CC BY 4.0

Гипергомоцистеинемия и эндотелиальная дисфункция при рассеянном склерозе

Дубченко Е.А.[1], Бойко А.Н.[2, 3], Иванов А.В.[4], Попов М.А.[5], Масленников Р.А.[5], Круглова М.П.[6], Силина Е.В.[6], Гусев Е.И.[2], Кубатиев А.А.[4]

[1]Межокружное отделение рассеянного склероза (МОРС) при ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. В.В. Вересаева» ДЗМ, Москва; [2]кафедра неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва; [3]отдел нейроиммунологии ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА России, Москва; [4]лаборатория регуляции агрегатного состояния крови ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва; [5]ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва; [6]кафедра патологии человека ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

[1]Россия, 127644, Москва, ул. Лобненская, 10; [2]Россия, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1; [3]Россия, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1, стр. 10; [4]Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8; [5]Россия, 129110, Москва, ул. Щепкина, 61/2; [6]Россия, 119048, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

Для всеобъемлющего изучения такого социально значимого заболевания, возникающего в подавляющем большинстве случаев у лиц трудоспособного возраста, как рассеянный склероз (РС), при котором нейровоспаление и нейродегенерация идут рука об руку, вследствие чего необратимо поражается вещество головного и спинного мозга, ключевым моментом является расшифровка патофизиологических механизмов развития и прогрессирования. Несмотря на установленную взаимосвязь гипергомоцистеинемии и вторичного поражения эндотелия, данные о возможной роли гомоцистеина (Hcy) в прогрессировании заболевания достаточно противоречивы.

***Цель** исследования – изучение информативности определения содержания маркеров оксидативного стресса, митохондриальной и эндотелиальной дисфункции у пациентов с РС.*

***Материал и методы.** В исследование были включены 63 пациента с РС (40 женщин, 23 мужчины) в возрасте 35 [30; 43] лет. Контрольную группу составили 43 здоровых добровольца (22 мужчины, 21 женщина) в возрасте 37 [32; 44] лет. В зависимости от принимаемой терапии пациенты были разделены на две группы: принимающих терапию первой и второй линии; отдельно рассматривались пациенты, получающие терапию натализумабом. Проводился неврологический осмотр пациентов с оценкой тяжести заболевания по шкале EDSS, рассчитывался индекс прогрессирования заболевания. Также в крови пациентов и добровольцев методом иммуноферментного анализа определялись следующие биомаркеры: молекулы межклеточной адгезии (ICAM-1), S-аденозилметионин, S-аденозилгомоцистеин, цистеин, цистеинилглицин, глутатион, Hcy.*

***Результаты.** Была выявлена статистически значимая корреляция между тяжестью заболевания (уровень инвалидизации по шкале EDSS) и повышением уровня Hcy. Также было установлено статистически значимое повышение уровня ICAM-1 у пациентов в период активности заболевания (клиническое обострение, активность по данным МРТ), что позволяет рассматривать данную молекулу в качестве биомаркера эндотелиальной дисфункции и воспаления.*

***Заключение.** Результаты исследования свидетельствуют о необходимости продолжения изучения патофизиологических причин начала и прогрессирования РС, дальнейшего выявления новых биомаркеров для прогнозирования течения РС, оценки эффективности препаратов, изменяющих течение РС.*

***Ключевые слова:** рассеянный склероз; гомоцистеин; гипергомоцистеинемия; эндотелиальная дисфункция.*

Контакты:** Алексей Николаевич Бойко; **boykoan13@gmail.com

***Для цитирования:** Дубченко ЕА, Бойко АН, Иванов АВ, Попов МА, Масленников РА, Круглова МП, Силина ЕВ, Гусев ЕИ, Кубатиев АА. Гипергомоцистеинемия и эндотелиальная дисфункция при рассеянном склерозе. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2025;17(4):33–40. https://doi.org/10.14412/2074-2711-2025-4-33-40*

Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction in multiple sclerosis

Dubchenko E.A.[1], Boyko A.N.[2, 3], Ivanov A.V.[4], Popov M.A.[5], Maslennikov R.A.[5], Kruglova M.P.[6], Silina E.V.[6], Gusev E.I.[2], Kubatiev A.A.[4]

[1]Interdistrict Department of Multiple Sclerosis, V.V. Veresaev State Clinical Hospital, Moscow; [2]Department of Neurology, Neurosurgery and Medical Genetics, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia, Moscow; [3]Department of Neuroimmunology, Federal Center for Brain and Neurotechnologies, FMBA of Russia, Moscow; [4]Laboratory for the Regulation of Blood Aggregate State, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow; [5]M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow; [6]Department of Human Pathology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University), Moscow

[1]10, Lobnenskaya St., Moscow 127644, Russia; [2]1, Ostrovityanova St., Moscow 117997, Russia;
[3]1, Ostrovityanova St., Build. 10, Moscow 117997, Russia; [4]8, Baltiyskaya St., Moscow 125315, Russia;
[5]61/2, Shchepkina St., Moscow 129110, Russia; [6]8, Trubetskaya St., Build. 2, Moscow 119048, Russia

For a comprehensive study of such a socially significant disease as multiple sclerosis (MS), which occurs predominantly in people of working age and in which neuroinflammation and neurodegeneration go hand in hand, resulting in irreversible damage to the brain and spinal cord, the key point is to decipher the pathophysiological mechanisms of its development and progression. Despite the established relationship between hyperhomocysteinemia and secondary endothelial damage, data on the possible role of homocysteine (Hcy) in disease progression are quite contradictory.

