

МОЗГОВОЙ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЙ ФАКТОР (BDNF) В КАЧЕСТВЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРА ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ (РС)

©2015 С.В.Лобзин, В.И.Головкин, И.И.Кула

Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова.
Санкт-Петербург

Статья поступила в редакцию 25.06.2015

В статье на основе корреляционного анализа плазменного содержания мозгового нейротрофического фактора, про- и противовоспалительных цитокинов у больных рассеянным склерозом обосновывается иммуномодулирующее действие нейротрофика. Обсуждаются механизмы действия нового перорального препарата, модифицирующего течение РС – лаквинимода.

Ключевые слова: рассеянный склероз, мозговой нейротрофический фактор, лаквинимод.

Введение. За 50 с лишним лет изучения ростовых факторов только 20 публикаций касаются исследований мозгового нейротрофического фактора (BDNF) и то преимущественно при экспериментальной демиелинизации¹. Результаты опытов на крысах указывают на участие нейротрофических факторов в сдерживании развития экспериментального аллергического энцефаломиелита (ЭАЭ) и в процессах ремиелинизации². Так, стереотаксическое введение NT-3 (гомология с BDNF 52%, $r = 0,8$) в corpus callosum привело к уменьшению объёма воспалительной демиелинизации определяемой на секции на 60% и к отсутствию астроглиоза вообще³.

Известно, что вирусные онкогены стимулируют рост опухоли, опосредуя такую же ферментативную активность, что и рецептор ростовых факторов, т.е. без влияния извне эндогенные ростовые факторы участвуют в шапероновой защите клеток от избыточного синтеза внутриклеточных

белков, но и стимулируют нормальный уровень синтеза белка, предупреждая недоразвитие клеток или их дегенерацию.

Эта диалектическая борьба противоположностей затрудняет прикладное использование BDNF и других нейротрофинов того же класса (NGF, NT-3, NT 4/5). Работы по использованию BDNF у больных единичны и не только противоречивые, но и взаимоисключающие. Так, одни авторы находят снижение содержания BDNF у больных (706,6±202,9) по сравнению со здоровыми (1020,7±304,7 пг/мл), другие – повышение: 56,6±10,7; 120,9±5,3; 226,8±29,7 в зависимости от формы заболевания, при норме – 37,9±0,38 пг/мл⁴.

При обострении РС (обследовано 10 больных) содержание BDNF и NGF в спинно-мозговой жидкости (СМЖ) увеличивается. Нейротрофины продуцируются иммунокомпетентными клетками (ИКК): миелинспецифическими Т-лимфоцитами, Т-хелперами 2 типа (Th2)⁵. Иммунодепрессивная терапия, проведённая 14-ти больным РС, снизила повышенный сывороточный уровень BDNF (31,78±4,6) до нормы (28,39±3,28) и в ликворе соответ-

¹ Лобзин Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой неврологии им. С.Н.Давиденкова. E-mail: slobzin58@mail.ru

Головкин Владимир Иванович, доктор медицинских наук, профессор кафедры неврологии им. С.Н.Давиденкова.

E-mail: golovkin@hotmail.com

Кула Ирина Ивановна, аспирант кафедры неврологии им. С.Н.Давиденкова. E-mail: kula_irina@rambler.ru

¹ Одинак, М.М. Факторы роста нервной ткани в центральной нервной системе / М.М.Одинак, Н.В.Цыган – СПб: Наука, 2005. – 157с.

² Burt, R.K. et al. Reversal of neurologic deficits after bone marrow transplantation in relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis / Burt R.K. et al // Abstr. 16 World Congress of Neurology, 1987. – suppl to Vol.150. – P. – 48

³ Jean, I. Neurotrophin-3 accelerates remyelination in vivo / I.Jean, A.Barthelax-Pouplard, C.Fressinaud // Abstr. 16 Congr. of ECTRIMS, 2000. – S.5.

⁴ Колесниченко, Е.В. Исследование перекисного окисления липидов и уровня мозгового нейротрофического фактора у больных шизофренией / Е.В.Колесниченко, В.Б.Вильянос // Неврологический вестник. Казань. – 2008. – Т.40. – №3. – С.47 – 50.

⁵ Hohnfeld, R. Neurotrophin production by immune cells implantations for immunotherapy / R.Hohnfeld // Abstr. Congr. of ECTRIMS, 2001. – v.7. – suppl.1. – S.21; Nolden, S. Expression of BDNF and NGF in blood cells of patients with MS / S.Nolden, A.Porr et al. // Abstr. Congr. of ECTRIMS, 2001. – v.7. – suppl.1. – P.078; Aharoni, R. The immunomodulator glatiramer acetate augments the expression of neurotrophic factors in brains of experimental autoimmune encephalomyelitis mice / R.Aharoni, R.Eilam, H.Dmev, G.Labunskay, et.al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 2005.

