Новое в эпилептологии

Рубрику ведет
Бабкина Юлия Андреевна –
к.мед.н., невролог, врач функциональной диагностики, научный сотрудник медицинского центра «НЕЙРОН», г. Харьков.
Материал публикуется при поддержке Украинской противоэпилептической лиги.

Адрес для корреспонденции:
paraboloid@i.ua

Уважаемые коллеги, вашему вниманию предлагается статья «Advances in the Potential Biomarkers of Epilepsy» авторов D. Kobylarek, P. Iwanowski, Z. Lewandowska et al., размещенная в журнале *Frontiers in Neurology* (2019; 10: 685).

Эпилепсия — хроническое заболевание, поражающее центральную нервную систему (ЦНС), которое характеризуется повторяющимися приступами, хроническим комплексом соматических, вегетативных и психиатрических симптомов. Оно может поражать представителей всех возрастных групп и часто обусловливает стигматизацию пациентов и их семей, возникновение социально-экономических, поведенческих, психиатрических и других медицинских проблем. По статистике, 1–2 % населения мира страдают эпилепсией (Ngugi et al., 2011; Ngugi, Bottomley et al., 2010).

Эпилептогенез отражает процесс структурных изменений, приводящих к судорожной активности в нормальном мозге (Sloviter and Bumanglag, 2013). В последние годы было предложено много гипотез, объясняющих этиопатогенез эпилепсии, в том числе нейродегенерация, нарушение гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), нарушение регуляции миндалины, изменения в глутаматергической системе, возникновение оксидантного стресса, гипоксия и эпигенетическая модификация ДНК (Pitkanen and Lukasiuk, 2009; Reddy, 2013; Bar-Klein et al., 2017; Aroniadou-Anderjaska et al., 2008; Ashrafi et al., 2007; Loscher and Brandt, 2010; Hauser et al., 1993). Большинство исследований воспалительного процесса при эпилепсии указывают на важную роль маркеров воспаления, обусловленную нарушением регуляции цитокинового баланса в ЦНС или воздействием на путь комплемента. Возможно, эти гипотезы не исключают друг друга и фактически могут одновременно представлять факторы, приводящие к возникновению либо усилению проявлений эпилепсии. Приблизительно в 40 % случаев эпилепсии установить этиологию не удается, и для оптимизации диагностирования и лечения таких пациентов необходимы дальнейшие исследования потенциальных причин (Andrzejczak, 2011).

Необходимость исследования новых биомаркеров также дополняется относительно низкой специфичностью показателей электроэнцефалографии (ЭЭГ), которая остается основным диагностическим методом при эпилепсии. Биомаркеры могут также быть полезны при индивидуальном подборе лечения пациентов с эпилепсией, в том числе и хирургическом. На сегодняшний день принято считать, что основным фактором эпилептогенеза является нейровоспаление. Доказано, что активные формы кислорода (АФК) играют решающую роль медиаторов в процессе повреждения нейронов при развитии эпилепсии, включающем выработку провоспалительных цитокинов и активацию микроглии (Jesberger and Richardson, 1991; Kunz, 2002; Patel, 2004).

Важность роли цитокинов в этих процессах обусловлена не только усилением иммунного ответа, но также тем, что они регулируют про- и противосудорожную гипервозбудимость нейронов (Vezzani et al., 2008; Youn, 2013). По результатам исследований P.B. McElroy et al. (2017), эта концепция подтверждается данными о снижении активации микроглии через редокс-чувствительный путь m-Tor после введения антиоксидантных факторов.

Данные других исследований показали, что основной активатор цитокинов — циклооксигеназа-2 (COX-2), — запускается посредством АФК через путь киназы 1, активируемой трансформирующим ростовым фактором β (TAK1), что демонстрирует непосредственное участие АФК, COX-2 и TAK1 в развитии нейровоспалительного процесса (Onodera et al. 2015; Martinez-Revelles et al. 2013). Это подтверждается результатами исследований природы височной эпилепсии (ВЭ): доказана ее связь с активацией микроглии, приводящей к продуцированию АФК и других цитотоксических факторов, а также способствующей апоптозу перицитов (Shapiro et al., 2008; Burguillos et al. 2011; Choi and Koh, 2008; Purisai et al. 2007; Ding et al., 2017).

Амфотерин, негистоновый белок с высокой электрофоретической подвижностью, недавно стал рассматриваться как потенциальный неинвазивный биомаркер эпилепсии, поскольку результаты некоторых исследований показали, что он может использоваться для идентификации пациентов с высоким риском развития эпилепсии (Paudel et al., 2018; Shi et al., 2018). Содержание амфотерина повышается в течение 3–4 ч после судорожного припадка (Walker et al., 2017).

