

Новое в эпилептологии



Рубрику ведет

Бабкина Юлия Андреевна – к.мед.н., врач функциональной диагностики, Луцкий медицинский центр, г. Любань (Польша); научный сотрудник медицинского центра «НЕЙРОН», г. Харьков. Материал публикуется при поддержке Украинской противоэпилептической лиги.

Адрес для корреспонденции:
paraboloid@i.ua

Уважаемые коллеги, предлагаем вашему вниманию продолжение обзора статьи «Neuroinflammation in post-traumatic epilepsy: pathophysiology and tractable therapeutic targets» авторов R. Sharma, W.L. Leung, A. Zamani et al., опубликованной в журнале *Brain Science* (2019 Nov 9; 9 (11): E318). Начало этого обзора изложено в предыдущем номере журнала *НейроNews* (2020; 1(112): 8–10).

В частности, представленный материал посвящен посттравматической эпилепсии как одному из наиболее распространенных отдаленных последствий черепно-мозговой травмы (ЧМТ). Микроглия — это высокоспециализированные специфичные для мозга макрофаги, которые составляют от 10 до 20 % глиальной популяции

с функцией иммунного надзора (Fu et al., 2014). Авторы подчеркивают, что первичной функцией микроглии является иммунная защита с активным поиском инфекционных агентов, поврежденных нейронов и бляшек в ЦНС (Nimmerjahn et al., 2005).

После ЧМТ различные микроглиальные рецепторы ощущают присутствие структур DAMP и PAMP во внеклеточном пространстве, вызывая выброс цитокинов и хемокинов, которые затем рекрутируют лейкоциты в зону повреждения ткани (Kigerl et al., 2014). Такие сигналы, как поврежденные клеточные мембраны, изменения уровней ионов и нейротрансмиттеров, а также наличие сывороточных белков в мозге, дополнительно активируют клетки микроглии и способствуют их трансформации в фагоцитарный фенотип (Raivich et al., 1999). В ходе этого процесса цитоскелетные перестройки усиливают экспрессию молекул главного комплекса гистосовместимости на поверхности клетки, что помогает клеткам микроглии мигрировать в область воспаления (DiSabato et al., 2016; Russo and McGavern, 2015).

Активация клеток также связана с высвобождением активных форм кислорода, что способствует удалению поврежденных нейронов, и в данном случае микроглия играет нейропротективную роль в ответ на травму (Braughler and Hall, 1989; Corps et al., 2015). Однако, по мнению авторов, ряд важных доказательств демонстрируют также отрицательные последствия активации микроглии, особенно при хронической ее форме или воспалении. Продукция цитотоксических молекул, таких как активные формы кислорода и хинолиновая кислота, способствует окислительному стрессу в поврежденном мозге с последующей прогрессирующей нейродегенерацией (Pierozan et al., 2016).

Наличие сверхактивной или постоянно активируемой микроглии ассоциируется с патологическими изменениями и когнитивным дефицитом. Последние, в свою очередь, связаны

с чрезмерной выработкой провоспалительных медиаторов, которые запускают дальнейшую активацию воспалительных клеток и вторичное повреждение головного мозга (Town et al., 2005).

В контексте эпилепсии активация микроглии и астроцитов обычно наблюдается в эпилептических очагах мозга пациентов, наряду с повышенными уровнями CX3CR1, IL-6 и TNF- α ; подобные изменения обнаруживаются в экспериментальных моделях эпилепсии (Chugh et al., 2015; Eyo et al., 2017). Ученые ссылаются на результаты недавнего исследования, проведенного на мышах, у которых передача сигналов mTOR была избирательно повышена в микроглии (мыши с условно «нокаутированным» геном *Tsc1Cx3cr1*), которое позволило предположить, что эта активация достаточна для индукции спонтанных приступов вне провоспалительной продукции цитокинов (Zhao et al., 2018). Это также подтверждалось снижением количества, тяжести и продолжительности спонтанных судорог при применении миноциклина, ингибирующего активацию микроглии. Впрочем, авторы считают, что в данном эксперименте возможно влияние других нейропротекторных эффектов миноциклина, поскольку в других исследованиях препараты, ингибирующие микроглию, либо уменьшали пролиферацию микроглии без влияния на судороги (в биологической модели с каиновой кислотой), либо истощали микроглию (посредством введения колониестимулирующего фактора 1R) с ускорением возникновения судорог и повреждением гиппокампа. По мнению авторов, эти результаты могут быть специфичными для модели судорог, вызванных вирусным энцефалитом (Feng et al., 2019).

