy. *Am. J. Neuroradiol.* 1980;1(4):348–349.
- Mathias K. Perkutane transluminale Katheterbehandlung supraaortaler Arterienobstruktionen. *Angio*. 1981;3:47–50.
- Suri M.F.K., Johnston S.C. Epidemiology of intracranial stenosis. *J. Neuroimaging*. 2009;19(suppl. 1):11S–16S. doi: 10.1111/j.1552-6569.2009.00415.x
- Connors J.J., Wojak J.C. Percutaneous transluminal angioplasty for intracranial atherosclerotic lesions: evolution of technique and short-term results. *J. Neurosurg.* 1999;91(3):415–423. doi: 10.3171/jns.1999.91.3.0415
- Marks M.P., Marcellus M., Norbash A.M. et al. Outcome of angioplasty for atherosclerotic intracranial stenosis. *Stroke*. 1999;30(5):1065–1069. doi: 10.1161/01.str.30.5.1065
- Marks M.P., Marcellus M.L., Do H.M. et al. Intracranial angioplasty without stenting for symptomatic atherosclerotic stenosis: long-term follow-up. *Am. J. Neuroradiol.* 2005;26(3):525–530.
- SSYLVA Study Investigators. Stenting of Symptomatic Atherosclerotic Lesions in the Vertebral or Intracranial Arteries (SSYLVA): study results. *Stroke*. 2004;35(6):1388–1392. doi: 10.1161/01.STR.0000128708.86762.d6
- Chimowitz M.I., Lynn M.J., Derdeyn C.P. et al. Stenting versus aggressive medical therapy for intracranial arterial stenosis. *N. Engl. J. Med.* 2011;365(11):993–1003. doi: 10.1056/NEJMoa1105335
- Alexander M.J., Zauner A., Chaloupka J.C. et al. WEAVE Trial: final results in 152 on-label patients. *Stroke*. 2019;50(4):889–894. doi: 10.1161/STROKEAHA.118.023996
- Wang Z.L., Gao B.L., Li T.X. et al. Severe symptomatic intracranial internal carotid artery stenosis treated with intracranial stenting: a single center study with 58 patients. *Diagn. Interv. Radiol.* 2016;22(2):178–183. doi: 10.5152/dir.2015.15191
- Zaidat O.O., Fitzsimmons B.F., Woodward B.K. et al. Effect of a balloon-expandable intracranial stent vs medical therapy on risk of stroke in patients with symptomatic intracranial stenosis: the VISSIT randomized clinical trial. *JAMA*. 2015;313(12):1240–1248. doi: 10.1001/jama.2015.1693
- Flusty B., de Havenon A., Prabhakaran S. et al. Intracranial atherosclerosis treatment: past, present, and future. *Stroke*. 2020;51(3):e49–e53. doi: 10.1161/STROKEAHA.119.028528
- Lyden P. Using the National Institutes of Health Stroke Scale: a cautionary tale. *Stroke*. 2017;48(2):513–519. doi: 10.1161/STROKEAHA.116.015434
- Mokin M., Primiani C.T., Siddiqui A.H., Turk A.S. ASPECTS (Alberta Stroke Program Early CT Score) measurement using Hounsfield Unit values when selecting patients for stroke thrombectomy. *Stroke*. 2017;48(6):1574–1579. doi: 10.1161/STROKEAHA.117.016745
- Fedak A., Ciuk K., Urbanik A. Ultrasonography of vulnerable atherosclerotic plaque in the carotid arteries: B-mode imaging. *J. Ultrason.* 2020;20(81):e135–e145.
- Brinjikji W., Huston J. 3rd, Rabinstein A.A. et al. Contemporary carotid imaging: from degree of stenosis to plaque vulnerability. *J. Neurosurg.* 2016;124(1):27–42. doi: 10.3171/2015.1.JNS142452
- Achit H., Soudant M., Hosseini K. et al. Cost-effectiveness of thrombectomy in patients with acute ischemic stroke: The THRACE Randomized Controlled Trial. *Stroke*. 2017;48(10):2843–2847. doi: 10.1161/STROKEAHA.117.017856
- Hacking C., Gaillard F. Bouthillier classification of internal carotid artery segments. *Radiopaedia.org*. 2008. URL: <https://radiopaedia.org/articles/4714>. doi: 10.53347/rID-4714
- Hindenes L.B., Häberg A.K., Johnsen L.H. et al. Variations in the Circle of Willis in a large population sample using 3D TOF angiography: The Tromsø study. *PLoS One*. 2020;15(11):e0241373. doi: 10.1371/journal.pone.0241373
- Hacking C., Babu V., Morgan M. et al. Thrombolysis in cerebral infarction (TICI) scale. *Radiopaedia.org*. 2015. URL: <https://radiopaedia.org/articles/39569>. doi: 10.53347/rID-39569
- Li J.C., Jiang Y.X., Zhang S.Y. et al. Evaluation of renal artery stenosis with hemodynamic parameters of Doppler sonography. *J. Vasc. Surg.* 2008;48(2):323–328. doi: 10.1016/j.jvs.2008.03.048
- Anderson J.L., Halperin J.L., Albert N.M. et al. Management of patients with peripheral artery disease (compilation of 2005 and 2011 ACCF/AHA guideline recommendations): a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2013;127(13):1425–1443. doi: 10.1161/CIR.0b013e31828b82aa
- Guppy K.H., Charbel F.T., Loth F., Ausman J.I. Hemodynamics of in-tandem stenosis of the internal carotid artery: when is carotid endarterectomy indicated? *Surg. Neurol.* 2000;54(2):145–153. doi: 10.1016/s0090-3019(00)00292-5