В частности, M. Zhu et al. (2018) сообщали о повышении содержания амфотерина в течение 24 ч после эпизода приступа у детей по сравнению с контрольной группой. Доказано участие амфотерина в иммунном ответе через активацию макрофагов и эндотелиальных клеток, что приводит к высвобождению фактора некроза опухоли α (TNF-α), интерлейкинов 1 (IL-1) и 6 (IL-6) путем присоединения к рецепторам конечных продуктов гликирования (RAGE) и Toll-подобным рецепторам 4 (TLR4). Это специфическое соединение запускает активацию транскрипционного фактора NF-kB, что ведет к повышению содержания провоспалительных белков, а посредством стимуляции TLR4 и нейтрофилов — к развитию оксидантного стресса и участвует в эпилептогенезе посредством активации микроглии (Gao et al., 2011).

Гипоксия, вызванная ишемическими явлениями, может послужить причиной энергетических нарушений гомеостаза. Нарушение регуляции АТФ-зависимых ионных насосов приводит к дисбалансу концентрации ионов натрия, кальция, калия и высвобождению возбуждающих аминокислот, в том числе глутамата (Rothman and Olney, 1986; Choi, 1999). Развивающаяся неконтролируемая электрическая стимуляция вызывает повреждение головного мозга на клеточном уровне (Sahu et al., 2017; Zola-Morgan et al., 1986; Wang et al., 2007). Высвобождение индуцируемого гипоксией фактора (HIF-1, состоящего из субъединиц a и b) зависит от парциальной концентрации кислорода. При нормоксемии HIF-1a быстро разрушается, но гипоксия блокирует ее деградацию и способствует накоплению HIF-1a в клетке (Salceda and Caro, 1997). К факторам, контролирующим содержание HIF-1a, относят инсулин, инсулиноподобный фактор роста, тромбоцитарный

фактор роста, эпителиальный фактор роста и IL-1β (Wang et al., 2007). Эффектом HIF-1a является стимуляция физиологических процессов, включая ангиогенез, гликолиз и рекрутирование мембранами переносчика глюкозы 1 (GLUT1), а конечным эффектом гликолиза становится накопление пирувата и масляной кислоты в нейрональных клетках. Такое накопление побочных продуктов приводит к дисфункции нейрона и нарушению его метаболизма. Кетогенная диета, основанная на сниженном потреблении глюкозы, может блокировать путь, регулируемый HIF-1a, и альтернативно стимулировать β-окисление, превращая субстраты в ацил-КоА (Boison and Steinhäuser, 2017).

Это демонстрирует потенциальную эффективность кетогенной диеты у пациентов с судорожными припадками и улучшает результаты пациентов с синдромом дефицита GLUT-1 (Klepper et al., 2005). Исследования на биологических моделях эпилепсии и взятых при аутопсии образцах тканей головного мозга пациентов с эпилепсией подтвердили значительную корреляцию между повышением содержания HIF-1a и возникновением эпилепсии (Lee et al., 2004; Salceda and Caro, 1997; Jie et al., 2014; Long et al., 2014). Выявлена положительная корреляция между повышением содержания HIF-1 и COX-2, и это может потенциально объяснять механизм фебрильных судорог у детей, связанных с ишемией мозга.

МикроРНК представляют собой группу одноцепочечных эндогенных некодирующих молекул. По оценкам, 1–5 % генов животных и человека участвуют в кодировании микроРНК; более 500 из них уже выявлены, и это число постоянно растет (Berezikov et al., 2004). Данные исследований подтвердили участие микроРНК в клеточных процессах, включая деление клеток, контроль клеточного цикла, дифференцировку клеток, апоптоз, ангио- и онкогенез (Lee et al., 2004). МикроРНК также регулируют иммунные реакции (Baltimore et al., 2008; Grosshans and Filipowicz, 2008; Johnnidis et al., 2008; Carissimi et al., 2009).

У пациентов с эпилепсией было выявлено участие микроРНК в регуляции уровней белка в эпилептогенезе. Так, например, после эпизодов судорог повышается уровень микроРНК-23a, микроРНК-34a, микроРНК-132, микроРНК-146a, микроРНК-134 (Wang et al., 2015). Есть сведения об изменении содержания микроРНК-134 и микроРНК-4521, что может служить потенциальным биомаркером при рефрактерной эпилепсии. По данным исследований, выявлена разница в уровнях микроРНК-301a-3p у пациентов с фармакорезистентной эпилепсией и с контролем припадков, что может быть использовано как маркер для ранней диагностики фармакорезистентной эпилепсии (Wang et al., 2015). А по другим данным, низкая экспрессия микроРНК-132 связана с уменьшением количества судорог.