Objective: *to investigate the informative value of determining the content of markers of oxidative stress, mitochondrial and endothelial dysfunction in patients with MS.*

Material and methods. *The study included 63 patients with MS (40 women, 23 men) aged 35 [30; 43] years. The control group consisted of 43 healthy volunteers (22 men, 21 women) aged 37 [32; 44] years. Depending on the therapy received, patients were divided into two groups: those receiving first-line and second-line therapy; patients receiving natalizumab therapy were considered separately. A neurological examination of patients was performed with an assessment of disease severity using the EDSS scale, and the disease progression index was calculated. The following biomarkers were also determined in the blood of patients and volunteers using enzyme-linked immunosorbent assay: intercellular adhesion molecules (ICAM-1), S-adenosylmethionine, S-adenosylhomocysteine, cysteine, cysteinylglycine, glutathione, and Hcy.*

Results. *A statistically significant correlation was found between disease severity (EDSS disability level) and increased Hcy levels. A statistically significant increase in ICAM-1 levels was also found in patients during periods of disease activity (clinical exacerbation, activity according to MRI data), which allows this molecule to be considered as a biomarker of endothelial dysfunction and inflammation.*

Conclusion. *The results of the study indicate the need to continue studying the pathophysiological causes of the onset and progression of MS, further identifying new biomarkers for predicting the course of MS, and evaluating the effectiveness of drugs that alter the course of MS.*

Keywords: *multiple sclerosis; homocysteine; hyperhomocysteinemia; endothelial dysfunction.*

Contact: *Alexey Nikolaevich Boyko;* ***boykoan13@gmail.com***

For citation: *Dubchenko EA, Boiko AN, Ivanov AV, Popov MA, Maslennikov RA, Kruglova MP, Silina EV, Gusev EI, Kubatiev AA. Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction in multiple sclerosis. Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics. 2025;17(4):33–40 (In Russ.). https://doi.org/10.14412/2074-2711-2025-4-33-40*

Рассеянный склероз (РС) является наиболее распространенным социально значимым хроническим демиелинизирующим заболеванием центральной нервной системы (ЦНС). Согласно современным представлениям, в основе патогенеза РС лежат тесно связанные нейровоспаление и нейродегенерация, следствием которых является очаговое и диффузное поражение головного и спинного мозга [1–4]. Медицинская и социальная значимость РС обусловлена высокими показателями заболеваемости и распространенности, в том числе у лиц молодого и среднего возраста, а также значительными прямыми и косвенными экономическими затратами. В мире в настоящее время проживает почти 3 млн пациентов с РС [5, 6].

Несмотря на длительное изучение и огромные успехи последних десятилетий в области расшифровки ключевых патофизиологических механизмов развития и прогрессирования РС, до настоящего времени многочисленные аспекты патогенеза этого заболевания остаются недостаточно понятными. В последнее время убедительно доказана роль в патогенезе РС, особенно при прогрессирующих формах заболевания, нейродегенеративных изменений, которые во многом обусловливают возникновение необратимого неврологического дефицита [1, 4, 7–9].

В последние десятилетия, кроме классических механизмов патогенеза РС, таких как оксидативный стресс и митохондриальная дисфункция, большое внимание уделяется такому клинико-лабораторному феномену, как гипергомоцистеинемия (ГГЦ) [10–14]. Под ГГЦ понимается повышение в плазме крови концентрации серосодержащей аминокислоты гомоцистеина (Hcy). Открытый почти 100 лет назад, в 1932 г., Hcy является объектом пристального изучения с точки зрения вклада в развитие и прогрессирование большого числа заболеваний, прежде всего кардиоваскулярных [15, 16]. Хорошо известно, что относительно редкие мутации генов метаболизма Hcy (например, гомозиготные или компаунд-гетерозиготные мутации в гене цистатионин-β-синтазы, мутации метилентетрагидрофолатредуктазы и гомоцистеинметилтрансферазы) в рамках первичной ГГЦ (гомоцистинурия) приводят к раннему развитию атеросклероза [17]. У лиц без соответствующих мутаций даже небольшое или умеренное повышение уровня Hcy сопровождается статистически значимым повышением кардиоваскулярной заболеваемости и смертности, что было убедительно показано в серии крупных обсервационных популяционных исследований [15, 16, 18].

Вторичная ГГЦ, сопровождающаяся умеренным (15–30 мкмоль/л) или средним (30–100 мкмоль/л) повышением уровня Hcy, может быть связана с разнообразными факторами, включая возраст, особенности диеты, прием ряда лекарственных препаратов, курение, злоупотребление алкоголем и др. [15]. Установлены основные механизмы патогенетического эффекта ГГЦ, среди которых – индукция окислительного стресса, развитие эндотелиальной дисфункции, активация системы свертывания крови и усиление агрегации тромбоцитов, что приводит к гиперкоагуляции [15, 19].

Большой интерес представляет анализ уровня Hcy при РС для уточнения вклада данного соединения в патогенез РС и разработки новых биомаркеров прогрессирования этого заболевания [10, 14]. Предполагается наличие нескольких возможных механизмов патогенетического эффекта Hcy при РС: усиление оксидативного стресса, который

в целом считается ключевым молекулярным механизмом повреждения аксонов при РС; индукция эксайтотоксичности вследствие способности Hcy выступать в качестве агониста рецепторов глутамата; прямое токсическое действие Hcy на глиальные клетки; дестабилизация структуры миелина из-за гипометилирования основного белка миелина; усиление нейровоспаления и повышение синтеза провоспалительных цитокинов; усиление дисфункции гематоэнцефалического барьера [20–22].

Определение уровня Hcy при РС с проведением клинико-лабораторных сопоставлений проводилось во многих исследованиях. Хотя в большинстве работ было показано статистически значимое повышение уровня Hcy [10, 11, 22], в ряде исследований не было выявлено различий содержания данного маркера у пациентов с РС и в контрольной группе [23]. Достаточно противоречивые данные получены также и в отношении возможной роли Hcy в прогрессировании заболевания и развитии отдельных клинических признаков заболевания, таких как когнитивные нарушения, утомляемость и др. [11, 14, 24–26]. Следует отметить, что большинство исследований в этой области были небольшими. С учетом значительных изменений подходов к терапии РС в последние годы представляется крайне актуальным обновление этой информации для уточнения роли Hcy при РС и рекомендаций по скринингу и коррекции ГГЦ при РС. Значительный интерес для дальнейшего изучения представляют и другие маркеры, в частности S-аденозилметионин (SAM), S-аденозилгомоцистеин (SAH), цистеин (Cys), цистеинилглицин (CG), глутатион (GSH) и молекулы межклеточной адгезии (ICAM-1).

