

Нарушение иммунной и антиоксидантной защиты при болезни Паркинсона

БОЧАРОВ Е.В.¹, КРЫЖАНОВСКИЙ Г.Н.¹, ПОЛЕЩУК В.В.², КУЧЕРЯНУ В.Г.¹,
ГОРОЖАНСКАЯ Э.Г.³, САНДАЛОВ Ю.Г.¹, ИЛЬЕНКО В.А.³, БОЧАРОВА О.А.³

¹ — ФГБУ НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН

² — ФГБУ Научный центр неврологии РАМН

³ — ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН

Болезнь Паркинсона (БП) характеризуется повреждением и гибелью нигростриатных дофаминергических нейронов. Среди причин, приводящих к смерти нейронов, важную роль отводят активации НМДА-глутаматных рецепторов, образованию свободных радикалов и оксидативному стрессу, нарушению дыхательной функции митохондрий и энергетическому дефициту. Нарушение взаиморегуляции нервной, эндокринной и иммунной систем создаёт риск и обеспечивает развитие заболевания. У пациентов с БП проведено динамическое определение клинических показателей (по шкале UPDRS), а также иммунного, гормонального и антиоксидантного статусов с интервалом в 3 мес. на фоне стандартной антипаркинсонической терапии. Комплексное клиничко-иммунобиологическое исследование выявило нарушения иммунного и антиоксидантного статусов, уровня стресс-гормона кортизола, а также клинических показателей по шкале UPDRS у пациентов с БП. Полученные результаты свидетельствуют о том, что нарушения иммунной, эндокринной и антиоксидантной систем могут иметь патогенетическое значение при болезни Паркинсона.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, иммунный статус, антиоксидантный статус, цитокины, кортизол

Введение

Болезнь Паркинсона (БП) представляет собой хроническое, неуклонно прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, приводящее к тяжёлой инвалидности. Ключевым звеном патогенеза БП является селективное повреждение и гибель большей части пула нигральных (pars compacta) дофаминергических нейронов, что приводит к снижению уровня дофамина (ДА) в стриатуме [3, 4, 12, 16].

Среди причин смерти нигральных дофаминергических нейронов, важную роль отводят образованию свободных радикалов и оксидативному стрессу, нарушению дыхательной функции митохондрий и энергетическому дефициту, активации НМДА-глутаматных рецепторов и др. [3, 11, 15, 18, 19].

Вместе с тем, следует учесть, что нарушение взаиморегуляции нервной, эндокринной и иммунной систем создаёт риск и обеспечивает развитие заболевания [1]. Однако в литературе встречаются лишь отдельные работы, посвящённые нарушениям некоторых иммунологических показателей у пациентов с БП [2, 7]. Комплексное исследование защитных систем организма при БП является актуальным для лучшего понимания механизмов развития заболевания и поиска более эффективной патогенетической терапии.

В связи с этим целью настоящей работы было комплексное исследование, защитных систем организма (иммунной, антиоксидантной, уровня стресс-гормона кортизола) в совокупности с клиническими показателями пациентов 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) исследовали, используя иммунофлюоресцентный метод. Относительное содержание лимфоцитов, экспрессирующих исследуемые антигены, определяли на проточном цитофлуориметре FACScan (Becton Dickinson США) в гейте лимфоцитов. Цитокины ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-12, ФНО- α и ИФН- γ определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов фирмы ООО «Цитокин» (Россия). Гормон кортизол в сыворотке крови пациентов с БП определяли иммуноферментным методом с использованием диагностических наборов фирм «Roche» и «Orion Diagnostics». Содержание малонового диальдегида (МДА), глутатиона в крови пациентов с БП, активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и глутатион-S-трансферазы (GST) определяли по общепринятым методикам [8]. В исследовании приняли участие 32 пациента с БП. Возраст пациентов — 43—78 лет. Средний возраст составил 61 ± 2 года. Из них было 10 мужчин в возрасте от 43 до 75 лет, их средний возраст составил 63 ± 3 года, а также 22 женщины в возрасте от 51 до 78 лет, их средний возраст составил 60 ± 3 года.