Прямое взаимодействие между микроглией и нейронами также может влиять на то, как эти клетки активируются после ЧМТ, способствуя эпилептогенезу. В настоящее время все больше данных свидетельствуют о том, что, независимо от высвобождения

цитокинов, микроглия может влиять на возбудимость нейронов через их известную роль в синаптическом прунинге, синаптической пластичности и нейрогенезе (Eyo et al., 2017).

Подобно микроглии, астроциты также экспрессируют целый ряд различных рецепторов, что позволяет им реагировать почти на все виды нейроактивных молекул в условиях стресса или травмы. Как известно, активация астроцитов (астроглиоз) включает в себя изменения морфологии и молекулярного профиля клеток, миграцию к месту повреждения и высвобождение цитокинов и активных форм кислорода (Semple and Morganti-Kossmann, 2012). Авторы ссылаются на исследование T.G. Bush et al., (1999), которое показало, что астроциты при экспериментальном истощении способствуют росту нейритов и необходимы для восстановления гематоэнцефалического барьера после повреждения коры головного мозга у мышей. Нейротрофические факторы астроцитов и метаболиты могут помочь в восстановлении ЧМТ, а сами астроциты способны поглощать избыточные нейротрансмиттеры для минимизации эксайтотоксичности (Carmen et al., 2007; Rolls et al., 2009).

Однако чрезмерная активация астроцитов может усиливать воспалительный ответ и вызывать нейродегенерацию через избыточное выделение возбуждающего глутамата, растворимых протеаз, липидных медиаторов, цитокинов, активных форм кислорода и факторов комплемента. Кроме того, образование глиального рубца при попытке астроцитов изолировать поврежденную ткань от остальной части ЦНС и минимизировать вторичное повреждение одновременно препятствует регенерации ткани и ремиелинизации аксонов (McGraw et al., 2001).

По мнению авторов, многие из этих астроцитарных реакций на ЧМТ теоретически могут способствовать возбудимости тканей и создавать более подверженную судорогам микросреду. Такие изменения астроцитов после ЧМТ, как потеря экспрессии глутаматного транспортера 1 (Glt1), повышенная активация передачи сигналов с помощью мишени рапамицина

и измененная экспрессия К-ионных каналов, а также рецепторов нейротрансмиттеров, обеспечивают условия для развития посттравматической эпилепсии после мозговой травмы (Shandra et al., 2019; Wang et al., 2017; Coulter et al., 2015).

У больных эпилепсией и на биологических моделях были выявлены изменения экспрессии, локализации и функции К⁺-каналов, экспрессируемых астроцитами (Seifert et al., 2010). К тому же с судорожной активностью после ЧМТ связано и подавление котранспортера KCNJ10 (Kir4.1), важнейшего регулятора клиренса К⁺ (Gupta and Prasad, 2013). Kir4.1 также ко-экспрессируется на астроцитарных отростках вместе с водным каналом аквапорином 4, что демонстрирует нарушение водного транспорта в эпилептической зоне мозга (Nielsen et al., 1997). В случаях избытка внеклеточного К⁺ внеклеточное пространство уменьшается, что свидетельствует о важности транспорта воды по аквапориновым каналам, экспрессируемым на глиальных клетках (Medici et al., 2011). Также может быть нарушена структура белков Gap-соединения, таких как CX30 и CX43, что приводит к нарушению связи астроцитов и последующей потере связи между этими клетками. По мнению авторов, эти изменения, в свою очередь, могут привести к повышенной возбудимости из-за избытка глутамата и К⁺ во внеклеточном пространстве (Wallra et al., 2006). Наконец, астроцит-зависимое высвобождение глутамата может вызывать судорожную активность, обусловленную гиперсинхронной активностью нейронального потенцирования (Tian et al., 2005).

Гематоэнцефалический барьер является защитным фильтром, отделяющим ткань ЦНС от периферического кровообращения. Его защитная роль проистекает из его уникальной структуры, состоящей из эндотелиальных клеток, отростков астроцитов и перicyтов. Эндотелиальные клетки, образующие гематоэнцефалический барьер, образуют плотные контакты, которые инкапсулируются астроцитами, и препятствуют проникновению переносимых кровью

макромолекул в мозг (Ballabh et al., 2004). Эта особенность, как считают ученые, также препятствует проникновению нейротрансмиттеров и связана с поддержанием ионного гомеостаза мозга (Dadas and Janigro, 2019). Из-за плотного соединения между клетками их движение ограничено трансклеточным перемещением через определенные каналы.

