

Роль нейровоспаления в механизмах гибели nigrostriальных дофаминергических нейронов при болезни Паркинсона

Кучеряну В.Г.¹, Воронина Н.А.¹, Бочаров Е.В.^{1,2}, Ветрилэ Л.А.¹, Голоборщцева В.В.¹, Бочарова О.А.², Давыдова Т.В.¹, Грудень М.А.³, Sewell R.D.⁴, Капица И.Г.⁵, Воронина Т.А.⁵

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии». 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 115478, Москва, Каширское ш., д. 23

³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина». 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

⁴ Кафедра медицинской биохимии и биофизики, Университет Умео, Умео, SE-90187, Швеция

⁵ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

The role of neuroinflammation in the death mechanisms of nigrostriatal dopaminergic neurons in Parkinson's disease

Kucheryanu V.G.¹, Voronina N.A.¹, Bocharov E.V.^{1,2}, Vetrile L.A.¹, Goloborshcheva V.V.¹, Bocharova O.A.², Davydova T.V.¹, Gruden M.A.³, Sewell R.D.⁴, Kapitsa I.G.⁵, Voronina T.A.⁵

¹ Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

² N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Kashirskoe Shosse 23, Moscow 115478, Russian Federation

³ P.K. Anokhin Institute of Normal Physiology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

⁴ Department of Medical Biochemistry and Biophysics, Umeå University, Umeå, SE-90187, Sweden

⁵ V.V. Zakusov Institute of Pharmacology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

Болезнь Паркинсона (БП) является тяжелым нейродегенеративным заболеванием, часто приводящим к инвалидности, которая характеризуется повреждением и гибелью дофаминергических нейронов в черной субстанции и резким снижением уровня дофамина (ДА) в стриатуме головного мозга. Одним из главных механизмов гибели nigrostriальных нейронов при паркинсонизме является нейровоспаление в результате активации микроглии, что приводит к усиленному выделению провоспалительных цитокинов в мозге, которые активируют фермент циклооксигеназа-2 и ядерный транскрипционный фактор NF- κ B, вызывающий апоптоз ядра [1, 2].

В нормальных условиях микроглия формирует разветвленную сеть и предохраняет паренхиматозную целостность мозга, выполняя врожденную защитную функцию. Она имеет низкую экспрессию рецепторов, характерных для макрофагов: общего лейкоцитарного антигена (LCA/complement receptor (CD-45), CD14

и mac-1 (CD11b/CD18). Однако на начальных этапах повреждения nigralных дофаминергических нейронов различными факторами микроглия меняет свою морфологию, вызывая повышение уровня главного комплекса гистосовместимости (МНС) — антигенов и становится фагоцитарной.

Через 24 ч при существовании стимуляции со стороны нейронов повышаются уровень IgG и экспрессия молекул адгезии: лимфоцитарного функционально связанного антигена 1 (LEA-1), молекул межклеточной адгезии 1 (ICAM-1) (CD54) и молекул межклеточной адгезии сосудов (VCAM-1 (CD 106). Если стимуляция продолжается, то происходит прикрепление микроглии к нейронам, в регуляции которого участвует хемокины: моноцитарный хемопритягивающий белок-1 (monocyte hemoattractant protein-1 и интерферон-индуцибельный белок -10, выделяемые самими нейронами.

При дальнейшей стимуляции со стороны поврежденного нейрона изменяется цитоскелет клеток ми-

кροглии, увеличивается объем, возрастает численность и продолжается их дальнейшая функциональная трансформация. На поверхности экспрессируются воспалительные гликопротеиды CD 40, B7.1 (CD80), B7.2 (CD86), β 2-интегрины (CD11a,b,c) и лиганд к ним (FA-1/CD11a/CD18) а также активируется комплемент.