Цель исследования – изучение информативности определения содержания маркеров оксидативного стресса, митохондриальной и эндотелиальной дисфункции у пациентов с РС.

Материал и методы. Исследование проводилось в соответствии с принципами Хельсинкской декларации и было одобрено локальным этическим комитетом (протокол № 4 от 04.04.2022). Все участники исследования подписали добровольное информированное согласие.

В исследование были включены 63 пациента с РС (40 женщин, 23 мужчины) в возрасте 35 [30; 43] лет. Контрольную группу составили 43 здоровых добровольца (22 мужчины, 21 женщина) в возрасте 37 [32; 44] лет.

Критерии включения пациентов в исследование:
- письменное добровольное информированное согласие на участие в исследовании;
- возраст старше 18 лет;
- диагноз РС, подтвержденный в соответствии с критериями McDonald (2017).

Критерии невключения пациентов в исследование:
- сопутствующие системные воспалительные заболевания;
- острые или хронические инфекционные заболевания;
- заболевания и состояния, способные приводить к развитию ГГЦ (дефицит витамина B_{12}, наследственные тромбофилии и др.);
- сопутствующие органические заболевания ЦНС, отличные от РС;
- сопутствующая тяжелая соматическая или неврологическая патология.
- отказ пациента от участия в исследовании.

В качестве контрольной группы в исследование были включены сопоставимые по полу и возрасту здоровые добровольцы.

Критериями включения для здоровых добровольцев были:
- письменное добровольное информированное согласие на участие в исследовании;
- возраст старше 18 лет.

Критерии невключения для здоровых добровольцев:
- органические заболевания ЦНС;
- сопутствующие системные воспалительные заболевания;
- острые или хронические инфекционные заболевания;
- заболевания и состояния, способные приводить к развитию ГГЦ (дефицит витамина B_{12}, наследственные тромбофилии и др.);
- сопутствующая тяжелая соматическая или неврологическая патология;
- отказ от участия в исследовании;

У всех пациентов проводился подробный сбор клинико-анамнестических данных с целью выявления критериев невключения, а также оценки длительности заболевания, особенностей его течения и активности. Далее проводился неврологический осмотр пациентов с оценкой тяжести заболевания по Расширенной шкале статуса инвалидизации пациента (Expanded Disability Status Scale, EDSS). Также у пациентов рассчитывался индекс прогрессирования (ИП) по формуле:

$$\text{ИП} = \frac{\text{тяжесть заболевания (EDSS)}}{\text{длительность заболевания}}.$$

В зависимости от принимаемой терапии препаратами, изменяющими течение РС (ПИТРС), пациенты были разделены на две группы: принимающих терапию первой и второй линии; отдельно рассматривались пациенты, получающие терапию натализумабом.

В крови пациентов и добровольцев методом иммуноферментного анализа (ИФА) определялись следующие биомаркеры:
- ICAM-1 (CD54);
- S-аденозилметионин (SAM);
- S-аденозилгомоцистеин (SAH);
- цистеин (Cys);
- цистеинилглицин (CG);
- глутатион (GSH);
- Hcy.

Первичная подготовка образцов для определения SAM/SAH, ICAM-1 (CD54) и других маркеров проводилась следующим образом. Образцы крови (3 мл) незамедлительно смешивали с 350 мкл 0,5 М цитрата натрия (pH 4,3) для определения аминотиолов в крови или плазме. Образцы охлаждали при 4 °C в течение 1,5–2 ч. Для получения плазмы охлажденную кровь центрифугировали в течение 3 мин при 4000 об/мин. GSH, GSSG и RS GSH крови (2 bGSH/GSSG) определяли с помощью капиллярного электрофореза, как было описано ранее [27]. Точность анализа была в пределах 3,5%, а корректность – 101–105%.

Определение аминотиолов в плазме крови (tCys, tCG, tGSH и tHcy) проводили с помощью жидкостной

хроматографии. Сначала к 50 мкл плазмы добавляли 10 мкл 0,1 М дитиотреитола, 10 мкл 0,5 мМ пеницилламина, 10 мкл 0,4 М натрий-фосфатного буфера (pH 8,0), 8 мкл 1 М NaOH и 12 мкл воды, смесь инкубировали в течение 30 мин при 37 °С. Затем добавляли 300 мкл 67 мМ 5,5'-дитиобиса-(2-нитробензойной кислоты) в ацетонитрил с 10% этанолом, а после перемешивания и центрифугирования (5 мин при 15 000 об/мин) к 300 мкл надосадочной жидкости добавляли 10 мкл 1 М HCl и 150 мкл $CHCl_3$. После энергичного перемешивания смесь центрифугировали в течение 2 мин при 3000 об/мин и брали верхнюю фазу, которую сушили под вакуумом (30 мин при 45 °С). Остаток повторно растворяли в 200 мкл воды. Затем 10 мкл образца вводили в хроматограф (Acquity UPLC H-class; Waters, США). Хроматографию проводили с использованием колонки Zorbax Eclipse plus C18 Rapid Resolution HD (150 мм × 2,1 мм × 1,8 мкм; Agilent, США) с градиентом ацетонитрила от 2,5 до 14% в присутствии 0,15 М ацетата NH4 с 0,1% муравьиной кислотой в течение 7 мин при расходе 0,15 мл/мин (температура колонки – 40 °С) с последующей промывкой колонки 50% ацетонитрилом (1 мин) и 2,5% ацетонитрилом (6 мин). Сигнал был обнаружен с помощью уровня поглощения на 330 нм. Точность анализа была в пределах 5%, а корректность – 93–104%.

