

*М. Є. Черненко, В. І. Вовк*  
**НЕЙРОПЛАСТИЧНІСТЬ У ХВОРИХ НА РОЗСІЯНИЙ СКЛЕРОЗ В УМОВАХ ЗАПАЛЬНОГО ПРОЦЕСУ**

*М. Е. Черненко, В. И. Вовк*  
**Нейропластичность у больных рассеянным склерозом в условиях воспалительного процесса**

*М. E. Chernenko, V. I. Vovk*  
**Neuroplasticity in patients with multiple sclerosis in conditions of the inflammatory process**

У статті розсіяний склероз розглянуто не лише як аутоімунну та демієлінізуючу патологію, але і як нейродегенеративне захворювання. Зроблена спроба проаналізувати роль матриксних металопротеїназ, зокрема матриксної металопротеїнази-9 (ММП-9), як показника активності запального процесу. Найбільші значення рівня ММП-9 спостерігалися в групі хворих з ремітуючо-рецидивуючим типом перебігу на стадії загострення, на відміну від первинно-прогресуючого типу перебігу, при якому більш виражені прояви нейродегенерації, ніж запальні. Проведене дослідження дозволило зробити висновки, що визначення рівня ММП-9 є важливим біохімічним критерієм активності патологічного і зокрема запального процесу, подальше вивчення якого може дати можливість прогнозувати як розвиток загострення захворювання, так і зміну типу перебігу розсіяного склерозу, тим самим отримуючи можливість проводити адекватну терапію з перспективою подальшого впливу на нейропротекцію і нейропластичність при нейродегенеративній та демієлінізуючій патології ЦНС.

**Ключові слова:** нейропластичність, демієлінізація, матриксні металопротеїнази

В статье рассеянный склероз рассмотрено не только как аутоиммунную и демиелинизирующую патологию, но и как нейродегенеративное заболевание. Предпринята попытка проанализировать роль матриксных металлопротеиназ, в частности матриксной металлопротеиназы-9 (ММП-9), как показателя активности воспалительного процесса. Наибольшие значения уровня ММП-9 наблюдались в группе больных с ремитирующе-рецидивирующим типом течения в стадии обострения, в отличие от первично-прогрессирующего типа течения, при котором более выражены проявления нейродегенерации, чем воспалительные. Проведенное исследование позволило сделать выводы, что определение уровня ММП-9 является важным биохимическим критерием активности патологического процесса, дальнейшее изучение которого может дать возможность прогнозировать как развитие обострения заболевания, так и изменение типа течения рассеянного склероза, тем самым получая возможность проводить адекватную терапию с перспективой дальнейшего влияния на нейропротекцию и нейропластичность при нейродегенеративных и демиелинизирующих патологиях ЦНС.

**Ключевые слова:** нейропластичность, демиелинизация, матриксные металлопротеиназы

In the article, we considered multiple sclerosis not only as an autoimmune and demyelinating pathology, but also as a neurodegenerative disease. We tried to analyze the role of matrix metalloproteinases, in particular matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), as an indicator of the activity of the inflammatory process. The greatest values of MMP-9 were obtained in the group of patients with remitting-recurrent type of flow in the stage of exacerbation, unlike the primary-progressive flow type at which more manifestations neurodegeneration than inflammatory.

The study allowed to draw conclusions that the determination of the level of MMP-9 is an important biochemical criterion of the activity of the pathological process, the further study of which can provide an opportunity to predict both the development of exacerbation of the disease and the change in the type of the course of multiple sclerosis. Thus, we are able to conduct adequate therapy and possible prospects for further influence on neuroprotection and neuroplasticity in neurodegenerative and demyelinating CNS pathologies.