Нейровоспаление – важная часть патогенеза БП. Микроглия играет роль в деградациии α -синуклеина и фагоцитозе поврежденных нейронов, что является нейропротекторным свойством микроглии при сбалаисированной активации. Первоначальная активность про- и противовоспалительных факторов, которые включают цитокины, хемокины и активные формы кислорода и азота, запускают процессы восстановления нейронов, позволяющие контролировать удаление клеточного дебриса и агрегированных форм α -синуклеина. Однако постоянное присутствие агрегатов белка α -синуклеина приводит к длительной активации воспалительного процесса в мозге [1, 2]. Исследования *in vitro* дали основания предположить, что отложение α -синуклеина и воспалительные изменения взаимно усиливают патогенную активность и участвуют в прогрессировании нейродегенерации при болезни Паркинсона [Gao H.M. et al., 2011]. Активация микроглии отмечалась у крыс после избыточной экспрессии α -синуклеина в дофаминеских нейронах среднего мозга [Ulusoy A. et al., 2010]. Исследования с использованием неинвазивной позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) с использованием РК-11195, лиганда периферического бензодиазепинового рецептора (PBR; также известного как митохондриальный транслокаторный белок 18 кДа или TSPO), который селективно экспрессируется активированной микроглией, дополнительно подтвердили возникновение активации микроглии у пациентов с БП [Gerhard A. et al., 2006].

Повышение уровня провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, Ин- γ и ФНО- α в мозге также было выявлено у мышей линии C57BL/6J с ПС, вызванным введением МФТП в дозе 30 мг/кг, 1 раз в день в течение семи дней [Rodríguez-Cruz A. et al., 2019].

Сочетание факторов активированной микроглии и молекул адгезии к нигростриатным ДА-ергическим нейронам приводит к прогрессивной и необратимой их гибели. [1].

Целью исследований является оценка цитокинового статуса в крови у больных болезнью Паркинсона и изучение уровня провоспалительных цитокинов в нигростриатуме на ранней и поздней (выраженной) стадий экспериментального болезни Паркинсона, а также определение антител к дофамину и белку С-100 в крови больных с БП.

Материалы и методы. Показатели иммунного статуса (содержание лимфоцитов с экспрессией дифференцировочных антигенов CD3, CD4, CD8, CD16, CD20; активационных антигенов CD25, HLA-Dr, CD95; молекул адгезии CD11b, CD18) в крови больных с БП исследовали, используя иммунофлуорес-

центный метод. Относительное содержание лимфоцитов, экспрессирующих исследуемые антигены, определяли на проточном цитофлуориметре FACScan (Becton Dickinson США) в гейте лимфоцитов. Цитокины ИЛ-6, ФНО- α и ИФН- γ определяли методом твердофазного иммуоферментного анализа с использованием наборов фирмы ООО «Цитокин» (Россия). Раннюю и позднюю клиническую фазу БП создавали у мышей линии C57BL/6J внутрибрюшинным введением пронеиротоксина 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП) в дозе 4 раза по 12 мг/кг и 4 раза по 20 мг/кг с интервалом 2 часа, соответственно. Уровень цитокинов в нигростриатуме определяли методом иммуоферментного анализа на приборе «ПР, США» с использованием наборов КИТов фирмы «Cloud-Clone» (США).

Результаты. Наши исследования по изучению параметров иммунного, антиоксидантного статусов и уровня цитокинов в крови у 37 пациентов с болезнью Паркинсона показали снижение клеточного и гуморального иммунитета, повышение уровня макрофагов (CD11b+), натуральных киллеров (CD16+), клеток с рецепторами к интерлейкину IL-2(CD25) и с рецепторами, опосредующими апоптоз (CD95), а также рост содержания провоспалительных цитокинов IL-6 и ФНО- α . Полученные результаты характеризуют провоспалительную активацию иммунной системы, которую, по-видимому, также можно связывать с выявленными при БП процессами активации микроглии головного мозга. Наряду с этим, в крови больных с БП обнаружено повышение уровня продуктов ПОЛ – малонового диальдегида и снижение активности ферментов антиоксидантной системы а также выявлены антитела к α -синуклеину с титрами (1:320 \pm 1:16), к белку S100b (1:120 \pm 1:8) и к дофамину (1:580 \pm 1:40) [3, 4].

Введение α -синуклеина в *substantia nigra* головного мозга крыс (4 мкг на крысу) не приводило к изменению горизонтальной двигательной активности и вертикальной двигательной активности животных. Интраназальное введение α -синуклеина мышам (5 мкг на мышь, 5 раз, ежедневно) также не изменяло параметров поведенческой активности животных. Однако сочетанное интраназальное введение α -синуклеина и олигомеров (5 и 5 мкг, 5 раз, ежедневно на мышь) снижало горизонтальную двигательную активность на 33 % и вертикальную двигательную активность на 36 %. Кроме того, отмечалось повышение времени, в течение которого животное оставалось без движения с 68,6 \pm 3,4 сек до 99,4 \pm 4,1 сек и снижение скорости движения животного с 14 см/сек до 13 см/сек. Эти результаты свидетельствуют, что олигомерная форма α -синуклеина вызывает паркинсоноподобные явления [5].