венно с $22,93 \pm 17,9$ до $9,33 \pm 4,9$ нг/мл. Однако, другой вид противовоспалительной терапии анти CD3 антителами привел не только к увеличению уровня BDNF, но и уровня IFNg⁶, что нежелательно при РС.

Лаквинимод при хроническом ЭАЭ, индуцированном MOG 35-55, увеличивает экспрессию BDNF в мозге мышцей, обнаруживаемой на секции⁷. Увеличение уровня BDNF в культуре нейронов гиппокампа крысы обнаружено и под действием стабилизированного аналога эндогенного меланокортина (препарат семакс), что открывает возможность терапии когнитивно-мнестических нарушений⁸.

Цель работы. Определить линейные (r) и ранговые (ρ) корреляционные связи плазменного мозгового нейротрофического фактора (BDNFa), про- (IFNg, TNFa), противовоспалительных (IL10) цитокинов и факторов гуморальной (AT) и клеточной сенсбилизации (РБТЛ) к основному белку миелина (ОБМ, Sigma, USA) при ремитирующем течении РС вне обострения (PPPC).

Материал и методы. Содержание BDNFa в плазме крови определялось методом иммуоферментного анализа (ИФА) с наборами фирмы RD Systems, USA у 63 больных PPPC (м - 25, ж - 38, возраст от 20 до 39 лет, EDSS от 1,5 до 4,5 баллов), у 40 здоровых лиц и у 35 больных вторично-прогредиентным РС в фазе дегенерации (ВПРС), которую определяли по факту снижения пика нейронального метаболита ацетил аспартата (N-AA) при проведении протонной магнитно-резонансной спектроскопии (¹HМРС) головного мозга.

Полученные значения концентрации BDNF в плазме крови сравнивались с нормативными показателями, отражающими интенсивность синтеза пептида: 0–15– низкая, 15–30– средняя, более 30 пг/мл – высокая продукция.

Антитела к ОБМ определялись методом ИФА с наборами фирмы Новина, Москва по коэффициенту оптической плотности сыворотки опытного и контрольного образца.

⁶ Aronlay, D. Low and dysregulated BDNF secretion from immune cells of RRMS patients is related to reduced neuroprotection / D.Aronlay, N.Orshansky, A.Karni // Abstr. Congr. of ECTRIMS, 2007. – P.512. – S.152.

⁷ Sooda, R. Treatment with oral laquinimod suppresses ongoing EAE and augments the expression of BDNF in the brain / R.Sooda, R.Aharoni, R.Eilam, R.Arnon // Abstr. Congr. of ECTRIMS, 2011. – P.957. – S.432.

⁸ Гривенников, И.А. Влияние меланокортинов на экспрессию ряда нейротрофических факторов в клетках гиппокампа крысы in vitro / И.А.Гривенников, О.В.Долотов, Л.С.Иноземцева и др. // Вопр. биолог., мед. и фарм. химии. – 2011. – №4. – С.10 – 16

Реакция бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ) учитывалась в 7-ми дневной культуре с двумя дозами антигена (2,5 и 15 мг/мл). Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием коэффициентов Пирсона (r) и Спирмана (ρ) и по Стьюденту.

Результаты. Все больные РС по содержанию BDNF распределились на 3 примерно равные группы: с низким (10 – 14), нормальным (15 – 24) и высоким (30 – 92) уровнем при средних значениях для последней подгруппы $83,13 \pm 24,26$ пг/мл. У здоровых 40 человек того же возраста ($28,9 \pm 0,8$ лет), низкого уровня BDNF нами не обнаружено, а высокий уровень BDNF встречался в 2 раза чаще, чем средний: 0% – 33,4% – 66,6% соответственно (таб.1).

Таб. 1. Содержание мозгового нейротрофического фактора в плазме крови у здоровых и больных рассеянным склерозом (пг/мл)

Нормативное	% у здоровых (n = 40)	% у больных (n = 63)
Низкое(10-14)	0	33,9
Среднее(15-24)	33,4	34,0
Высокое (>30)	66,6	32,1

Таб. 2. Корреляционные связи между плазменным содержанием мозгового нейротрофического фактора и про- и противовоспалительными цитокинами у больных рассеянным склерозом

Цитокины/нейротрофик	TNFa	IL-10
BDNFa	0,12	0,71

Корреляционные связи BDNFa и spTNFa оказались слабopоложительными: $r = 0,24$ и $\rho = 0,12$. Значительной оказалась отрицательная ранговая корреляция BDNFa и spIFNg: $\rho = -0,64$. Любопытно то, что и между провоспалительными цитокинами имелась слабopоложительная линейная и слабopрицательная ранговая корреляция при их средних значениях для spTNFa $30,3 \pm 2,25$ и для spIFNg $96,25 \pm 12,88$ пг/мл. Сильная связь обнаружена между BDNFa и indIL-10 ($\rho = 0,71$) при их значениях в подгруппах $30,63 \pm 2,24$ и $293,23 \pm 28,34$ соответственно (таб.2). Специфическая сенсбилизация к ОБМ (сывороточные аутоантитела IgM и РБТЛ с двумя дозами антигена) была выражена при повышенной спонтанной (sp) лимфоцитарной продукции как TNFa ($165,3 \pm 22,2$) так и IFNg ($159,24 \pm 14,39$) и составляла $1,62 \pm 0,05$ и $1,45 \pm 0,03$ соответственно (при норме 0-1,1).