Продолжительность БП у пациентов составила в среднем $5,2 \pm 0,7$ года (минимальная длительность — 1 год, максимальная — 21 год). Дрожательно-ригидная форма заболевания диагностирована у 16 чел., ригидно-дрожательная — у 15 пациентов, 1 чел. был болен

акинетики-ригидной формой. Все пациенты принимали фармакологические средства стандартной комплексной терапии, в состав которой входили L-ДОФА-содержащие препараты («Наком», «Синемет CR», «Мадопар»), а также препараты дополнительной терапии (ПК-Мерц, Миралекс, Проноран, Ременил, Амитриптилин, Феназепам, витамин Е и др.) Средняя доза L-ДОФА-содержащих препаратов по группе за период лечения ($5,2 \pm 0,7$ года) составила $411,5 \pm 134,6$ г/чел. (минимальная доза — 1,0 г/чел., максимальная — 3841 г/чел.). Для объективной оценки степени выраженности неврологических нарушений использовали унифицированную рейтинговую шкалу БП (Unified Parkinson's Disease Rating Scale, UPDRS). Определяли суммарный балл шкалы по разделу II (нарушения дневной активности) и III (двигательные нарушения) пациентов с БП.

У пациентов с БП было проведено динамическое определение показателей иммунного, в том числе цитокинового, гормонального и антиоксидантного статусов с интервалом в 3 мес. на фоне стандартной антипаркинсонической терапии. Для статистической обработки данных использовали дисперсионный анализ ONE-WAY ANOVA, Newman-Keuls тест, а также непараметрический критерий Kruskal-Wallis ANOVA с последующим анализом по тесту Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение

Клинические показатели пациентов с БП в соответствии с некоторыми разделами соответствующей унифицированной шкалы (UPDRS) представлены в табл. 1. Из таблицы следует, что повторные обследования пациентов с интервалом в 3 мес. не выявили достоверных изменений суммарного балла раздела II (нарушение повседневной активности), суммарного балла раздела III (двигательные нарушения), а также отдельных клинических симптомов — тремора (п.20), ригидности (п.22) и брадикинезии (п.31), оцененных по шкале UPDRS (табл. 1).

Содержание МДА в крови больных БП при первичном обследовании в 1,6 раза превышало норму и сохранялось на этом уровне, несмотря на проведение стандартной антипаркинсонической терапии (табл. 2). Это может свидетельствовать о преобладании при БП прооксидантных процессов над антиоксидантными. Вместе с тем, отмечена сниженная активность фермента супероксиддисмутазы. Выявленные у больных изменения показателей антиоксидантного статуса в периферической крови согласуются с данными литературы о недостаточности функционирования антиоксидантных и детоксицирующих систем нейронов при БП [10].

Иммунологические показатели изучаемых пациентов представлены в табл. 3. В качестве контроля приведены результаты обследования пациентов соответствующей возрастной категории с отсутствием неврологических форм патологий.

При исследовании иммунного статуса (табл. 3) у пациентов с БП отмечен заниженный уровень общего числа Т-лимфоцитов (CD3+), хелперов-индукторов (CD4+), хелперно-супрессорного соотношения (CD4+/CD8+), В-лимфоцитов (CD20+), клеток с экспрессией HLA-DR антигена (главного комплекса гистосовместимости II), что демонстрирует иммунодепрессию. В то же время завышены относительно соответствующего контроля остальные показатели, особенно уровень макрофагов (CD11b+ и CD18+), натуральных киллеров (CD16+), а также уровень клеток с экспрессией рецептора к ИЛ-2 (CD25+) и антигена, опосредующего апоптоз (CD95+). Также следует отметить, что рецепторы CD11b и CD18 являются адгезивными лигандами эффекторов иммунитета, которые способствуют прикреплению последних к клеткам патологического очага. Все это характеризует провоспалительную активацию иммунной системы, которую можно связывать с выявленными при БП процессами воспаления микроглии в черной субстанции головного мозга [6, 14, 20, 22].