На ранней клинической фазе БП, вызванной введением МФТП (4 раза по 12 мг/кг) в нигрокаудатном комплексе мышей было обнаружено увеличение уровня провоспалительных цитокинов: IL-1 β , IL-6, Ин- γ и ФНО- α по сравнению с контролем. Предваритель-

ное введение гимантана приводило к снижению содержания цитокинов IL-1 β с $2,56 \pm 0,2$ пг/мг ткани до $2,1 \pm 0,09$ пг/мг ткани ($p=0,38$), Ин- γ с $5,96 \pm 0,5$ пг/мг/ткани до $4,6$ пг/мг ткани ($p=0,02$) и ФНО- α с $5,96 \pm 0,5$ пг/мг ткани до $4,6 \pm 0,28$ пг/мг ткани ($p=0,024$) в нигрокаудатном комплексе мышей после введения МФТП в дозе 4×12 мг/кг. На поздней клинической фазе БП, вызванной введением МФТП в дозе 4×20 мг/кг наблюдали увеличение уровня всех изученных цитокинов. Предварительное введение гимантана уменьшало только уровень цитокина IL-6 с $1,22 \pm 0,8$ пг/мг/ткани до $0,8 \pm 0,1$ пг/мг ткани ($p=0,02$) в нигрокаудатном комплексе мышей с поздней стадией БП.

Таким образом, гимантан, при предварительном применении, был способен более эффективно предотвращать образование провоспалительных цитокинов на ранней клинической стадии болезни Паркинсона, чем на поздней. На поздней клинической фазе БП, вызванной введением нейротоксина (4×20 мг/кг), на которой отмечается обильное разрушение нигростриатных дофаминергических нейронов, предварительное применение гимантана предотвращало резкое повышение уровня только одного цитокина – IL-6. Этот цитокин часто коррелирует с прогрессированием БП [Pereira J.R., 2016].

Заключение. На основании полученных результатов можно предположить, что нейровоспаление, вызванное

активацией микроглии, наряду с олигомерной формой α -синуклеина, играют важную роль в гибели нигростриатных ДА-ергических нейронов и, возможно, в прогрессировании БП. Обнаруженный нами антипаркинсонический эффект гимантана на ранней клинической стадии экспериментальной модели болезни Паркинсона, осуществляется, в том числе, за счет снижения уровня провоспалительных цитокинов в нигростриатной системе, предупреждая снижение жизнеспособности дофаминергических нейронов.

Список литературы

1. Кучеряну В.Г., Бочаров Е.В., Крыжановский Г.Н., Бочарова О.А., Полещук В.В. Механизмы нейродегенерации при болезни Паркинсона. Активация микроглии. *Патогенез*. 2012; 10(3): 30–34.
2. Pajares M., Rojo A.I., Manda G., Boscá L., Cuadrado A. Inflammation in Parkinson's Disease: Mechanisms and Therapeutic Implications. *Cells*. 2020; 9(7): 1687. DOI: 10.3390/cells9071687
3. Бочаров Е.В., Крыжановский Г.Н., Полещук В.В., Кучеряну В.Г., Горожанская Э.Г., Сандалов Ю.Г., Ильенко В.А., Бочарова О.А. Нарушение иммунной и антиоксидантной защиты при болезни Паркинсона. *Патогенез*. 2012; (2): 11–14.
4. Gruden M.A., Yanamandra K., Kucheryanu V.G., Bocharova O.A., Sherstnev V.V., Morozova-Roche L.A., Sewell R.D. Correlation between protective immunity to α -synuclein aggregates, oxidative stress and inflammation. *NeuroImmunoModulation*. 2012; 19(6): 334–342. DOI: 10.1159/000341400
5. Gruden M.A., Davidova T.V., Yanamandra K., Kucheryanu V.G., Morozova-Roche L.A., Sherstnev V.V., Sewell R.D. Nasal inoculation with α -synuclein aggregates evokes rigidity, locomotor deficits and immunity to such misfolded species as well as dopamine. *Behavioral Brain Res*. 2013; 243: 205–212. DOI: 10.1016/j.bbr.2013.01.011