При ВПРС в фазе дегенерации нейротрофического фактора в плазме крови оказалось досто-

верно меньше, чем при PPPC вне обострения: $36,63 \pm 2,24$ и $83,13 \pm 24,26$ ($p < 0,001$).

Обсуждение. Проведённые клинико-иммунологические исследования с одной стороны характеризуют состояние ремитирующего течения у больных РС как неустойчивое (повышение спонтанной продукции лимфоцитами провоспалительных цитокинов и сенсибилизация к ОБМ), с другой стороны подтверждают их нахождение вне эксацербации (высокий уровень IL-10).

Важным является установление сильной корреляции IL-10 – BDNF, которая может указывать на один из механизмов клинической ремиссии и на путь к её терапевтическому достижению. Каскад иммунных реакций при РС является одновременно разнонаправленным: так IL-12, продуцируемый В-лимфоцитами при взаимодействии CD40L и CD40, индуцирует образование и IFN γ и IL-10, при взаимодействии IL-10 и IL-2 происходит дополнительная стимуляция пролиферации CD20+CD40⁺ способствующей развитию гуморального иммунного ответа⁹. BDNF экспрессируемый на клетках мозга при отсутствии его возрастного снижения (средний возраст амбулаторных больных РС $28,8 \pm 6,5$) оказывает ГАМК-эргическое влияние и предохраняет олигодендроциты от апоптоза. Развиваемая в настоящее время олигопептидная терапия обоснованно преследует цель стимуляции эндогенных нейротрофических факторов.

В связи с появлением нового препарата бинарного действия лаквинимода для лечения РС и разрешённого к применению в РФ в 2013 г. актуализировалась необходимость более подробного изучения взаимодействия BDNF и TNF α при данном заболевании. Результаты опытов на линейных крысах (Вистар) указывают на участие нейротрофических факторов в сдерживании развития ЭАЭ. Оральный прием лаквинимода (25mg/kg, ежедневно), начатый при индукции заболевания (профилактическое лечение) или даже после развития энцефаломиелита (супрессивная терапия) значительно снижал его клинические проявления¹⁰. Следует также помнить, что второй рецептор для BDNF – TrkB экспрессируется не только в

нервной ткани, но и на тимоцитах, что указывает на роль BDNF в лимфопоэзе¹¹.

В нашей работе получена слабая корреляция уровня BDNF и TNF α , не подтверждающая убедительного взаимодействия нейротрофического фактора и провоспалительного цитокина. При сравнении титров антител к TNF α и IFN γ выявлено преобладание последних именно к IFN γ , а не к TNF α , что подтверждает обоснованность использования бета-интерфероновых препаратов при лечении РС¹². Однако, интересен и не бета-интерфероновый механизм действия лаквинимода, приведённый в обзоре А.Н.Бойко¹³ в связи с действием препарата на уровень нейротрофина NF- κ B, имеющего гомологию с BDNF (см. таб. 3 в строке по Bruck W. et al.)¹⁴. Учитывая то, что индекс свободных легких цепей иммуноглобулинов (СЛЦ) каппа в СМЖ при РС 10:1 (при норме 3:2), то повышение продукции легких каппа-цепей иммуноглобулинов в фазе воспалительной демиелинизации можно связать с гиперглобулиноражией за счёт миелинотоксических антител ($\kappa = 257,0 \pm 49,2$ нг/мл; $\lambda = 23,9 \pm 9,9$ нг/мл; $r = 0,47$)¹⁵. Однако, преобладающим механизмом иммунопатологии при РС является клеточный, а не гуморальный, поэтому выявленная нами корреляция BDNF с IL-10, а также низкие титры антител к провоспалительному цитокину¹⁶ позволяет более уверенно говорить о подавлении именно клеточной сенсибилизации к мозговым антигенам.

⁹ Калашникова, А.А. Про- и противовоспалительные цитокины в периферической крови больных рассеянным склерозом / А.А.Калашникова, Н.И.Давыдова, Н.М.Калинина // В кн.: Головкин В.И., Калинина Н.М. (ред.). Иммуноопосредованный ремитирующий рассеянный склероз. – СПб.: «Роза мира», 2003. – С.65 – 81.