Таблица 1

Оценка состояния больных по показателям шкалы UPDRS

Разделы шкалы UPDRS	В начале обследования	Через 3 мес. стандартной терапии
Суммарный балл раздела II (нарушение повседневной активности); М±m; p	18,7±1,6	19,2±1,4; p ₂₋₃ =0,826
Суммарный балл раздела III (двигательные нарушения); М±m; p	23,3±1,9	23,8±1,9; p ₂₋₃ =0,631
Тремор п.20	2,26±0,13	2,2±0,13
Ригидность п.22	2,2±0,14	2,2±1,14
Брадикинезия п.31	2,04±0,18	2,0±0,16

Таблица 2

Уровень МДА в крови больных БП и показатели антиоксидантного статуса

Показатели	Норма	Результаты обследования (М±m)	
		В начале обследования	Через 3 мес. стандартной терапии
Малоновый диальдегид, мкмоль/л	4,3±0,1 (3–6)	6,8±0,3	6,3±0,4; p ₃₋₄ =0,72
Супероксиддисмутазы, Е/мл · мин	420,2±18,5 (380–450)	375,1±20,4	411,3±5,2; p ₃₋₄ =0,09
Каталаза, Е/мл · мин	32,8±0,9 (20–40)	31,3±1,5	31,1±1,5; p ₃₋₄ =0,92
Глутатион, мкмоль/л	1,69±0,12 (0,9–1,8)	1,39±0,1	1,32±0,1; p ₃₋₄ =0,49
Глутатион-S-трансфераза, мкмоль/л	1,37±0,06 (0,9–1,7)	1,24±0,1	1,14±0,1; p ₃₋₄ =0,30

В табл. 4 показаны результаты определения у пациентов содержания некоторых цитокинов. Из табл. 4 следует, что уровни провоспалительного цитокина ИЛ-6 (что коррелирует с подъёмом уровня макрофагов, экспрессией лейкоцитарных интегринов и рецепторов ИЛ-2), а также цитокина ИЛ-10 (что определено параллельно с подавлением клеточного Т-, В-иммунитета и содержанием ИФН- γ) завышены относительно нормы. Показатель ИЛ-12 (стимулирующего рост, дифференцировку, функцию Т-, В-лимфоцитов, а также синтез ИФН- γ) находится в нижней трети нормального значения. Содержание ИФН- γ имеет ещё более низкое относительное значение. Уровень ФНО- α , который также является провоспалительным цитокином, стимулирующим экспрессию адгезивных молекул (лейкоцитарных интегринов) и активность моноцитов и макрофагов, в нашем случае имеет нормальное значение.

Уровень кортизола у пациентов с БП представлен в табл. 5. Из табл. 5 следует, что показатель кортизола находился выше физиологической нормы и возрастного контроля. Повышенный уровень кортизола у пациентов

с БП отражает нарушение гомеостаза при стрессорных состояниях организма и процессах старения. Также он обусловлен и вторичными нарушениями в связи с токсичностью леводопасодержащих препаратов, что согласуется с выраженной иммунодепрессией в отношении Т- и В-лимфоцитов, подавленным уровнем ИЛ-12 и ИФН- γ , высоким — ИЛ-10, а также с пониженной двигательной активностью пациентов, в том числе коротким шагом и, как следствие, «шаркающей» походкой. Следует отметить, что, по данным литературы, уровень кортизола находится в обратной зависимости от длины шага пациентов с БП (чем выше содержание кортизола, тем короче шаг, и наоборот) [9]. Таким образом, завышенный уровень плазменного кортизола обуславливает отрицательное влияние глюкокортикоидов на общее состояние больного, в том числе и на его иммунную систему [9, 13, 17].