Информация об авторах

Агарков Максим Васильевич — зав. отд. рентгенэндоваскулярных диагностики и лечения ГБУЗ Калининградской области «Гусевская центральная районная больница», Гусев, Россия; м.н.с. лаб. возрастной патологии сердечно-сосудистой системы АНО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6304-2553>

Сафуанов Алексей Александрович — врач рентгенэндоваскулярных диагностики и лечения ГБУЗ Калининградской области «Гусевская центральная районная больница», Гусев, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7878-2490>

Евреева Светлана Тумэновна — врач рентгенэндоваскулярных диагностики и лечения ГБУЗ Калининградской области «Гусевская центральная районная больница», Гусев, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8915-3673>

Герцог Ольга Богдановна — главный врач ГБУЗ Калининградской области «Гусевская центральная районная больница», Гусев, Россия

Сафуанова Ольга Сергеевна — врач сердечно-сосудистой хирургии ГБУЗ Калининградской области «Гусевская центральная районная больница», Гусев, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1333-0071>

Попов Виталий Викторович — к.м.н., врач рентгенэндоваскулярных диагностики и лечения ГБУЗ «Городская больница № 40 г. Санкт-Петербурга», Сестрорецк, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2073-8080>

Хильчук Антон Андреевич — к.м.н., врач рентгенэндоваскулярных диагностики и лечения ГБУЗ «Городская больница № 40 г. Санкт-Петербурга», Сестрорецк, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7199-0502>

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Information about the authors

Maksim V. Agarkov — Chief, Department of interventional radiology, Gusev Central District Hospital, Gusev, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6304-2553>

Alexey A. Safuanov — interventional radiologist, Department of interventional radiology, Gusev Central District Hospital, Gusev, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7878-2490>

Svetlana T. Evreeva — interventional radiologist, Department of interventional radiology, Gusev Central District Hospital, Gusev, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8915-3673>

Olga B. Gertsog — Chief doctor, Gusev Central District Hospital, Gusev, Russia

Olga S. Safuanova — vascular surgeon, Gusev Central District Hospital, Gusev, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7878-2490>

Vitaly V. Popov — Cand. Sci. (Med.), interventional radiologist, Department of interventional radiology, City Hospital No. 40, Sestroretsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2073-8080>

Anton A. Khilchuk — Cand. Sci. (Med.), interventional radiologist, Department of interventional radiology, City Hospital No. 40, Sestroretsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7199-0502>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.