Определение SAM и SAH в плазме проводили с помощью жидкостной хроматографии с флюоресцентным детектированием, как описано ранее [28], с незначительными изменениями в пробоподготовке. В экстракционный картридж, содержащий 10 мг фазы Bond Elut PBA (Agilent, США), загружали 200 мкл 0,1 М натрий-фосфатного буфера (pH 8,0), 15 мкл 2,5 мкМ S-(5'-аденозил)-3-тиопропиламина (внутренний стандарт), 25 мкл 1 М NaOH и 150 мкл плазмы. Смесь быстро перемешивали, а картридж промывали 0,8 мл 10 мМ натрий-фосфатного буфера (pH 7,0). Аналиты элюировали 0,1 мл 250 мМ HCl. Дериватизацию аналитов проводили в течение 4 ч при 37 °С путем добавления в элюат 37 мкл 1 М ацетата натрия (pH 5,0), 18 мкл 1 М NaOH и 30 мкл 50% хлороацетальдегида с последующим добавлением 7,5 мкл муравьиной кислоты для остановки реакции. Точность анализа была в пределах 9%, а корректность – 97–101%.

Определение ICAM-1 в плазме крови проводилось методом ИФА с использованием набора фирмы R and D Systems (США). Подготовка образцов для анализа включала следующие этапы:

1) разбавление иммобилизованного антитела в PBS до рабочей концентрации с последующим разнесением на 96-луночный микропланшет по 100 мкл и инкубацией закрытого планшета в течение ночи при комнатной температуре;
2) трехкратная аспирация и промывание буфером (400 мкл) каждой лунки;
3) заполнение планшета растворителем реагентов (по 300 мкл) и инкубация при комнатной температуре не менее 1 ч;
4) повторение аспирации и промывки.

Процедура ИФА проводилась по следующей методике:

1) добавление в каждую лунку по 100 мкл образца / стандарта растворителя реагентов / растворителя, накрывание лунок и инкубация при комнатной температуре в течение 2 ч;
2) аспирация и промывка (аналогично таковым при подготовке планшета);
3) добавление по 100 мкл растворенных в растворителе реагента антител обнаружения, накрывание лунок и инкубация при комнатной температуре в течение 2 ч;
4) повторная аспирация и промывка;
5) внесение в лунки по 100 мкл стрептавидина-HRP с последующей инкубацией в течение 20 мин при комнатной температуре;
6) повторная аспирация и промывка;
7) добавление по 10 мкл раствора субстрата, инкубация в течение 20 мин при комнатной температуре;
8) добавление по 50 мкл стоп-раствора;
9) определение оптической плотности лунок с помощью микропланшетного ридера, настроенного на длину волны 450 нм.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета программ STATISTICA (StatSoft, США). Поскольку распределения данных отличались от нормального (критерий Шапиро–Уилка; $p<0,05$), для анализа использованы методы непараметрической статистики. Данные в таблицах и тексте представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей (Me [25-й; 75-й перцентили]). Для сравнения двух несвязанных групп по количественному признаку использовался критерий Манна–Уитни. Сравнение двух групп по качественному бинарному признаку проводилось с использованием точного критерия Фишера. Корреляционная связь рассчитывалась с применением коэффициента корреляции Спирмена. Различия считались статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты. Группы пациентов и здоровых добровольцев были сопоставимы по полу ($p=0,16$; точный критерий Фишера) и возрасту ($p=0,51$; критерий Манна–Уитни).

Длительность заболевания пациентов с РС варьировала от 1 года до 23 лет (8 [4; 13] лет). Тяжесть заболевания, оцененная по EDSS, находилась в диапазоне от 1 до 7,5, медиана – 3 [2; 4]. Рассчитанный индекс прогрессирования составил от 0,11 до 3,00; медиана – 0,38 [0, 27; 0,62]. У 26 (41,3%) пациентов на момент обследования было зарегистрировано обострение заболевания.

Подгруппа пациентов, получающих первую линию терапии, включала 30 человек (47,6% от общего числа пациентов), на второй линии терапии находились 33 пациента (52,4%). Терапию натализумабом длительностью от 1 до 132 мес получали 29 (46%) пациентов.

Анализ биомаркеров. При сравнении концентраций исследованных биомаркеров в плазме крови статистически значимые различия между группой пациентов с РС и группой контроля были обнаружены для следующих показателей: ICAM-1 (CD54), SAM, SAH, CG и Hcy, в то время как для соотношения SAM/SAH, а также Cys и GSH статистически значимых различий обнаружено не было (табл. 1). Важно отметить, что у пациентов с РС выявлено статистически значимое увеличение концентрации ICAM-1 и статистически значимое уменьшение концентраций SAM, SAH, CG и Hcy по сравнению со здоровыми добровольцами.

Для Hcy отдельно была проанализирована частота выявления ГГЦ в обследованных когортах пациентов и здоровых добровольцев. У пациентов с РС ГГЦ (содержание Hcy >15 мкмоль/л) была выявлена в 10 случаях (15,9%), в контрольной группе – в трех случаях (7,0%).

Для оценки зависимости концентрации биомаркеров от возраста пациентов, тяжести заболевания и его активности был проведен анализ с оценкой коэффициента корреляции Спирмена (табл. 2). Статистически значимая умеренная положительная корреляция была выявлена только для содержания Hcy и оценки по EDSS (R=0,36; p=0,004).

Для пациентов с РС также были проанализированы различия концентраций биомаркеров в подгруппах пациентов в зависимости от линии терапии, проведения терапии натализумабом, наличия Cd+ очагов в режиме T1-взвешенных изображений, признаков активности заболевания и наличия обострения на момент взятия крови (табл. 3).

У пациентов с разными линиями терапии статистически значимые различия были показаны для Hcy, причем концентрация была ниже у пациентов на первой линии терапии (критерий Манна–Уитни; p<0,001). При сравнении пациентов, получавших и не получавших натализумаб, статистически значимые различия показаны для концентраций SAM и Cys (ниже в группе пациентов, получавших натализумаб; p=0,013 и p=0,014 соответственно) и HCy (выше в группе пациентов, получавших натализумаб; p<0,001).