Анализируя результаты определения иммунологических показателей у пациентов с БП, следует подчеркнуть диспропорцию в соотношении различных популяций лимфоцитов. Существенное уменьшение содержания Т- и В-лимфоцитов, коррелирующее с высоким показате-

Таблица 3

Показатели иммунного статуса пациентов с БП

Антигены	Норма (%)	Контроль*	Результаты обследования больных (M \pm m)	
			В начале исследования	Через 3 мес. стандартной терапии
CD3	60–75	61,1 \pm 0,9	51,5 \pm 1,6	48,3 \pm 2,9
CD4	35–46	34,3 \pm 0,7	28,0 \pm 0,9	26,5 \pm 1,8
CD8	25–30	30,0 \pm 1,5	28,7 \pm 1,3	25,2 \pm 1,3
CD4/CD8	1,5–1,9	1,2 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1
CD20	5–15	5,7 \pm 0,8	4,3 \pm 0,5	4,8 \pm 0,5
HLA-DR	7–15	7,2 \pm 0,5	8,9 \pm 1,1	8,4 \pm 1,6
CD16	10–20	11,4 \pm 0,5	15,9 \pm 1,5	16,7 \pm 2,3
CD11b	15–20	11,9 \pm 0,8	22,0 \pm 3,0	23,0 \pm 1,6
CD18	56–64	56,8 \pm 1,1	84,1 \pm 3,7	81,9 \pm 3,2
CD95	10–30	11,8 \pm 0,4	35,4 \pm 2,3	35,0 \pm 2,5
CD25	0–5	3,1 \pm 0,4	6,1 \pm 1,1	5,4 \pm 0,7

Примечание. p — достоверность различий результатов 1-го и 2-го обследования в динамике заболевания; * — в качестве контроля представлены результаты обследования пациентов соответствующей возрастной категории (без БП)

Таблица 4

Определение уровня гормона кортизола у пациентов с болезнью Паркинсона в динамике заболевания

Гормон	Результаты обследования		p
	№1 (M \pm m)	№2 (через 3 мес.) (M \pm m)	
Кортизол, нмоль/л	893,5 \pm 86,3	878,3 \pm 93,4	0,79
Контроль*, нмоль/л	735,0 \pm 46,0		
Норма, нмоль/л	130,0–750,0		

Таблица 5

Определение уровней цитокинов у пациентов с БП

Цитокины	Норма (пг/мл)	Результаты обследования пациентов с БП (M \pm m)
ИЛ-6	0–5	39,2 \pm 3,0
ИЛ-10	0–9	29,6 \pm 4,6
ИЛ-12	<60	18,20 \pm 8,32
ФНО- α	0–8	3,84 \pm 1,77
ИФН- γ	0–4	0,10 \pm 0,04

лем ИЛ-10, а также сниженными — ИЛ-12 и ИФН- γ , выявлено параллельно со значительным увеличением уровня макрофагов, натуральных киллеров, а также лимфоцитов с экспрессией рецепторов к ИЛ-2 и антигена, опосредующего апоптоз, что сопоставимо с увеличением значения провоспалительного цитокина ИЛ-6.

Полученные изменения иммунологического статуса больных паркинсонизмом могут быть связаны с нарушением дофаминергической регуляции функций иммунной системы. Об этом свидетельствует возможность воспроизведения иммунологических нарушений при моделировании недостаточности синтеза дофамина нигростриатными нейронами или блокады дофаминовых рецепторов в эксперименте, а также при локальной деструкции черной субстанции. У подопытных животных снижается митогенная активность Т-лимфоцитов и угнетается способность к иммунному ответу [1, 2].

Выявленный при БП повышенный уровень ИЛ-6, макрофагов, НК-клеток и лимфоцитов с экспрессией молекул лейкоцитарных интегринов способствуют процессам апоптоза, вызывающим гибель Т- и В-лимфоцитов, и объясняют их дефицит при заболевании [5].