По мнению авторов, судорожная активность может способствовать длительному нарушению гематоэнцефалического барьера несколькими способами: увеличение уровня глутамата, связанное с судорогами, может привести к повышению активности матриксных металлопротеиназ (MMP-2 и MMP-9), что может вызвать денатурацию белков плотного соединения и увеличение проницаемости данного физиологического барьера (Feng et al., 2011).

Сразу после ЧМТ первичное механическое повреждение нарушает паренхиму микрососудов, увеличивая проницаемость гематоэнцефалического барьера и проникновение сывороточных белков и периферических иммунных клеток (Nag et al., 2011; Shlosberg et al., 2010).

Исследователи приводят данные о том, что альбумин вызывает пролиферацию фибробластов и изменяет взаимодействие нервных окончаний астроцитов с эндотелиальной выстилкой гематоэнцефалического барьера (Friedman et al., 2009). В биологических моделях эпилепсии показано, что степень его нарушения, увеличение микроиноцитоза и повреждение плотных соединений положительно коррелировали с увеличением частоты приступов (van Vliet et al., 2007).

Повышенная проницаемость гематоэнцефалического барьера после ЧМТ может разрешиться в течение нескольких недель, а дисфункция иногда сохраняется у пациентов в течение многих лет (Tomkins et al., 2008; Korn et al., 2005). Следовательно, как считают ученые, это говорит о том, что механизмы, приводящие к нарушению гематоэнцефалического барьера и развитию посттравматической эпилепсии, ассоциированной после ЧМТ, зависят

от посттравматической фазы, а понимание происходящих со временем изменений во взаимоотношениях и функциях глии и нейронов может помочь выработать новые антиэпилептические стратегии.

В дополнение к активации резидентных иммунных клеток ЦНС, микроглии и астроцитов, лейкоциты периферической крови, включая нейтрофилы, моноциты/макрофаги и Т-клетки, могут инфильтрировать ЦНС как при состояниях, связанных с ЧМТ, так и при эпилепсии.

Лейкоциты проникают в ЦНС вследствие повреждения или дисфункции гематоэнцефалического барьера, а также благодаря активному рекрутингу в ответ на передачу сигналов хемокинов (Lawson et al., 1990; Russo and McGavern, 2015; Braughler and Hall, 1989; Hall and Braughler, 1989).

Нейтрофилы уже с первых часов рекрутируются в паренхиму головного мозга после ЧМТ, и большинство исследователей сходятся на том, что инфильтрация нейтрофильными гранулоцитами в основном вредна для ЦНС (Stahel et al., 2000). Активированные нейтрофилы высвобождают ряд ферментов и протеаз, активные формы кислорода, способствуя окислительному стрессу, который разрушает микрососуды, изменяет клеточные мембраны и способствует деградации гематоэнцефалического барьера с последующей нейродегенерацией (Stowe et al., 2009; Corps et al., 2015).

В частности, авторы ссылаются на экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что даже при отсутствии травмы проникновение нейтрофилов в паренхиму головного мозга способствует значительной потере нейронов, разрушению гематоэнцефалического барьера и аномалиям глиальных клеток (Dinkel et al., 2004).

У пациентов с эпилепсией было выявлено большее количество нейтрофилов в ЦНС, чем у пациентов без указанной патологии, что согласуется с данными, полученными на биологических моделях эпилепсии (Özdemir et al., 2016; Kim et al., 2012). Было показано, что после ЧМТ число нейтрофилов увеличивается в крови, а также

в ЦНС, где они могут влиять на клетки адаптивной иммунной системы, включая CD8+ Т-клетки, регуляторные Т-клетки и CD4+ Т-хелперные клетки (De Re et al., 2013; Mantovani et al., 2011). Т-клетки также проникают в мозг при его повреждении и при эпилепсии, усугубляя проявления нейропатологии и тяжесть заболевания (Owens et al., 2019). Предположение о важной роли периферических адаптивных клеток иммунной системы было основано на экспериментальных данных об элиминации регуляторных Т-клеток при моделировании эпилепсии, приводившей к увеличению проявлений судорог (Xu et al., 2018).