¹⁰ Burt, R.K. Reversal of neurologic deficits after bone marrow transplantation in relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis / R.K.Burt et al // Abstr. 16 World Congress of Neurology, 1987. – suppl to Vol.150. – P. – 48.

¹¹ Martinowich, K. New insights into BDNF function in depression and anxiety/ K.Martinowich, H.Manji, B.Lu // Nat Neurosci, 2007. – Vol.10. – P.1089–1093.

¹² Skurkovich, S. Randomized study of antibodies to IFN- γ and TNF- α in secondary progressive multiple sclerosis. / S.Skurkovich, A.Boiko, I.Beliaeva, A.Buglak, T.Alekseeva, N.Smirnova, O.Kulakova, V.Tchechonin, O.Gurova, T.Deomina, O.Favorova, B.Skurkovich, E.Gusev // Multiple sclerosis 2001, 7: 277 – 284.

¹³ Бойко, А.Н. Лаквинимод – новый таблетированный препарат с нейропротективным эффектом для лечения рассеянного склероза (обзор) / А.Н.Бойко, Е.И.Гусев // Ж. неврологии и психиатрии, 2013. – Т.2-2. – С.93 – 99.

¹⁴ Bruck, W. Reduced astrocytic NF- κ B activation by laquinimod protects from cuprizone-induced demyelination / W.Bruck, R.Pfortner, T.Pham et al. // Acta Neuropathol, 2012. – Vol. 124. – P. 411 – 424.

¹⁵ Бисага, Г.Н. Лёгкие цепи иммуноглобулинов цереброспинальной жидкости при определении активности патологического процесса/ Г.Н.Бисага // В кн.: Головкин В.И., Калинина Н.М. (ред.). Иммуноопосредованный ремитирующий рассеянный склероз. – С.51 – 65.

¹⁶ Skurkovich, S. Randomized study of antibodies to IFN- γ and TNF- α in secondary progressive multiple sclerosis. – P. 277 – 284.

Таб. 3. Предполагаемые механизмы иммуномодулирующего действия мозгового нейротрофического фактора при рассеянном склерозе

Фактор	Эффект
Снижение уровня TNF α ¹⁷	Уменьшение воспалительно-токсического действия цитокина на миелин
Блокада транслокации димера NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain enhancer of activated B-cells) из цитоплазмы в ядро клетки (гомология с BDNF α 52%) ¹⁸	Ингибция продукции миелинотоксических антител В-лимфоцитами
Повышение уровня IL-10 (наши данные)	Стимуляция апоптоза сенсibilизированных к основному белку миелина Т-лимфоцитов

Обсуждаемые механизмы действия BDNF α в связи с применением лакинимода – это как бы ответ на давние предсказания основоположника учения о рассеянном склерозе Жана-Мартена Шарко: «необходимо извлечь выгоду из той самопроизвольной склонности к послаблениям, которые замечаются в большинстве случаев»

Выводы. 1) При ремитирующем РС чаще, чем у здоровых людей того же возраста встречается низкий уровень плазменного мозгового нейротрофического фактора. 2) Достоверная положительная связь уровней нейротрофика BDNF α и

индуцированного противовоспалительного цитокина IL-10 указывает на возможный иммуномодулирующий механизм действия нейротрофика, как ингибитора воспалительной демиелинизации.

¹⁷ Sooda, R. Treatment with oral laquinimod suppresses ongoing EAE and augments the expression of BDNF in the brain – P.957. – S.432.

¹⁸ Bruck, W. Reduced astrocytic NF- κ B activation by laquinimod protects from cuprizone-induced demyelination – P. 411 – 424.

BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR (BDNF) AS IMMUNOMODULATOR IN MULTIPLE SCLEROSIS (MS)

©2015 S.V.Lobzin, V.I.Golovkin, I.I.Kula^o

North-Western State Medical University named after I.I.Mechnikov. Saint-Petersburg

The immunomodulatory effect of neurotrophic factors is proved in the article on the basis of correlation analysis of the plasma content of brain-derived neurotrophic factor, pro- and anti-inflammatory cytokines in patients with multiple sclerosis. The mechanisms of the action of laquinimod – a new oral drug for modifying MS, are discussed.

Key words: multiple sclerosis, brain-derived neurotrophic factor, laquinimod.

^o Sergey Vladimirovich Lobzin, Doctor of medicine, Professor, Head of Department of Neurology named after Academician S.N.Davidenkov. E-mail: slobzin58@mail.ru
Vladimir Ivanovich Golovkin, Doctor of medicine, Professor of Department of Neurology named after Academician S.N.Davidenkov. E-mail: golovkin@hotmail.com
Irina Ivanovna Kula, Postgraduate of Department of Neurology named after Academician S.N.Davidenkov. E-mail: kula_irina@rambler.ru