**Keywords:** neuroplasticity, demyelination, matrix metalloproteinases

Сьогодні в сучасній медицині розсіяний склероз (РС) розглядають не лише як аутоімунне демієлінізуюче, але і як нейродегенеративне захворювання [9, 10]. Патологічну шкідливу дію мієлін-реактивних Т-лімфоцитів і антитіл запускає ланцюг біохімічних процесів, що сприяють руйнуванню мієліну. Внесок у руйнування мієліну при РС вносить оксид азоту [8], що виробляється в середках імунного запалення активованими макрофагами і клітинами мікроглії (дія оксиду азоту пов'язана з його здатністю руйнувати мітохондрії). Мікроглія, мультифункціональні клітини котрої відіграють важливу роль у підтриманні гомеостазу, також залучена у формування процесів синаптичної пластичності. Однак при активації компоненти мікроглії перетворюються в клітини прозапального фенотипу, які секретують надмірну кількість прозапальних медіаторів [2]. А загалом відомо, що в умовах активного запального процесу пригнічуються усі види нейропластичних процесів. Автори окреслюють три основні позиції, пов'язані з роллю мікроглії: 1) участь мікроглії у апоптозі новоутворених нейронів, схильних до селективної вибірки; 2) зміна структури дендритних шипиків і організація синаптичної нейротрансмісії нових

нейронів; 3) модуляція перисинаптичних структур завдяки активації матриксної металопротеїнази-9 (ММП-9) [1].

Роль матриксних металопротеїназ (ММП) і їх інгібіторів в патогенезі нейродегенеративних захворювань на цю пору недостатньо висвітлена. Відомо, що ММП беруть участь у багатьох фізіологічних і патологічних процесах, як-от ангіогенез, старіння, запалення [3]. Ферменти з групи матриксних металопротеїназ (зокрема ММП-9) впливають на проникність судинної стінки і ангіогенез, регулюють катаболізм компонентів позаклітинного матриксу та клітинно-матриксні взаємодії. Матриксні металопротеїнази є могутнім ушкоджуючим чинником та відіграють ключову роль в патогенезі пошкодження ЦНС при перинатальній гіпоксії та асфіксії, пошкодженні гематоенцефалічного бар'єра, при різних типах мозкових інсультів. До пошкодження тканин і розвитку запалення призводить підвищена експресія ММП. Доведено, що синтез ММП посилюється після пошкодження мозку, а ін'єкції ММП в мозок мишей спричиняють загибель клітин і запалення. При гострому пошкодженні мозку основним джерелом ММП є як лейкоцити, що інфільтрують речовину мозку, так і самі клітини мозку — нейрони, астроцити, олігодендроцити, мікроглія і ендотеліоцити [6].

Матриксна металопротеїназа-9 (також відома як желатиназа В) секретується як зимоген масою 92 kDa. Субстрати для ММП-9 містять денатурований колаген I типу (желатин), нативні колагени типів IV, V, VII, X і XI, фібриноген, вітронектин, IL-1 і ентактин, який з'єднує ламінін і колаген IV типу. ММП-9 бере участь в процесах запалення, ремоделювання тканини і репарації, мобілізації матриксспов'язаних факторів росту і процесингу цитокінів. ММП-9 було виявлено в нейтрофілах і макрофагах, а також в фібробластах, хондроцитах, Т-лімфоцитах і ендотеліальних клітинах після стимуляції їх цитокинами, форболовим ефіром, онкогенами, а також в інфікованих клітинах [11].

Прогресуванню нейродегенеративного процесу при РС може сприяти залучення в патологічний процес екстрацелюлярного матриксу, ремоделювання якого також здійснюють матриксні металопротеїнази. Вони ж сприяють проникненню через гематоенцефалічний бар'єр прозапальних клітин і цитокінів, і в запальних вогнищах виявляється підвищена активність металопротеїназ [5, 7]. Отже, підвищення рівня матриксних металопротеїназ протягом тривалого часу при ремітуючих типах перебігу РС може інгібувати процеси нейрогенезу, ангіо-, та синаптогенезу, створюючи умови для зміни типу перебігу на дегенеративний. Моніторинг рівня ММП-9 може бути маркером активності запального процесу, потенційної можливості нейрогенезу та прогностичним критерієм.