Полученные из крови моноциты и макрофаги могут проникать при остром повреждении мозга через нарушенный гематоэнцефалический барьер, но также активно рекрутируются через хемотаксис при многоэтапном процессе трансмиграции и инфильтрации в мозг после ЧМТ (Map et al., 2007). Макрофаги, происходящие из моноцитов, в большом количестве присутствуют в поврежденной ткани через 3–5 дней после ЧМТ, где они оказывают скорее отрицательное влияние: в частности, они участвуют в фагоцитозе, высвобождают провоспалительные цитокины, хемокины, презентуют антигены, одновременно стимулируя отрастание аксонов и заживление ран (Giulian et al., 1989). Приводимые исследователями данные свидетельствуют о том, что периферические макрофаги усугубляют проявления нейродегенерации и вторичного повреждения головного мозга, а снижение количества моноцитов производит эффект нейропротекции после ЧМТ (Semple et al., 2010).

Как отмечают авторы, определение роли инфильтрированных макрофагов в эпилептогенезе до настоящего времени было весьма сложной задачей. Инфильтрация CCR2+ в макрофаги наблюдалась как в тканях пациентов с эпилепсией, так и в биологических моделях. В поддержку причинно-следственных связей было показано, что в экспериментах с фармакологическим манипулированием инфильтрацией макрофагов посредством ингибирования CCL2 или CCR2

подавлялись вызванные липополисахаридом судороги у мышей (Cerrri et al., 2016). Однако результаты недавних экспериментальных исследований показали, что эти клетки способствуют нейродегенерации после ЧМТ, независимо от какого-либо влияния на развитие судорог (Zattoni et al., 2011).

В совокупности современные данные свидетельствуют о том, что широкий спектр типов иммунных клеток, секретируемых цитокинов и хемокинов может влиять на воспалительную реакцию при ЧМТ и способствовать процессу эпилептогенеза. Научные данные подтверждают концепцию нейровоспалительных процессов, служащих потенциальными биомаркерами посттравматической эпилепсии. Наиболее охарактеризованным на сегодняшний день биомаркером иммунного белка в контексте ЧМТ и посттравматической эпилепсии является глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), который выделяется поврежденными и/или погибшими астроцитами (Agoston and Kamnaksh, 2019).

Так, M.L. Diamond et al. (2014) обнаружили, что показатели соотношения IL-1 β в спинномозговой жидкости и сыворотке крови у пациентов с умеренной и тяжелой ЧМТ были связаны с риском развития посттравматической эпилепсии. Полиморфизм гена IL-1 связан с сывороточными уровнями и дифференциальным риском данной патологии, что позволяет предполагать роль генетической предрасположенности в развитии этого заболевания после ЧМТ. Авторы приводят предположение о том, что устойчивое повышение содержания других медиаторов воспаления, таких как IL-6 или CCL2, в спинномозговой жидкости и сыворотке в остром периоде после ЧМТ или первого припадка может быть прогностическим для оценки перехода от первого иктального события к посттравматической эпилепсии (de Vries et al., 2016).

Другой путь, который исследуется для прогнозирования эпилепсии, — это визуализация с помощью позитронно-эмиссионной томографии транслокаторного белка наружной митохондриальной мембраны (TSPO), экспрессируемого микроглией,

в качестве неинвазивного индикатора глиального воспаления, предшествующего приобретенной эпилепсии (Dedeurwaerdere et al., 2012).

Активация иммунных сигнальных путей в нейронах и глии приводит к патологической модификации клеточной функции, синаптической передачи, пластичности, что, в конечном счете, способствует развитию гипервозбудимости нейронов (Ravizza and Vezzani, 2018). Описаны исследования целевых противовоспалительных соединений на доклинических моделях посттравматической эпилепсии, обладающие противозипелтогенными и модифицирующими заболевание свойствами.

