

Исследование воспалительных маркёров на преклинической стадии болезни Гентингтона

Андросова Л.В.¹, Пономарёва Н.В.², Симонов А.Н.¹, Ключников С.А.², Отман И.Н.¹, Ключник Т.П.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр психического здоровья»,
115522, Москва, Каширское шоссе, д. 34

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии»,
125367, Москва, Волоколамское шоссе, д. 80

Study of inflammatory markers at the preclinical stage of Huntington's disease

Androsova L.V.¹, Ponomareva N.V.², Simonov A.N.¹, Klyushnikov S.A.², Otman I.N.¹, Klyushnik T.P.¹

¹ Mental Health Research Center,
Kashirskoye shosse 34, Moscow 115522, Russian Federation

² Research Center of Neurology,
Volokolamskoye shosse 80, Moscow 125367, Russian Federation

В последнее десятилетие наблюдается интенсивное развитие исследований в области нейроиммунологии нейродегенеративных заболеваний и появляется все больше доказательств вовлечённости иммунных процессов, в том числе воспаления, в патогенез этих заболеваний [1]. Было показано, что уровень ряда провоспалительных цитокинов, в частности IL-6 и IL-8, в крови повышен на преклинической стадии болезни Гентингтона (ПС БГ), причем уровень IL-6 повышается за несколько лет до предполагаемого клинического дебюта болезни Гентингтона [2, 3]. Выбор воспалительных маркеров в данном исследовании определялся тем, что участие цитокинов и нейтрофилов является общей характеристикой инфекционного и стерильного воспаления, а уровень аутоантител (аАТ) к антигенам S100b и основному белку миелина (ОБМ) характеризует активацию приобретенного (специфического звена) иммунитета. Циркулирующие в кровотоке цитокины инициируют процесс воспаления и стимулируют секрецию белков острой фазы. Активация нейтрофилов и повышение энзиматической активности их протеолитических ферментов, в первую очередь, лейкоцитарной эластазы (ЛЭ), является важнейшей составляющей воспалительных реакций. В качестве ингибитора ЛЭ выступает острофазный белок — альфа-1 протеазный ингибитор (α 1-ПИ), синтезируемый печенью. Показано, что соотношение протеаз и их ингибиторов в значительной мере определяет течение и исход воспалительной реакции [4].

Цель исследования. Определение ряда воспалительных (активность ЛЭ, α 1-ПИ, уровни СРБ, цитокинов) и аутоиммунных (аАТ к S-100b и ОБМ) маркеров в сыворотке крови на преклинической стадии болезни Гентингтона (ПСБГ) и проведение кластерного анализа этих иммунологических показателей для выявления от-

дельных иммунофенотипов, значимых для постановки диагноза, прогноза и оценки эффективности терапии.

Материалы и методы. Обследовано 47 человек с ПСБГ (средний возраст $34,3 \pm 12,8$ лет, 24 мужчин и 23 женщины). По стандартным формулам определяли балл отягощенности заболеванием (БОЗ). Носители мутаций в гене *HTT* и здоровые испытуемые проходили стандартное психометрическое обследование, описанное ранее (Ponomareva et al, 2014; Пономарева с соавт, 2016). Контрольную группу составил 51 человек (средний возраст $34,6 \pm 13,2$ лет, 23 м и 28 ж) без наличия психиатрических или неврологических заболеваний в анамнезе.

Иммунологические показатели определяли в сыворотке периферической крови. Энзиматическую активность лейкоцитарной эластазы (ЛЭ) и функциональную активность α 1-протеазного ингибитора (α 1-ПИ) определяли спектрофотометрическим методом (Доценко В.Л., Нешкова Е.А., Яровая Г.А., 1994; Нартикова В.Ф., Пасхина Т.С., 1979). Вычислялся также протеазно-ингибиторный индекс (ПИИ), представляющий собой соотношение активности ЛЭ к α 1-ПИ, характеризующий направленность воспалительного процесса. Уровни С-реактивного белка, IL-10, TNF α , IL-6, IL-2, IL-1 β и аАТ к S100b и ОБМ определяли с помощью ИФА (ВЕКТОР-БЕСТ, Россия). Выбранные иммунные показатели характеризуют состояние как клеточного, так и гуморального звена иммунитета. В качестве основного подхода для статистического обработки данных использовали кластерный анализ, а также метод Шапиро-Уилки, Крускала-Уэллеса и ANOVA. Использовали уровень достоверности: $p < 0,05$.