Повышенные уровни микроРНК-132 наблюдались в исследованиях эпилептического статуса на животных моделях. Было обнаружено, что после эпилептического статуса сохраняется повышенный уровень микроРНК-34a, а микроинъекция антагониста микроРНК-132 оказывает противовоспалительное действие, что, возможно, связано с увеличением выживаемости нейронов и снижением уровня апоптоза нервной ткани (Shaked et al., 2009). Исследования височной эпилепсии на животных моделях продемонстрировали регулирующую роль микроРНК-146 во время приступа эпилепсии (Aronica et al., 2010; Iyer et al., 2012).

Происхождение микроРНК в кровотоке, их функции и прогностическая значимость еще до конца не установлены; сообщается также о возможных искажениях оценки содержания микроРНК под влиянием различных внешних факторов (табакокурение, беременность, диета или изменения циркадного цикла (McDonald et al., 2011; Moldovan et al., 2014; Keller and Meese, 2016).

Система комплемента состоит из более чем 30 белков, строго организованное взаимодействие которых направлено на уничтожение патогенных агентов и защиту нормальных тканей от отложения иммунных комплексов (Xiong et al., 2003). Исследования, проводимые на биологических моделях, а также с участием пациентов с эпилепсией, показали, что компоненты каскада комплемента способствуют развитию эпилепсии (Kopczynska et al., 2018). Было доказано, что концентрация C3 и других компонентов классического пути в сыворотке у пациентов с эпилептическими припадками значительно выше, чем у здоровых людей (Basaran et al., 1994). На основе данных исследования концентрации в плазме панели компонентов комплемента у пациентов с эпилепсией была представлена модель с высокой степенью прогнозирования, включающая 6 аналитов комплемента (C3, C4, properdin, FH, C1Inh и Clu), специфичных для пациентов с эпилепсией. Такая модель может быть полезной для разработки прогностических маркеров и эффективных методов лечения эпилепсии (Kopczynska et al., 2018).

В классическом пути комплемента протеолитическое расщепление фрагмента C3 на C3a и C3b требует связывания C1q с клеточными поверхностями, а также участия протеаз C1s и C1s. Растворимый C3a способствует активации микроглии и развитию воспаления. Данные недавних исследований подтвердили роль C1q-C3 в улучшении синаптической связности (Hong et al., 2016; Schafer et al., 2013). C1q и C3b связаны с удалением синапсов во время развития зрительной системы и устранением нежелательных синаптических структур гиппокампа в моделях нейродегенеративных расстройств (Schafer et al., 2012; Stephan et al., 2012; Stevens et al., 2007; Vasek et al., 2016). Это указывает на роль классического пути комплемента в эпилептогенном ремоделировании синаптических контуров, связанных с эпилептическим статусом и ВЭ (Wyatt et al., 2017; Brewster et al., 2013; Dachet et al., 2015; Schartz et al., 2016).

Вызванное эпилептическим статусом увеличение передачи сигналов C1q и генерация C3a и C3b могут способствовать инициации и/или поддержанию нейровоспаления при эпилепсии (Schartz et al., 2018). Доказано, что C1q предотвращает дальнейший некроз и воспаление, снижает индуцируемое липополисахаридами высвобождение IL-6 и TNF-α и, следовательно, может иметь нейропротекторное действие и снижать провоспалительные реакции (Fraser et al., 2010; Kishore et al., 2004). Независимо от активации пути, последняя стадия каскада комплемента приводит к образованию мембраноатакующего комплекса, вызывающего осмотический лизис атакуемой клетки (Bayly-Jones et al., 2017). Подтверждено, что инфузия отдельных белков этого комплекса (C5b6, C7, C8 и C9) в гиппокамп бодрствующих, свободно движущихся крыс вызывает цитотоксичность, поведенческие расстройства и электрографически регистрируемые судороги (Xiong et al., 2003).