При анализе различий концентраций биомаркеров у пациентов, имеющих и не имеющих Cd+ очаги, статистически значимые различия показаны для ICAM-1 (CD54) и Cys (выше у пациентов с Cd+ очагами; p=0,002 и p=0,029 соответственно), а также Hcy (ниже у пациентов с Cd+ очагами; p<0,001). У пациентов, имеющих признаки активности заболевания, наблюдались сходные результаты: повышение уровней ICAM-1 (CD54; p=0,006) и Cys (p=0,028) и снижение – Hcy (p<0,001). При наличии обострения на момент исследования у пациентов регистрируется статистически значимое снижение концентрации ICAM-1 (CD54) в плазме крови (p=0,001), снижение содержания SAM (p=0,004), Cys (p=0,005) и Hcy (p<0,001).

Обсуждение. Неожиданной находкой настоящего исследования стало небольшое, но статистически значимое снижение у пациентов с РС уровня Hcy. В большинстве ранее проведенных исследований, напротив, было выявлено увеличение уровня Hcy, что нашло также подтверждение в двух опубликованных метаанализах [11, 22]. Среди исследований, не выявивших ГГЦ при РС, необходимо отметить работу E. Kararizou и соавт. [23], в которой значимых различий уровня Hcy у пациентов с РС и здоровых добровольцев выявлено не было. Можно предположить несколько причин парадоксальных результатов настоящего исследования. Нельзя исключить, что более низкий уровень Hcy у пациентов с РС может быть связан

Таблица 1. *Содержание биомаркеров в крови пациентов с РС и здоровых добровольцев*

Table 1. *Biomarker levels in the blood of patients with MS and healthy volunteers*

Показатель	Пациенты с РС (n=63)	Здоровые добровольцы (n=43)	p-уровень
Концентрация ICAM-1 (CD54) в плазме крови, пг/мл	5808,4 [5472,2; 6202,8]	3380,0 [3223,1; 3520,6]	**<0,001**
SAM, нМ	45,8 [41,9; 57,7]	104,2 [90,0; 121,5]	**<0,001**
SAH, нМ	4,19 [3,04; 6,15]	9,4 [7,2; 11,8]	**<0,001**
SAM/SAH	11,2 [7,3; 15,6]	11,0 [9,0; 13,3]	0,78
Cys, мкМ	283,8 [253,1; 321,6]	285,8 [277,2; 300,7]	0,79
CG, мкМ	27,5 [21,7; 31,7]	31,1 [27,4; 35,4]	**0,001**
GSH, мкМ	11,6 [9,5; 12, 9]	10,8 [8,5; 11,9]	0,15
Hcy, мкМ	11,3 [9,4; 13,4]	12,3 [11,6; 13,3]	**0,02**

Примечание. Полужирным шрифтом выделены статистически значимые различия (здесь и в табл. 3).

Таблица 2. *Корреляция клинико-демографических показателей с содержанием исследованных биомаркеров (приведены значения коэффициента корреляции Спирмена и уровень значимости)*

Table 2. *Correlation of clinical and demographic indicators with the levels of the biomarkers studied (Spearman's correlation coefficient and significance level are given)*

Показатель	Возраст	EDSS	Индекс прогрессирования
Концентрация ICAM-1 (CD54) в плазме крови, пг/мл	R=0,17; p<0,05	R=-0,01; p<0,05	R=-0,24; p<0,05
SAM, нМ	R=0,10; p<0,05	R=-0,002; p<0,05	R=0,14; p<0,05
SAH, нМ	R=0,07; p<0,05	R=0,04; p<0,05	R=-0,007; p<0,05
SAM/SAH	R=0,02; p<0,05	R=-0,005; p<0,05	R=0,03; p<0,05
Cys, мкМ	R=0,23; p<0,05	R=0,04; p<0,05	R=-0,016; p<0,05
CG, мкМ	R=0,23; p<0,05	R=0,065; p<0,05	R=0,014; p<0,05
GSH, мкМ	R=0,09; p<0,05	R=0,01; p<0,05	R=0,11; p<0,05
Hcy, мкМ	R=0,02; p<0,05	R=0,36; p=0,004*	R=-0,05; p<0,05

Примечание. * – статистически значимая умеренная положительная корреляция.

с повторными курсами лечения витаминами группы В, которые назначаются при РС вне зависимости от наличия их дефицита в связи с предполагаемым нейротропным эффектом. Другой возможной причиной является тот факт, что большинство пациентов с РС из обследованной нами когорты получали различные препараты из группы ПИТРС, при этом более половины пациентов получали ПИТРС второй линии, а 46% пациентов – натализумаб. До настоящего времени влияние различных ПИТРС на уровень Hcy остается практически неизученным, при этом, например, для кладрибина показана возможность снижения уровня Hcy [12]. С другой стороны, в работе M. Moghaddasi и соавт. [29] показано, что уровень Hcy выше у пациентов, находящихся на терапии препаратами интерферона β, по сравнению с другими препаратами. По нашим данным, у пациентов с РС, получающих натализумаб, уровень Hcy статистически значимо выше, чем у других пациентов, что может быть связано как с особенностями течения заболевания в данных случаях, так и с проводимой терапией. Данный вопрос, безусловно, требует дополнительного тщательного изучения в будущих исследованиях.

Следует особо отметить, что, хотя при проведении группового анализа у пациентов с РС нами было выявлено снижение данного маркера по сравнению с контролем, при РС была выявлена двукратно более высокая частота случаев умеренной ГГЦ по сравнению со здоровыми добровольцами (15,9% против 7%). Вероятно, целесообразна индивидуальная оценка уровня Hcy для персонализированной оценки риска прогрессирования заболевания с учетом многообразия факторов, которые могут влиять на содержание данного биомаркера.

Интересно заметить, что, хотя нами и не было подтверждено повышение содержания Hcy при РС, было отмечено, что уровень этого маркера статистически значимо положительно коррелирует с тяжестью заболевания по шкале EDSS. Кроме того, нами было выявлено, что уровень Hcy статистически значимо выше у пациентов, получавших ПИТРС второй линии, по сравнению с пациентами, которым проводится терапия ПИТРС первой линии, что также косвенно указывает на роль этого соединения в развитии более тяжелых форм заболевания. Ранее во многих исследованиях также было показано, что Hcy может рассматриваться в качестве одного из маркеров тяжести течения и прогрессирования РС [30, 31].