Метою цього дослідження є вивчення активності запального процесу за рівнем вмісту матриксної металопротеїнази-9 у крові хворих з первинно-прогресуючим типом перебігу розсіяного склерозу і зіставлення отриманих даних з такими ж показниками у хворих з ремітуючо-рецидивуючим і вторинно-прогресуючим типами перебігу РС.

Було обстежено 135 хворих на розсіяний склероз віком від 20 до 61 років з різними типами перебігу захворювання: первинно-прогресуючим (ППТ) — 11,11 %, ремітуючо-рецидивуючим (РРТ) — 52,59 % і вторинно-прогресуючим (ВПТ) — 36,30 %. Середній вік хворих з РРТ становив  $35,97 \pm 0,93$  років, у хворих з ВПТ середній вік був  $41,18 \pm 1,40$  років, і у хворих з ППТ цей показник становив  $42,20 \pm 2,59$  років. Розподіл хворих за віком і типами перебігу РС наведено в таблиці 1.

Таблиця 1. Розподіл хворих за віком та типами перебігу розсіяного склерозу

Показник	Тип перебігу РС		
	ППТ (n = 15)	ВПТ (n = 49)	РРТ (n = 71)
Вік, роки	$42,20 \pm 2,59$	$41,18 \pm 1,40$	$35,97 \pm 0,93$

Примітка. Тут і далі дані наведено в форматі середня арифметична  $\pm$  похибка середньої арифметичної ( $m \pm M$ )

Тривалість захворювання обстежуваних хворих з різними типами перебігу РС наведена в таблиці 2.

Тривалість захворювання на розсіяний склероз у хворих з ВПТ була найбільшою з порівнюваних груп і становила  $14,67 \pm 1,09$  років. Тривалість захворювання при РРТ і ППТ була практично однаковою і становила  $8,81 \pm 0,74$  і  $8,75 \pm 1,27$  відповідно.

Таблиця 2. Тривалість захворювання обстежуваних хворих

Показник	Тип перебігу РС		
	ППТ (n = 15)	ВПТ (n = 49)	РРТ (n = 71)
Тривалість захворювання, роки	$8,75 \pm 1,27$	$14,67 \pm 1,09$	$8,81 \pm 0,74$

Отримані зразки досліджуваного матеріалу зберігалися при температурі  $-20^{\circ}\text{C}$ . До початку аналізу зразки були повільно розморожені при температурі  $+20^{\circ}\text{C}$ . Перед тестуванням зразки були ретельно і акуратно перемішані. Антитіла, що специфічні до ММП-9, сорбували в осередках планшета. ММП-9 зразків зв'язуються з антитілами в осередках планшета. Потім в лунки додавали кон'югат анти-ММП-9 з біотином, який зв'язується з молекулами ММП-9, захопленими антитілами. Після інкубації і промивання з осередків видаляли незв'язаний кон'югат стрептавідин-HRP, і в осередки додавали субстратний розчин, який взаємодіяв з HRP з утворенням забарвленого розчину. Реакцію зупиняли додаванням кислоти. Інтенсивність забарвлення вимірювали на довжині хвилі 450 нм і вона була прямо пропорційною концентрації ММП-9, яка була присутня в зразках. Концентрацію ММП-9 визначали за стандартною кривою, що будували по семи заготовленим розведенням ММП-9 [4].

З метою встановлення наявності взаємозв'язку між типом перебігу захворювання і рівнем ММП-9 був застосований метод дисперсійного аналізу ANOVA, результати якого наведені на рис. 1.