Воспаление, как основа эпилептогенеза, может быть охарактеризовано путем измерения содержания воспалительных цитокинов. Потенцирование воспалительными цитокинами свободных радикалов и изменения в глутаматергической нейротрансмиссии в конечном итоге приводят к развитию нейрональной эксайтотоксичности и соответствующим структурным изменениям в головном мозге (таким как нарушение ГЭБ), неизменно наблюдающимся у лиц с эпилепсией (Sohn et al., 2016; de Vries et al., 2016). Данные последних исследований показали, что эпилептические припадки могут вызывать выработку цитокинов, что, в свою очередь, способствует дальнейшему воспалению и структурным изменениям, тем самым создавая «замкнутый круг», способствующий развитию и прогрессированию эпилепсии (Lehtimäki et al., 2007). Провоспалительные цитокины ингибируют нейрогенез посредством генерации АФК и эксайтотоксических механизмов. Мозг очень восприимчив к свободнорадикальному повреждению нейронов из-за высокой внутренней скорости метаболизма и низкого уровня защитных антиоксидантов.

Изменения в глутаматергической нейротрансмиссии вызывают нейротоксичность нейронов, нарушение нейропротекции и создают условия для развития эпилепсии (Muller and Schwarz, 2007; Myint et al., 2007). Доказано, что IL-1B изменяет экспрессию глутаматного транспортера, приводя

к снижению обратного захвата глутамата, что обуславливает последующую эксайтотоксичность, опосредованную NMDA, и гибель клеток (Hu et al., 2000).

Нейровоспаление вызывает структурные изменения в паренхиме головного мозга, одним из которых является повышение проницаемости ГЭБ, что, в свою очередь, приводит к повреждению клеток и гипервозбудимости нейронов (Vezzani et al., 2008). Разрушение ГЭБ может быть вызвано прямым повреждением эндотелия или системными факторами, включая активацию циркулирующих лейкоцитов и высвобождение молекулярных медиаторов, которые увеличивают проницаемость сосудов (Rosa et al., 2005).

COX-2 играет важную роль в воспалительных процессах и гипервозбудимости головного мозга после судорог, вызывая вторичное повреждение клеток и повышая риск повторных приступов. При эпилептических припадках повышается клеточная экспрессия COX-1 и COX-2, а использование фенитоина обеспечивает фармакологическое ингибирование COX-2 (Weidner et al., 2018; Kwan et al., 2011). Хотя краткосрочное ингибирование может быть полезным, сопутствующий риск сердечно-сосудистых побочных эффектов делает маловероятным поддержание продолжительного угнетения COX-2 при лечении эпилепсии (Rojas et al., 2014).

Активация цитокиновой сети, вызванная эпилепсией, может свидетельствовать о взаимодействии нервной, иммунной и эндокринной систем. IL-1B и IL-8 являются провоспалительными цитокинами, которые увеличивают риск судорог и повреждения органов, тогда как антагонист рецепторов IL-1 и IL-10 оказывает защитное и противосудорожное действие (Youn et al., 20130.

До сих пор неизвестно, связаны ли повышенные уровни цитокинов в плазме у пациентов с эпилепсией только с церебральным воспалительным процессом или же возникают в результате постиктального восстановления периферических мышц. В норме цитокины IL-1 экспрессируются в ЦНС на очень низком уровне, их содержание в мозге часто повышается во время активного приступа, гипоксического повреждения и во время инфекции. Недавние клинические исследования показали изменение уровня IL-1B в крови, ликворе и ткани мозга (Youn et al., 2013). Выявляли также существенное повышение уровня IL-B в ликворе у пациентов с генерализованными тонико-клоническими приступами по сравнению с контрольной группой, что коррелировало с продолжительностью и частотой приступов (Shi et al., 2017). После припадка содержание антагониста рецептора IL-1 (IL-1Ra) и IL-1B уменьшалось, что приводило к усилению влияния провоспалительного IL-1B (Vezzani et al., 2002).

По данным других исследований, не было выявлено существенных различий в концентрации IL-1B в крови и ликворе после генерализованных тонико-клонических судорог (Youn et al., 2013). Но повышение уровня IL-1B было обнаружено в посмертных биоптатах пациентов с ВЭ (Viviani et al., 2003).

IL-6 является первичным провоспалительным цитокином, вовлеченным в острую фазу иммунного ответа. Приступы вызывают изменения уровня IL-6 в ликворе и периферической крови, коррелирующие с тяжестью судорог. Уровень IL-6 сильно повышается после частых генерализованных припадков по сравнению с однократным тонико-клоническим или фокальным припадком (Lehtimaki et al., 2004; Mao et al., 2013). Метаанализ уровня IL-6 в сыворотке у пациентов с височной эпилепсией выявил значимое повышение уровня IL-6 по сравнению с контрольной группой (Yu et al., 2012). Хотя у пациентов с эпилепсией уровень IL-6, по-видимому, постоянно повышается, кроме того, невозможно объяснить, является ли он причиной или следствием заболевания. Данные исследований показали, что после блокирования IL-6R моноклональным антителом к тоцилизумабу может быть достигнута стабильная ремиссия симптомов эпилепсии.