В рамках данного исследования у пациентов с РС нами также было выявлено статистически значимое увеличение концентрации ICAM-1 и статистически значимое уменьшение концентраций SAM, SAH и CG. Растворимые молекулы межклеточной адгезии ICAM-1 могут рассматриваться в качестве биомаркера эндотелиальной дисфункции и воспаления. Повышение концентрации растворимой формы данной молекулы адгезии является характерным признаком демиелинизирующих и аутоиммунных заболеваний ЦНС, при этом более высокие значения концентрации растворимого ICAM-1 показаны для пациентов с РС по сравнению с заболеваниями спектра оптиконевромиелита и системной красной волчанкой [32]. Кроме того, в нашем исследовании концентрация ICAM-1 была статистически значимо более высокой у пациентов с признаками активности заболевания, а также с наличием Cd+ очагов, что согласуется с данными ранних исследований [33, 34] и может свидетельствовать о том, что данная молекула является биомаркером активности воспалительного процесса в ЦНС. Это согласуется и с результатами более позднего исследования, в котором было показано более высокое содержание CD54+ микрочастиц в сыворотке крови пациентов с ремиттирующим, но не вторично-прогрессирующим РС по сравнению со здоровыми добровольцами [35]. Обнаруженное нами снижение содержания ICAM-1 у пациентов с обострением заболевания, вероятно, отражает влияние проводимой терапии обострения заболевания глюкокортикоидами. Следует также отметить тенденцию к более низкому содержанию ICAM-1 при проведении терапии натализумабом.

При анализе концентраций различных метаболитов было обнаружено снижение концентрации SAM у пациентов с РС по сравнению со здоровыми обследованными, что согласуется с данными о том, что нарушения метаболизма метионина, включая снижение концентрации SAM в ткани головного мозга, могут представлять собой маркеры митохондриальной дисфункции при РС [36]. Интересно также отметить, что уровень SAM, по нашим данным, был снижен у пациентов в стадии обострения заболевания, а также у принимавших натализумаб, что теоретически может отражать более выраженную тяжесть митохондриальной дисфункции у пациентов с более активным течением заболевания. Следует отметить, что в настоящее время аналоги SAM изучаются в экспериментальных моделях в качестве потенциальных терапевтических агентов при аутоиммунных за-

Таблица 3. *Сравнение концентраций биомаркеров между подгруппами пациентов (приведены уровни значимости для сравнения с помощью критерия Манна–Уитни)*

Table 3. *Comparison of biomarker concentrations between patient subgroups (significance levels for comparison using the Mann-Whitney test are given)*

Биомаркер	Линия терапии	Прием натализумаба	Cd+ очаги	Активность	Обострение
ICAM-1	0,500	0,057	**0,002**	0,057	**0,001**
SAM, нМ	0,157	**0,013**	0,180	**0,013**	**0,004**
SAH, нМ	0,535	0,870	0,975	0,869	0,375
SAM/SAH	0,467	0,450	0,856	0,450	0,119
Cys, мкМ	0,061	**0,014**	**0,029**	**0,014**	**0,005**
CG, мкМ	0,486	0,204	0,362	0,203	0,070
GSH, мкМ	0,617	0,687	0,540	0,688	0,082
Hcy, мкМ	**0,001**	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**

болеваниях ЦНС [37]. Вероятно, сходным образом снижение маркера CG также отражает митохондриальную дисфункцию при РС, хотя значение данного метаболита в настоящее время изучено недостаточно.

Также у пациентов с РС отмечались статистически значимо более низкие концентрации SAH по сравнению со здоровыми добровольцами. Несмотря на то что значение изменений концентрации данного биомаркера остается недостаточно изученным, известно, что кладрибин ингибирует фермент SAH-гидролазу, расщепляющую данный метаболит, что может быть одним из дополнительных эффектов препарата на эпигенетические механизмы путем снижения метилирования ДНК [38]. Таким образом, возможно, снижение SAH за счет нарушения метаболизма метионина приводит к нарушению метилирования ДНК и является одним из эпигенетических звеньев патогенеза РС.

Как и в некоторых проведенных ранее исследованиях, мы не обнаружили статистически значимых различий концентрации Cys между здоровыми добровольцами и пациентами с РС [39], однако в нашем исследовании концентрации Cys были статистически значимо ниже у пациентов, получавших натализумаб, но выше у пациентов, имеющих Cd+ очаги и признаки активности заболевания, в связи с чем можно сделать вывод о том, что Cys также отражает активность заболевания и, вероятно, митохондриальную дисфункцию, тесно связанную с процессами воспаления. С другой стороны, у пациентов в стадии обострения также отмечалось снижение концентрации Cys, что может отражать процессы восстановления митохондриальной функции на фоне проводимой терапии обострения.

Заключение. Следует отметить ряд *ограничений* настоящего исследования, такие как небольшой размер выборок пациентов с РС и здоровых добровольцев. Кроме того, мы оценивали только выраженность неврологического дефицита по EDSS и ряд других общих показателей, но при этом не оценивали детально отдельные неврологические нарушения, например когнитивные нарушения, утомляемость и т. д. Ранее было показано, что, например, уровень Hcy коррелирует, в частности, с когнитивными нарушениями, что может отражать роль ГГЦ в развитии нейродегенеративных изменений [24].

В целом проведенное исследование демонстрирует информативность определения содержания при РС различных молекул – маркеров оксидативного стресса, митохондриальной и эндотелиальной дисфункции. Дальнейшее накопление данных в этой области может способствовать разработке новых биомаркеров для мониторинга и прогнозирования течения РС и оценки эффективности терапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Jakimovski D, Bittner S, Zivadinov R, et al. Multiple sclerosis. *Lancet*. 2024 Jan 13;403(10422):183-202. doi: 10.1016/S0140-6736(23)01473-3. Epub 2023 Nov 7.

2. Клинические рекомендации. Рассеянный склероз. Москва; 2022. [Clinical guidelines. Multiple sclerosis. Moscow; 2022 (In Russ.)].