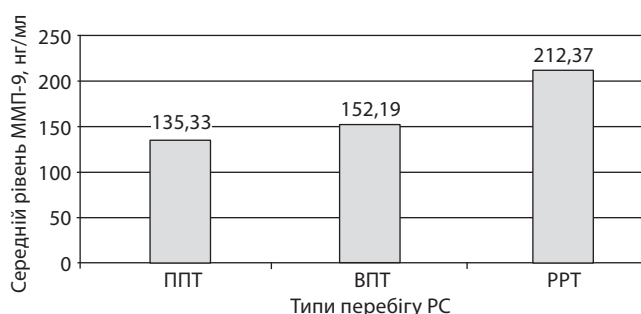


Рис. 1. Залежність рівня ММП-9 від типу перебігу розсіяного склерозу (коефіцієнт  $F = 5,238$ ;  $p = 0,006$ )

Найвищий рівень ММП-9 спостерігався у хворих з РРТ РС (середній рівень  $\text{ММП-9}_{\text{сер}} = 212,37 \pm 17,51$ ). У хворих з ППТ був зафіксований найнижчий рівень ( $\text{ММП-9}_{\text{сер}} = 135,33 \pm 6,87$ ). Проміжне становище займає рівень ММП-9, що був у хворих з ВПТ РС ( $\text{ММП-9}_{\text{сер}} = 152,19 \pm 10,36$ ). Коефіцієнт  $F$  дорівнює 5,238; його статистична значущість  $p < 0,01$ . Отже, тип перебігу захворювання вірогідно впливає на рівень ММП-9.

Також було вивчено рівень металопротеїнази на різних стадіях активності патологічного процесу (загострення і ремісії при РРТ, прогресування і стабілізації при прогресивних типах перебігу). Усереднені значення  $\text{ММП-9}_{\text{сер}}$  для розглянутих груп склали: при РРТ на стадії ремісії захворювання —  $122,05 \pm 7,82$ , на стадії загострення захворювання —  $378,68 \pm 21,54$ . При прогресивних типах перебігу: на стадії прогресування захворювання —  $164,73 \pm 12,21$ , на стадії стабілізації —  $114,64 \pm 8,43$  (рис. 2).



Рис. 2. Залежність рівня MMP-9 від стадії захворювання розсіяного склерозу (коефіцієнт  $F = 104,6$ ;  $p < 0,0001$ )

Найбільші значення рівня MMP-9 спостерігалися на стадіях активності патологічного процесу — загострення і прогресування. На стадіях ремісії і стабілізації рівень MMP-9 був у межах норми. Отже, виявлено, що середній рівень MMP-9 вірогідно залежить від стадії захворювання РС.

На рівень MMP-9 впливає не кожен з цих чинників окремо, а їх сукупність. Тому, за допомогою методу мультифакторного дисперсійного аналізу були проаналізовані тип перебігу захворювання і стадія захворювання як фактори, що мають найбільший вплив на рівень MMP-9. Отримані дані наведені в таблиці 3 та на рис. 3.

Таблиця 3. Рівень MMP-9 залежно від типу перебігу та стадії хвороби

Тип перебігу	Стадія хвороби	Кількість хворих (n)	Рівень MMP-9 ( $m \pm M$ )
ППТ	прогресування	8	147,03 $\pm$ 6,78
	стабілізація	7	121,96 $\pm$ 10,90
РРТ	загострення	26	381,54 $\pm$ 22,19
	ремісія	45	122,05 $\pm$ 7,82
ВПТ	прогресування	28	169,98 $\pm$ 15,64
	стабілізація	21	114,64 $\pm$ 8,43

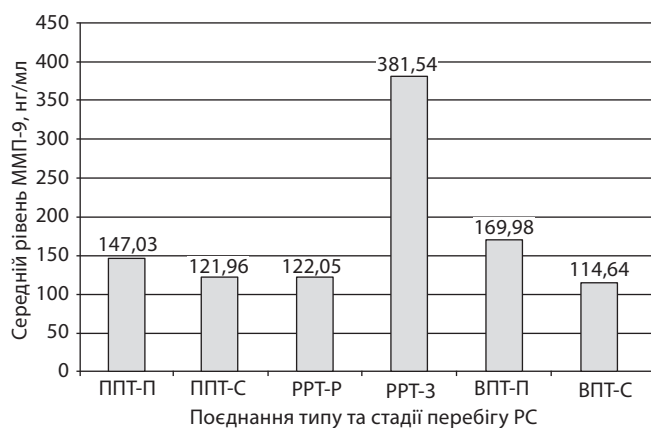


Рис. 3. Залежність рівня MMP-9 від типу перебігу та стадії захворювання розсіяного склерозу (коефіцієнт  $F = 52,268$ ;  $p < 0,0001$ )