Так, в контексте посттравматической эпилепсии было показано, что антагонист IL-1R1 анакинра снижает долговременную предрасположенность к судорогам и модулирует астроцитарную реакцию (Semple et al., 2017). Но в противоположность этому, хотя постулируется, что модуляция HMGB1 обладает антииктогенной активностью в экспериментальных моделях эпилепсии, ингибирование с помощью глицирризин в той же модели TBI не изменяло исходы приступов (Webster et al., 2019). По мнению исследователей, между медиаторами воспаления существует значительная перекрестная связь: например, HMGB1 может усиливать экспрессию IL-1 β , тогда как IL-1 β может способствовать транслокации HMGB1 из ядра в цитоплазму в процессе подготовки к его высвобождению (Vitaliti et al., 2014). В свете этих результатов авторы считают, что применение комбинации противовоспалительных препаратов может стать более перспективной противозипелтогенной стратегией (Ravizza and Vezzani, 2018). Так, в экспериментах на крысах было показано, что многосторонний подход направленного взаимодействия IL-1R1 с препаратом анакинра, HMGB1 с псевдопептидным ингибитором Vох А и NMDA-рецептора с ифенпродиллом способствует торможению развития самопроизвольного приступа и прогрессирования заболевания, а комбинированная терапия ингибитором синтеза каспазы-1/IL-1 β (VX-765) и антагонистом TLR4 (цианобактериальным

липолисахаридом) уменьшает проявления спонтанных судорог и дефицита памяти (Iori et al., 2017).

Как подчеркивают исследователи, очевидная важность сигнальной системы TGF- β и целостности гематоэнцефалического барьера также вызвала интерес как терапевтическая мишень при развитии эпилепсии после ЧМТ (Saletti et al., 2019). Например, в модели очагового разрушения неокортикального гематоэнцефалического барьера было установлено, что таргетное разрушение сигнального каскада после активации альбумина/TGF- β эффективно предотвращает эпилепсию (Weissberg et al., 2015). В другой модели лечение лозартаном, антагонистом рецептора ангиотензина II типа 1 с сигнальными эффектами TGF- β , способствовало снижению тяжести приступов и нейровоспаления и улучшению когнитивных функций, но его влияние на посттравматическую эпилепсию не изучалось (Bar-Klein et al., 2014; Tchekalarova et al., 2014; Villapol et al., 2015).

Результаты клинических исследований при различных типах эпилепсии показали многообещающую эффективность утвержденных к применению противовоспалительных препаратов, специфичных для мишеней. В рандомизированном двойном слепом исследовании фазы IIA с контролем плацебо у пациентов с фармакорезистентной фокальной эпилепсией, получавших VX-765, было продемонстрировано уменьшение проявлений судорог у отдельных пациентов, сохранявшееся в течение некоторого времени после отмены препарата (Bialer et al., 2013).

Сообщения о случаях применения препарата анакинра показали вероятную эффективность контроля припадков у некоторых пациентов (DeSena et al., 2018; Kenney-Jung et al., 2016). Использование адалимумаба, моноклонального антитела против TNF- α , сходным образом способствовало снижению проявлений судорог у некоторых пациентов с энцефалитом Расмуссена (Lagarde et al., 2016). Миноциклин снижал частоту приступов у пациентов с астроцитомой и фармакорезистентной эпилепсией (Nowak et al., 2012).

Применение противовоспалительных нестероидных лекарственных средств, стероидов, каннабиноидов или кетогенной диеты, как отмечают авторы, также дает определенный противовоспалительный эффект при посттравматической эпилепсии (Ravizza and Vezzani, 2018). Однако, по мнению ученых, в настоящее время недостаточно данных систематических контролируемых исследований, чтобы четко очертить эту взаимосвязь.

В заключение R. Sharma. et al. подытоживают: считается общепризнанным, что нейровоспаление и гипервозбудимость нейронов работают одновременно. Совсем недавно начали появляться доказательства, подтверждающие роль активации иммунитета в самом процессе эпилептогенеза, а не как реактивного ответа на судорожную активность. Так, на животных моделях приобретенной эпилепсии доказано, что ряд про- и противовоспалительных медиаторов, высвобождаемых из активированной микроглии, астроцитов и лейкоцитов крови, также обладают иктогенными или противосудорожными свойствами. Однако нет убедительных доказательств причинной роли нейровоспалительных процессов в патогенезе посттравматической эпилепсии, что требует продолжения исследований.

Поскольку нейровоспаление является распространенным ответом на ЧМТ, также остается неясным, почему у одних пациентов посттравматическая эпилепсия развивается, а у других — нет. Этот факт свидетельствует о сложном взаимоотношении последствий иммунной активации, характера травматического поражения тканей мозга, величины ответа и взаимодействий между нейровоспалительным и другими вторичными каскадами в модуляции возбудимости нейронов.

Углубленное понимание того, как воспаление способствует эпилептогенезу после ЧМТ, является ключом к разработке иммунотерапии, направленной на снижение последствий вторичного повреждения, а также предотвращение развития посттравматической эпилепсии в таких случаях.