3. Aliyu M, Zohora FT, Ceylan A, et al. Immunopathogenesis of multiple sclerosis: molecular and cellular mechanisms and new immunotherapeutic approaches. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2024 Jun;46(3):355-77. doi: 10.1080/08923973.2024.2330642. Epub 2024 Apr 18.

4. Amezcua L. Progressive Multiple Sclerosis. *Continuum (Minneap Minn)*. 2022 Aug 1;28(4):1083-103. doi: 10.1212/CON.0000000000001157

5. Kavaliunas A, Danylaite Karrenbauer V, Hillert J. Socioeconomic consequences of multiple sclerosis – A systematic literature review. *Acta Neurol Scand*. 2021 Jun;143(6):587-601. doi: 10.1111/ane.13411. Epub 2021 Mar 22.

6. Kuhlmann T, Moccia M, Coetzee T, et al; International Advisory Committee on Clinical Trials in Multiple Sclerosis. Multiple sclerosis progression: time for a new mechanism-driven framework. *Lancet Neurol*. 2023 Jan;22(1):78-88. doi: 10.1016/S1474-4422(22)00289-7. Epub 2022 Nov 18.

7. Rida Zainab S, Zeb Khan J, Khalid Tipu M, et al. A review on multiple sclerosis: Unravelling the complexities of pathogenesis, progression, mechanisms and therapeutic innovations. *Neuroscience*. 2025 Feb 16;567:133-49. doi: 10.1016/j.neuroscience.2024.12.029. Epub 2024 Dec 19.

8. Milo R, Korczyn AD, Manouchehri N, Stüve O. The temporal and causal relationship between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2020 Jul;26(8):876-86. doi: 10.1177/1352458519886943. Epub 2019 Nov 4.

9. Ramos-Gonzalez EJ, Bitzer-Quintero OK, Ortiz G, et al. Relationship between inflammation and oxidative stress and its effect on multiple sclerosis. *Neurologia (Engl Ed)*. 2024 Apr;39(3):292-301. doi: 10.1016/j.nrleng.2021.10.010

10. Dubchenko E, Ivanov A, Spirina N, et al. Hyperhomocysteinemia and Endothelial Dysfunction in Multiple Sclerosis. *Brain Sci*. 2020 Sep 16;10(9):637. doi: 10.3390/brainsci10090637

11. Li X, Yuan J, Han J, Hu W. Serum levels of Homocysteine, Vitamin B_{12} and Folate in Patients with Multiple Sclerosis: an Updated Meta-Analysis. *Int J Med Sci*. 2020 Mar 5;17(6):751-61. doi: 10.7150/ijms.42058

12. Jamroz-Wisniewska A., Beltowski J., Wojcicka G., et al. Cladribine Treatment Improved Homocysteine Metabolism and Increased Total Serum Antioxidant Activity in Secondary Progressive Multiple Sclerosis Patients. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020:1654754. doi: 10.1155/2020/1654754

13. Zhu X, Wei J, Li J, et al. The causal role of homocysteine in multiple diseases: a systematic review of Mendelian randomization studies. *Nutr Metab (Lond)*. 2025 May 20;22(1):45. doi: 10.1186/s12986-025-00933-0

14. Mititelu RR, Albu CV, Bacanoiu MV, et al. Homocysteine as a Predictor Tool in Multiple Sclerosis. *Discoveries (Craiova)*. 2021 Sep 28;9(3):e135. doi: 10.15190/d.2021.14

15. Jakubowski H, Witucki L. Homocysteine Metabolites, Endothelial Dysfunction, and Cardiovascular Disease. *Int J Mol Sci*. 2025 Jan 16;26(2):746. doi: 10.3390/ijms26020746

16. Smith AD, Refsum H. Homocysteine – from disease biomarker to disease prevention. *J Intern Med*. 2021 Oct;290(4):826-54. doi: 10.1111/joim.13279. Epub 2021 Apr 6.

17. McCaddon A, Miller JW. Homocysteine – a retrospective and prospective appraisal. *Front Nutr*. 2023 Jun 13;10:1179807. doi: 10.3389/fnut.2023.1179807

18. Cao X, Wang T, Mu G, et al. Dysregulated homocysteine metabolism and cardiovascular disease and clinical treatments. *Mol Cell Biochem*. 2025 May 10. doi: 10.1007/s11010-025-05284-1. Epub ahead of print.

19. Li X, Zhou Z, Tao Y, et al. Linking homocysteine and ferroptosis in cardiovascular disease: insights and implications. *Apoptosis*. 2024 Dec;29(11-12):1944-58. doi: 10.1007/s10495-024-01999-6. Epub 2024 Jul 23.

20. Cordaro M, Siracusa R, Fusco R, et al. Involvements of Hyperhomocysteinemia in Neurological Disorders. *Metabolites*. 2021 Jan 6;11(1):37. doi: 10.3390/metabo11010037

21. Ansari R, Mahta A, Mallack E, Luo JJ. Hyperhomocysteinemia and neurologic disor-

ders: a review. *J Clin Neurol*. 2014 Oct;10(4):281-8. doi: 10.3988/jcn.2014.10.4.281. Epub 2014 Oct 6. Erratum in: *J Clin Neurol*. 2015 Jan;11(1):106. doi: 10.3988/jcn.2015.11.1.106

22. Dardiotis E, Arseniou S, Sokratous M, et al. Vitamin B12, folate, and homocysteine levels and multiple sclerosis: A meta-analysis. *Mult Scler Relat Disord*. 2017 Oct;17:190-7. doi: 10.1016/j.msard.2017.08.004. Epub 2017 Aug 16.

23. Kararizou E, Paraskevas G, Triantafyllou N, et al. Plasma homocysteine levels in patients with multiple sclerosis in the Greek population. *J Chin Med Assoc*. 2013;76:611-4. doi: 10.1016/j.jcma.2013.07.002

24. Fahmy EM, Elfayoumy NM, Abdelalim AM, et al. Relation of serum levels of homocysteine, vitamin B12 and folate to cognitive functions in multiple sclerosis patients. *Int J Neurosci*. 2018 Sep;128(9):835-41. doi: 10.1080/00207454.2018.1435538. Epub 2018 Feb 21.