Найбільші значення рівня MMP-9 спостерігалися в групі хворих з РРТ на стадії загострення захворювання ( $381,54 \pm 22,19$ ). На стадії ремісії рівень MMP-9 був в межах норми і становив  $122,05 \pm 7,82$ . На стадіях активності захворювання при ВПТ та ППТ були виявлені підвищені рівні MMP-9 ( $169,98 \pm 15,64$  і  $147,03 \pm 6,78$  відповідно). Отримані дані підтверджують, що запальні реакції при ВПТ більш виражені, ніж при ППТ, при якому провідну роль відіграють процеси нейродегенерації. Під час аналізу рівня MMP-9 на стадіях стабілізації несподівано були отримані вищі рівні при ППТ ( $121,96 \pm 10,90$ ), ніж при ВПТ ( $114,64 \pm 8,43$ ). Це може бути пояснено досить великою різницею в кількості хворих в групах — в групі ППТ на стадії стабілізації в три рази менше хворих порівняно з групою на стадії стабілізації ВПТ.

Під час аналізу взаємозв'язку рівня MMP-9 в крові хворих на РС і тривалості захворювання була отримана зворотна кореляція  $r = -0,322$  ( $p = 0,0001$ ). Виходить, чим більше тривалість захворювання, тим менше рівень MMP-9 і активність запальних реакцій.

Отже, на рівень MMP-9 у хворих з РС може впливати низка факторів, як-от тривалість захворювання, тип перебігу, стадія захворювання. Значущим з високою вірогідністю ( $p < 0,0001$ ) був вплив стадії захворювання на рівень MMP-9. Найвищі показники MMP-9 визначалися у хворих на РС віком до 40 років з ремітуючим типом перебігу на стадії загострення захворювання. З перебігом захворювання, збільшенням віку хворих реактивність організму знижується, виснажуються ферментні системи, що веде до зниження рівня MMP-9 навіть на активних стадіях патологічного процесу, виникає переважання нейродегенеративного процесу над запальним. Матриксний металопротеїназу-9 можна розглядати як маркер активності запального процесу, маркер імунокомпетентних клітин, показник стану гематоенцефалічного бар'єра при РС. Подальшого вивчення потребує питання — є підвищення MMP-9 наслідком або причиною клітинної міграції.

Отже, найбільші значення MMP-9 спостерігалися в групі хворих з РРТ на стадії загострення захворювання ( $381,54 \pm 22,19$ ). На стадії ремісії рівень MMP-9 був у межах норми і становив  $122,05 \pm 7,82$ . На стадіях активності захворювання при ВПТ та ППТ були отримані підвищені рівні MMP-9 ( $169,98 \pm 15,64$  і  $147,03 \pm 6,78$  відповідно). Отримані дані підтверджують, що запальні реакції при ВПТ більш виражені, ніж при ППТ, при якому провідну роль відіграють процеси нейродегенерації. Під час аналізу рівня MMP-9 на стадіях стабілізації були отримані вищі рівні при ППТ ( $121,96 \pm 10,90$ ), ніж при ВПТ ( $114,64 \pm 8,43$ ). Це може бути пояснено досить великою різницею в кількості хворих в групах — в групі ППТ на стадії стабілізації в три рази менше хворих порівняно з групою на стадії стабілізації ВПТ. Високі рівні MMP-9 протягом тривалого часу є показниками активного запального процесу в умовах котрого процес нейрогенезу здійснюється на недостатньому рівні або не здійснюється взагалі. Стратегічною тактикою терапії є своєчасна та адекватна протизапальна терапія, одним із критеріїв ефективності якої є зниження рівня MMP-9.