Результаты. Отмечено достоверное повышение активности ЛЭ и α 1-ПИ и снижение уровня аутоантител к S100b и ОБМ у исследуемых с ПСБГ по сравнению

с контролем. Отношение ЛЭ к $\alpha 1$ -ПИ (ПИИ), концентрация СРБ и уровни цитокинов статистически не отличались от контроля. Учитывая широкий разброс иммунологических показателей в группе исследуемых с ПСБГ, нами был проведен кластерный анализ. В качестве классифицирующих признаков использовали определяемые маркеры воспаления (энзиматическую активность ЛЭ, функциональную активность $\alpha 1$ -ПИ, уровень аАТ к S100b и ОБМ). Выборка исследуемых с ПСБГ по совокупности иммунологических показателей отчетливо разделилась на два кластера. Кластеры отличались по активности ЛЭ ($p < 0,000000$), ПИИ ($p < 0,000018$) и по уровню аутоантител к ОБМ ($p < 0,05$). В 1-й кластер вошли 26 человек (55,3%), у которых повышена активность ЛЭ и наблюдалось незначительное повышение функциональной активности $\alpha 1$ -ПИ, ПИИ равен $7,28 \pm 2,59$, что свидетельствовало о сбалансированном иммунном ответе. Во 2-й кластер вошёл 21 человек (44,7%), в сыворотке крови которых энзиматическая активность ЛЭ не превышала нормальные значения на фоне высокой функциональной активности $\alpha 1$ -ПИ и низкого значения ПИИ, равного $4,86 \pm 2,16$. Характерное для 2-го кластера понижение протеазно-ингибиторного индекса, за счет снижения активности ЛЭ и повышения функциональной активности $\alpha 1$ -ПИ, свидетельствовало о несбалансированном иммунном ответе, что может быть следствием снижения дегрануляционной активности нейтрофилов, а также проникновением нейтрофилов в мозг через ГЭБ из-за критического нарушения его функции, что является признаком неблаго-

приятного течения заболевания, а возрастание аутоиммунного компонента в этом кластере может характеризовать наиболее тяжёлое поражение нервной системы.

Заключение. Впервые проведено комплексное определение широкого спектра воспалительных и аутоиммунных маркеров в крови исследуемых на преклинической стадии БГ, выявившее значительную гетерогенность иммунных показателей. Показано, что фенотипически сходная картина заболеваний может определяться различными спектрами иммунных показателей, отражать различную тяжесть патологического процесса в мозге и вероятно различный прогноз заболевания, что может иметь большое значение для совершенствования диагностики и терапии.

Список литературы

1. Ransohoff R.M. How neuroinflammation contributes to neurodegeneration. *Science*. 2016; 353(6301): 777–783. DOI: 10.1126/science.aag2590. PMID: 27540165
2. Björkqvist M., Wild E.J., Thiele J., Silvestroni A., Andre R., Lahiri N., Raibon E., Lee R.V., Benn C.L., Soulet D., Magnusson A., Woodman B., Landles C., Pouladi M.A., Hayden M.R., Khalili-Shirazi A., Lowdell M.W., Brundin P., Bates G.P., Leavitt B.R., Möller T., Tabrizi S.J. A novel pathogenic pathway of immune activation detectable before clinical onset in Huntington's disease. *J. Exp. Med.* 2008; 205(8): 1869–1877. DOI: 10.1084/jem.20080178
3. Dobson L., Träger U., Farmer R., Hayardeny L., Loupe P., Hayden M.R., Tabrizi S.J. Laquinimod dampens hyperactive cytokine production in Huntington's disease patient myeloid cells. *J. Neurochem.* 2016; 137(5): 782–794. DOI: 10.1111/jnc.13553
4. Белова Л.А., Оглоблина О.Г., Саталкин А.А., Дюгеев А.Н., Фомин М.Д., Кашина Л.Г., Кухарчук В.В. Дисбаланс протеиназно-ингибиторной системы при акушерском сепсисе и септическим шоке. *Клиническая и лабораторная диагностика*. 2003; 7: 13–16.