25. Imeni Kashan A, Mirzaasgari Z, Nouri Shirazi S. Relationship between serum levels of folic acid and homocysteine with cognitive impairment in patients diagnosed with multiple sclerosis. *Medicine (Baltimore)*. 2024 Jul 12;103(28):e38680. doi: 10.1097/MD.0000000000038680

26. Adamczyk-Sowa M, Sowa P, Adamczyk J, et al. Effect of melatonin supplementation on plasma lipid hydroperoxides, homocysteine concentration and chronic fatigue syndrome in multiple sclerosis patients treated with interferons-beta and mitoxantrone. *J Physiol Pharmacol*. 2016;67:235-42.

27. Ivanov AV, Popov MA, Aleksandrin VV, et al. Determination of glutathione in blood via capillary electrophoresis with pH-mediated stacking. *Electrophoresis*. 2022 Oct;43(18-19):1859-70. doi: 10.1002/elps.202200119. Epub 2022 Jul 29. Erratum in: *Electrophoresis*. 2022 Dec;43(23-24):2466. doi: 10.1002/elps.202270142

28. Ivanov AV, Dubchenko EA, Kruglova MP, et al. Determination of S-adenosylmethionine and S-adenosylhomocysteine in blood plasma by UPLC with fluorescence detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2019 Aug 15;1124:366-74. doi: 10.1016/j.jchromb.2019.06.032. Epub 2019 Jun 27.

29. Moghaddasi M, Mamarabadi M, Mohebi N, et al. Homocysteine, vitamin B_{12} and folate levels in Iranian patients with Multiple Sclerosis: a case control study. *Clin Neurol Neurosurg*. 2013 Sep;115(9):1802-5. doi: 10.1016/j.clineuro.2013.05.007. Epub 2013 Jun 10.

30. Teunissen CE, Killestein J, Kragt JJ, et al. Serum homocysteine levels in relation to clinical progression in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008 Dec;79(12):1349-53. doi: 10.1136/jnnp.2008.151555. Epub 2008 Aug 1.

31. Guzel I, Mungan S, Oztekin ZN, Ak F. Is there an association between the Expanded Disability Status Scale and inflammatory markers in multiple sclerosis? *J Chin Med Assoc*. 2016 Feb;79(2):54-7. doi: 10.1016/j.jcma.2015.08.010. Epub 2015 Nov 14.

32. Jasiak-Zatonska M, Pietrzak A, Wyciszkiewicz A, et al. Different blood-brain-barrier disruption profiles in multiple sclerosis, neuromyelitis optica spectrum disorders, and neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Neurol Neurochir Pol*. 2022;56(3):246-55. doi: 10.5603/PJNNS.a2022.0013. Epub 2022 Feb 4.

33. Hartung HP, Michels M, Reiners K, et al. Soluble ICAM-1 serum levels in multiple sclerosis and viral encephalitis. *Neurology*. 1993 Nov;43(11):2331-5. doi: 10.1212/wnl.43.11.2331

34. Sharief MK, Noori MA, Ciardi M, et al. Increased levels of circulating ICAM-1 in serum and cerebrospinal fluid of patients with active multiple sclerosis. Correlation with TNF-alpha and blood-brain barrier damage. *J Neuroimmunol*. 1993 Mar;43(1-2):15-21. doi: 10.1016/0165-5728(93)90070-f

35. Alexander JS, Chervenak R, Weinstock-Guttman B, et al. Blood circulating microparticle species in relapsing-remitting and secondary progressive multiple sclerosis. A case-control, cross sectional study with conventional MRI and advanced iron content imaging outcomes. *J Neurol Sci*. 2015 Aug 15;355(1-2):84-9. doi: 10.1016/j.jns.2015.05.027. Epub 2015 May 28.

36. Singhal NK, Li S, Arning E, et al. Changes in Methionine Metabolism and Histone H3 Trimethylation Are Linked to Mitochondrial Defects in Multiple Sclerosis. *J Neurosci*. 2015 Nov 11;35(45):15170-86. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4349-14.2015

37. Spurgeon S, Yu M, Phillips JD, Epner EM. Cladribine: not just another purine analogue? *Expert Opin Investig Drugs*. 2009 Aug;18(8):1169-81. doi: 10.1517/13543780903071038

38. Li H, Lu H, Tang W, Zuo J. Targeting methionine cycle as a potential therapeutic strategy for immune disorders. *Expert Opin Ther Targets*. 2017 Aug 23:1-17. doi: 10.1080/14728222.2017.1370454. Epub ahead of print.

39. Bystricka Z, Laubertova L, Durfinova M, Paduchova Z. Methionine metabolism and multiple sclerosis. *Biomarkers*. 2017 Dec;22(8):747-54. doi: 10.1080/1354750X.2017.1334153. Epub 2017 Jun 6.

Поступила / отрецензирована / принята к печати
Received / Reviewed / Accepted
13.05.2025 / 21.07.2025 / 22.07.2025

Заявление о конфликте интересов / Conflict of Interest Statement

Исследование не имело спонсорской поддержки. Конфликт интересов отсутствует. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

The investigation has not been sponsored. There are no conflicts of interest. The authors are solely responsible for submitting the final version of the manuscript for publication. All the authors have participated in developing the concept of the article and in writing the manuscript. The final version of the manuscript has been approved by all the authors.

Дубченко Е.А. https://orcid.org/0000-0002-2503-355X
Бойко А.Н. https://orcid.org/0000-0002-2975-4151
Гусев Е.И. https://orcid.org/0000-0003-0742-6875
Иванов А.В. https://orcid.org/0000-0002-2424-6115
Попов М.А. https://orcid.org/0000-002-0316-8410
Масленникова Р.А. https://orcid.org/0009-0003-6143-9164
Круглова М.П. https://orcid.org/0000-0001-6939-160X
Силина М.П. https://orcid.org/0000-0002-0246-5146
Кубитаев А.А. https://orcid.org/0000-0001-8077-2905