Нарушения иммунологических показателей коррелируют также с выявленными при БП процессами активации микроглии в черной субстанции головного мозга. Активированная микроглия способна выделять в том числе цитокины ИЛ-2 и ИЛ-6 (что соответствует нашим результатам), которые вызывают повышенное образование свободных радикалов, в том числе оксида азота, стимулируют выброс простагландина E_2 , активируют процесс апоптоза, что, в конечном итоге, приводит к гибели нигральных дофаминергических нейронов [21, 22].

Заключение

Таким образом, у пациентов с БП выявлены более глубокие, в сравнении с соответствующим возрастным контролем, нарушения иммунной и эндокринной систем.

Как известно, иммунологические механизмы участвуют в развитии практически любых патологических состояний, являясь при этом либо причиной, либо следствием, а также приводят к хронизации основного заболевания и его осложнениям. Анализ иммунобиологических систем организма важен для понимания иммунопатогенеза многих заболеваний и поиска средств иммунореабилитации.

Полученные результаты могут иметь значения для понимания механизмов заболевания и разработки более эффективной комплексной патогенетической терапии болезни Паркинсона.

Список литературы

1. Евсеев В.А. Нейроиммунопатологическая общность заболеваний центральной нервной системы // Патогенез. — 2006. — Т. 1, №1. — С. 16—20.
2. Илюхина В.А. Мозг человека в механизмах информационно-управляющих взаимодействий организма и среды обитания. — СПб.: Институт мозга человека РАН, 2004. — 328 с.