Можна стверджувати, що визначення рівня MMP-9 є важливим біохімічним критерієм активності патологічного запального процесу, подальше вивчення якого може дати можливість прогнозувати розвиток загострення захворювання, визначати ймовірність зміну типу перебігу РС та зможе дати можливість уточнити характер нейропластичних процесів в умовах тривалого аутоімунного процесу.

## Список літератури

1. Гомазков О. А. Нейрогенез как адаптивная функция мозга. М. : Изд-во Икар, 2013. 135 с.
2. Гуляева Н. В. Молекулярные механизмы нейропластичности: расширяющаяся вселенная // Биохимия. 2017. Т. 82, вып. 3. С. 365—371.
3. Матриксные металлопротеиназы: их взаимосвязь с системой цитокинов, диагностический и прогностический потенциал / Е. В. Маркелова, В. В. Здор, А. Л. Романчук, О. Н. Бирко // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2016. № 2. С. 11—22.
4. Каракашов А., Вичев Е. Микрометоды в клинической лаборатории. София : Медицина и физкультура, 1973. 256 с.
5. Нефедов А., Мамчур В., Маража И. Изучение влияния комбинированного использования метилпреднизолона с цитиколином на процессы энергообеспечения митохондрий нейронов коры головного мозга и гистоморфометрические показатели его образований в условиях рассеянного склероза в эксперименте // Modern Science. 2016. № 1. С. 142—157.
6. Потеряева О. Н. Матриксные металлопротеиназы: строение, регуляция, роль в развитии патологических состояний // Медицина и образование в Сибири (Электронный научный журнал). 2010. № 5.
7. Черненко М. Е. Показатели состояния гематоэнцефалического барьера у больных рассеянным склерозом : монография. Харьков : ФЛП Здоровый Я. А. «Оперативная полиграфия», 2015. 148 с.
8. Dhib-Jalbut S. Pathogenesis of myelin/oligodendrocyte damage in multiple sclerosis // Neurology. 2007. Vol. 29. P. 13—21.
9. Lassmann H., Bruck W., Lucchinetti C. F. The immunopathology of multiple sclerosis: an overview // Brain. Pathol. 2007. Vol. 17(2). P. 210—218.

10. Myers L. W. Immunologic therapy for secondary and primary progressive multiple sclerosis // Curr. Neurol. Neurosci. Rep. 2001. Vol. 1(3). P. 286—293.

11. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) / Van den Steen Ph., Dubois B., Nelissen I. [et al.] // Critical. Reviews in Biochem. and Molec. Biology. 2002. Vol. 37 (6). P. 375—536.

*Надійшла до редакції 03.04.2018 р.*

**ЧЕРНЕНКО Максим Євгенович**, кандидат медичних наук, старший науковий співробітник Державної установи «Інститут неврології, психіатрії та наркології Національної академії медичних наук України»; асистент кафедри клінічної неврології, психіатрії та наркології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, м. Харків, Україна; e-mail: mchernenko78@ukr.net

**ВОВК Вікторія Ігорівна**, кандидат медичних наук, доцент кафедри психіатрії, наркології, неврології та медичної психології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, м. Харків, Україна; e-mail: v.i.vovk@ukr.net

**CHERNENKO Maksym**, MD, PhD, Senior Researcher of the State Institution "Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine"; Assistant of the Department of Clinical Neurology, Psychiatry and Narcology of V. N. Karazin's Kharkiv National University, School of Medicine, Kharkiv, Ukraine; e-mail: mchernenko78@ukr.net

**VOVK Victoria**, MD, PhD, Associate Professor of the Department of Psychiatry, Narcology, Neurology and Medical Psychology of V. N. Karazin's Kharkiv National University, School of Medicine, Kharkiv, Ukraine; e-mail: v.i.vovk@ukr.net