IL-8 — провоспалительный цитокин, который играет роль в стимулировании роста нейронов после повреждения и продукции факторов роста нервов; выполняет как повреждающие, так и репаративные функции в патогенезе черепно-мозговой травмы. Доказано, что уровень IL-8 значительно повышен в сыворотке пациентов с фокальными приступами (Pollard et al., 2013). Сообщается, что это ассоциировано с тяжестью приступа — оценка по частоте приступов и по Национальной госпитальной шкале тяжести приступов (NHS3) — при ВЭ, эпилепсии вне височной доли и генерализованной идиопатической эпилепсии (Wang et al., 2015). При неонатальных приступах уровень IL-8 значительно повышается в течение 24 часов и остается повышенным через 48 и 72 часа (Youn et al., 2013).

Хотя TNF-α является важным провоспалительным маркером, количество сообщений о значении TNF-α у пациентов с эпилепсией ограничено, не выявлено связи с частотой припадков и его содержанием в сыворотке (Ishikawa et al., 2015). Существуют данные о снижении количества CD8+ Т-лимфоцитов, экспрессирующих TNF-α, у пациентов с ВЭ, причем это снижение может быть объяснено миграцией провоспалительных Т-клеток CD8 в области мозга, затронутые повторяющимися припадками (Bauer et al., 2009). При резистентных припадках на фоне энцефалита Расмуссена после введения адалимумаба — анти-TNF-α-терапии — у некоторых пациентов наблюдалось снижение частоты приступов на 50 % с улучшением их функционального дефицита.

IL-1Ra, антагонист рецептора IL-1 типа 1, ограничивает опосредованные IL-1B действия путем ингибирования биологической активности IL-1B и связывания его рецептора. Индуцируется IL-1Ra в ответ на судороги, оказывая нейропротекторное и противосудорожное действие. Повышенный уровень IL-1Ra наблюдается после эпизодов судорог и коррелирует с тяжестью припадков (Vezzani et al., 2008). У новорожденных детей выявлена непрерывная инактивация IL-1Ra со значительным снижением концентрации в течение 72 часов после приступа. Предполагается, что отсутствие последовательной индукции IL-1Ra в ответ на эпилептогенную среду может быть характерным для судорог новорожденных, что делает период новорожденности более уязвимым для судорог (Youn et al., 2013). IL-10 играет важную регуляторную, противовоспалительную роль при инфекционных процессах и при аутоиммунных заболеваниях. Подразумевается, что увеличение содержания IL-10 в ликворе пациентов с эпилепсией связано с противодействующими механизмами провоспалительных стимулов. Так, у новорожденных детей уровень IL-10 был повышен в плазме на протяжении 48–72 ч после начала судорог (Youn et al., 2013). Нейроны, глиальные клетки, эндотелиальные клетки продуцируют эритропоэтин (Chin et al., 2000).

Он может усиливать фагоцитоз в полиморфно-ядерных клетках и уменьшать активацию макрофагов, модулируя воспалительный процесс. Эритропоэтин также может играть защитную роль в выживании нейронов после эпилептического припадка. Изменение содержания эритропоэтина после генерализованных тонико-клонических судорог положительно коррелирует с продолжительностью и частотой приступов (Acharya et al., 2007). Высокочувствительный С-реактивный белок является полезным биомаркером для выявления хронического воспаления; его содержание значительно повышается при ежедневных генерализованных судорогах, в отличие от редких либо контролированных припадков (Ishikawa et al., 2017). Хемокин CCL, экспрессируемый в микроглии, астроцитах и эндотелиальных клетках, играет значительную роль в направлении медиаторов воспаления к источнику воспаления и активации лейкоцитов (Rana and Musto, 2018).

CCL2 — один из воспалительных хемокинов, содержание которого в первую очередь повышается у пациентов с фармакорезистентной эпилепсией и коррелирует с частотой припадков, что доказано на биологических моделях. Экзогенное введение антител к CCL2 способствует снижению частоты судорог у животных с длительным течением эпилепсии (Cerri et al., 2018).

Продолжение обзора читайте в следующем номере.