3. Крыжановский Г.Н., Карабань И.Н., Магаева С.В., Кучеряну В.Г., Карабань Н.В. Болезнь Паркинсона (этиология, патогенез, клиника, лечение, профилактика). — М.: Медицина, 2002. — 336 с.
4. Кучеряну В.Г., Крыжановский Г.Н., Бочаров Е.В., Полещук В.В. // Дизрегуляция нейротрансмиттерных систем и принципы комплексной патогенетической терапии паркинсонизма // Болезнь Паркинсона и расстройства движений: Руководство для врачей / Под ред. С.Н. Илариошкина и Н.Н. Яхно. — М., 2008. — С. 29—32.
5. Сепиашвили Р.И., Шубич М.Г., Колесникова Н.В., Славянская Т.А., Ломтагидзе Л.В. Апоптоз в иммунологических процессах // Аллергология и иммунология. — 2000. — Т. 1, №1. — С. 15—23.
6. Arai H., Furuya T., Mizuno Y., Mochizuki H. Inflammation and infection in Parkinson's disease // *Histol. Histopathol.* — 2006. — Vol. 21, №6. — P. 673—678.
7. Baba Y., Kuroiwa A., Uitti R.J., Wszolek Z.K., Yamada T. Alterations of T-lymphocyte populations in Parkinson disease. *Parkinsonism // Relat. Disord.* — 2005. — Vol. 11. — P. 493—498.
8. Beauchamp C., Fridovich J. Superoxide Dismutase: Improved Assays and Assay Applicable to Acrylamide // *Anal. Bioch.* — 1971. — Vol. 44, №1. — P. 276—287.
9. Blazejova K., Nevsimalova S., Illnerova H., Hajek I., Sonka K. Sleep disorders and the 24-hour profile of melatonin and cortisol // *Sb. Lek.* — 2000. — Vol. 101, №4. — P. 347—351.
10. Casetta I., Govoni V., Granieri E. Oxidative stress, antioxidants and neurodegenerative diseases // *Curr. Pharm. Des.* — 2005. — Vol. 11, №16. — P. 2033—2052.
11. Cookson M.R., Oliver B. Parkinson's disease: insights from pathways // *Human Molecular Genetics.* — 2010. — P. R1—R7.
12. Douglas B. Kell. Towards a unifying, systems biology understanding of large-scale cellular death and destruction caused by poorly liganded iron: Parkinson's, Huntington's, Alzheimer's, prions, bactericides, chemical toxicology and others as examples // *Arch. Toxicol.* — 2010. — Vol. 84. — P. 825—889.
13. Hakansson A., Westberg L., Nilsson S., Buervenich S., Carmine A., Holmberg B., Sydow O., Olson L., Johnels B., Eriksson E., Nisbrandt H. Interaction of polymorphisms in the genes encoding interleukin-6 and estrogen receptor beta on the susceptibility to Parkinson's disease // *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* — 2005. — Vol. 133, №1. — P. 88—92.
14. Kadiu I., Glanzer J.G., Kipnis J., Gendelman H.E., Thomas M.P. Mononuclear phagocytes in the pathogenesis of neurodegenerative diseases // *Neurotox. Res.* — 2005. — Vol. 8. — P. 325—350.
15. Keane P.C., Kurzawa M., Blain P., Morris C.M. Mitochondrial Dysfunction in Parkinson's Disease // *Parkinson's Disease.* — 2011. — Vol. 2011 — P. 18.
16. Leng A. Effects of blocking the dopamine biosynthesis and of neurotoxic dopamine depletion with 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) on voluntary wheel running in mice // *Behavioural Brain Research.* — 2004. — Vol. 154. — P. 375—383.
17. Lloberas J., Celada A. Effect of aging on macrophage function // *Exp. Gerontol.* — 2002. — Vol. 37. — P. 1325—1331.
18. Olanow C.W. The pathogenesis of cell death in Parkinson's disease-2007 // *Mov. Disord.* — 2007. — Vol. 22. — Suppl. 17. — S. 335—342.
19. Schapira A.H. Etiology of Parkinson's disease // *Neurology.* — 2006. — Vol. 66, №10. — Suppl. 4. — S10—23.
20. Tansey M.G., Goldberg M.S. Neuroinflammation in Parkinson's disease: its role in neuronal death and implications for therapeutic intervention // *Neurobiol. Dis.* — 2010. — Vol. 510, №3. — P. 510—518.
21. Whitton P.S. Inflammation as a causative factor in the aetiology of Parkinson's disease // *Br. J. Pharmacol.* — 2007. — Vol. 150. — P. 963—976.
22. Whitton P.S. Neuroinflammation and the prospects for anti-inflammatory treatment of Parkinson's disease // *Curr. Opin. Invest. Drugs.* — 2010. — Vol. 11, №7. — P. 788—794.

Immune and antioxidant disorders in Parkinson`s disease

**BOCHAROV E.V.¹, KRYZHANOVSKY G.N.¹, POLESCHUK V.V.², KUCHERYANU V.G.¹,
GOROJANSKAYA E.G.³, SANDALOV Yu.G.¹, ILIENKO V.A.³, BOCHAROVA O.A.³**

¹ – Institute of General Pathology and Pathophysiology RAMS

² – Center of Neurology RAMS

³ – N.N.Blokhin Cancer Research Center RAMS, Moscow, Russia

Parkinson disease (PD) is characterized by progressive loss and damage of nigral dopaminergic neurons resulting in the reduction of dopamine level in the striatum. The most important factors leading to dopaminergic neurons loss are oxidative stress, mitochondrial dysfunction, activation of NMDA-receptors etc. Abnormalities of neural, immune and endocrine systems regulation establish risk and provide the disease progress. Materials and methods. Clinical parameters (according to UPDRS), immune, hormonal and antioxidant status was dynamically determined in PD patients with interval of 3 month during standard antiparkinson therapy. Results. The results show the disfunctions of parameters studied. Conclusion. Data obtained may indicate that immune, hormonal and antioxidant disorders are associated with the pathogenesis of this slowly progressive, multifactorial neurodegenerative disease.