

IL-2 КАК РЕГУЛЯТОР УРОВНЕЙ СТРЕСС-ГОРМОНОВ И НЕЙРОТРОПНОГО ФАКТОРА BDNF ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ

Фомичева Е.Е., Шанин С.Н., Филатенкова Т.А., Серебряная Н.Б.

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Экспериментальная черепно-мозговая травма (ЧМТ) вызывает устойчивую стресс-реакцию и изменяет экспрессию генов различных цитокинов и нейротрофических факторов. Целью настоящего исследования было определение изменений уровней гормонов кортикостерона, тестостерона и цитокина BDNF в сыворотке крови, а также экспрессии гена BDNF в гипоталамусе, для определения возможности коррекции развивающихся нарушений препаратом rIL-2. Использовали крысиную модель «падающего груза»: груз массой 115 г падал с высоты 80 см при моделировании легкой травмы и с высоты 120 см для нанесения травмы средней тяжести. После ЧМТ (непосредственно или через 72 часа) крысам ежедневно вводили рекомбинантный человеческий интерлейкин-2 (Ронколейкин) в дозе 30 мкг/кг, на курс 3 инъекции. Контрольным животным (также с ЧМТ) по той же схеме вводили 0,15 М NaCl. Определение концентрации кортикостерона, тестостерона и BDNF в крови проводили с помощью ELISA. Экспрессия гена BDNF в гипоталамусе определялась методом ПЦР-РВ. Эксперименты показали связь концентраций гормонов со степенью тяжести ЧМТ. При ЧМТ легкой степени пик кортикостерона в крови отмечали через 2 часа после травмы, а при ЧМТ средней тяжести пик концентрации кортикостерона был меньшим и отсроченным (через 24 часа). Концентрации кортикостерона и тестостерона реципрокно изменялись в обеих группах травмированных животных. При введении rIL-2 в обоих режимах отмечалось существенное повышение уровней кортикостерона и тестостерона. На 7 сутки после ЧМТ уровень BDNF в сыворотке крови достоверно снижался, но после введения rIL-2 в обоих режимах уровень BDNF повышался, при этом изменения были более выражены при введении rIL-2 сразу после ЧМТ. Интересно, что экспрессия гена BDNF в гипоталамусе на 7 сутки после ЧМТ повышалась только в случае введения rIL-2 через 72 часа после ЧМТ. Установленные в работе положительные ассоциации уровней BDNF и глюкокортикоидных гормонов при ЧМТ легкой степени, а также возможности координации этих параметров при введении rIL-2 при экспериментальной ЧМТ средней степени тяжести, позволяют предположить, что благоприятные эффекты rIL-2 на восстановительные процессы в ЦНС при ЧМТ частично опосредованы взаимным модулирующим воздействием BDNF и глюкокортикоидных гормонов.

Ключевые слова: экспериментальная черепно-мозговая травма, кортикостерон, тестостерон, BDNF, rIL-2

Адрес для переписки:

Серебряная Наталья Борисовна
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»
197376, Россия, Санкт-Петербург,
ул. Акад. Павлова, 9а.
Тел.: 8 (812) 234-15-83.
Факс: 8 (812) 234-94-93.
E-mail: nbvma@mail.ru

Address for correspondence:

Serebryanaya Natalya B.
Institute of Experimental Medicine
197376, Russian Federation, St. Petersburg,
Acad. Pavlov str., 9a.
Phone: 7 (812) 234-15-83.
Fax: 7 (812) 234-94-93.
E-mail: nbvma@mail.ru

Образец цитирования:

Е.Е. Фомичева, С.Н. Шанин, Т.А. Филатенкова,
Н.Б. Серебряная «IL-2 как регулятор уровней
стресс-гормонов и нейротропного фактора BDNF
при экспериментальной черепно-мозговой травме»
// Медицинская иммунология, 2020. Т. 22, № 4.
С. 647-656. doi: 10.15789/1563-0625-IAR-1973
© Фомичева Е.Е. и соавт., 2020

For citation:

E.E. Fomicheva, S.N. Shanin, T.A. Filatenkova,
N.B. Serebryanaya "IL-2 and regulation of stress hormones
and BDNF neurotropic factor levels after experimental
traumatic brain injury (TBI)", Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya, 2020, Vol. 22, no. 4,
pp. 647-656. doi: 10.15789/1563-0625-IAR-1973
DOI: 10.15789/1563-0625-IAR-1973

IL-2 AND REGULATION OF STRESS HORMONES AND BDNF NEUROTROPIC FACTOR LEVELS AFTER EXPERIMENTAL TRAUMATIC BRAIN INJURY (TBI)

Fomicheva E.E., Shanin S.N., Filatenkova T.A., Serebryanaya N.B.

Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Experimental traumatic brain injury (TBI) causes a stable stress response and changes the expression of various cytokine genes and neurotrophic factors. The goal of this study was to reveal changes in the levels of the corticosterone and testosterone hormones and the BDNF cytokine in blood serum, as well as the expression of the BDNF gene in hypothalamus in order to determine the opportunity of correcting the TBI damage with rIL-2. We used a rat model of “dropping load”: mild TBI was caused by falling of the 115 g load from the height of 80 cm, or 120 cm to produce a moderate-degree trauma. After TBI (immediately, or 72 hours later), the rats were injected daily with recombinant human interleukin-2 (Roncoleukin) at a dose of 30 µg/kg, a total of 3 injections. Control animals (also with TBI) received 0.15 M NaCl injections. Blood serum concentrations of corticosterone, testosterone, and BDNF were measured with ELISA tests. BDNF gene expression in hypothalamus was measured using RT-PCR. Results: the experiments showed a relationship between hormone concentrations and severity of head injury. In mild TBI, blood corticosterone levels reached a peak 2 hours after the injury, while in moderate TBI, the peak concentration of corticosterone was lower, being delayed in time (after 24 hours). Corticosterone and testosterone concentrations changed reciprocally in the both groups of injured animals. With injection of rIL-2 in both groups, corticosterone and testosterone levels were significantly increased. On day 7 after TBI, the BDNF level in blood serum was decreased, but it was raised in experimental group that received rIL-2. On day 7, the increase of BDNF gene expression in hypothalamus was more pronounced, when rIL-2 was administered at 72 hours after the head injury. The revealed positive association of BDNF levels and glucocorticoid hormones after mild TBI, like as possible coordination of these parameters with rIL-2 injection after experimental moderate TBI provides a reason to assume that the favorable impact of rIL-2 on the CNS recovery after TBI is, in part, mediated by the mutual modulating interaction of BDNF and glucocorticoid hormones.

Keywords: experimental traumatic brain injury, corticosterone, testosterone, BDNF, rIL-2

Введение

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является одной из актуальных проблем современного здравоохранения и оценивается как «тихая эпидемия». Пациенты с повреждениями мозга различной степени тяжести часто страдают физическими и когнитивными нарушениями в течение многих месяцев и лет, а некоторые никогда не достигают полного выздоровления [16]. Для преодоления этих проблем необходим поиск эффективных лекарственных препаратов, облегчающих последствия ЧМТ и обеспечивающих восстановление функций центральной и периферической нервной системы в посттравматический период.

Согласно литературным данным, после ЧМТ в клетках микроглии мозга увеличивается экспрессия генов про- и противовоспалительных цитокинов и нейротрофических факторов, способствующих нейропротекции и восстановле-

нию после повреждения, таких как противовоспалительные цитокины (IL-1ra, IL-10, TGFβ) и нейротрофические факторы, включая фактор роста нервов (NGF), основной фактор роста фибробластов (FGF), нейротрофический фактор мозгового происхождения (BDNF) [16, 21]. Терапевтический потенциал нейротрофических факторов позволяет рассматривать эти цитокины в качестве нейропротекторов для лечения ряда неврологических заболеваний [5, 24].

Согласно клиническим наблюдениям, одним из цитокинов, способных уменьшать последствия травматического повреждения мозга и обладающих нейропротекторной и нейрорепаративной активностью при ЧМТ, является рекомбинантный IL-2, что, по-видимому, связано с его способностью усиливать синтез и выделение BDNF [7].

Как известно, IL-2 не только синтезируется клетками иммунной системы, но и производится

клетками головного мозга: белок IL-2 синтезируется нейронами головного мозга, а высокоаффинный рецептор к этому цитокину, содержащий альфа-цепь (CD25), экспрессируется на клетках микроглии. IL-2, являясь индуктором эффекторных реакций и клеток памяти, также поддерживает Treg-клетки, таким образом, он выполняет две разные функции, участвуя в регуляции различных этапов иммунных ответов [10]. Исследование роли IL-2 в формировании и поддержании Treg-клеток показало, что этот цитокин можно использовать для сдерживания неблагоприятных иммунных ответов и как иммунопротектор [20]. Для преимущественного или избирательного нацеливания IL-2 на клетки Treg в настоящее время разрабатываются режимы использования малых доз IL-2 при трансплантациях и лечении аутоиммунных заболеваний [31].

Поскольку любая серьезная травма приводит к устойчивой стресс-реакции, при ЧМТ индивидуальные изменения в продукции стресс-гормонов и реакции на них могут привести к разным посттравматическим исходам в связи с нарушением механизмов нейро-эндокринно-иммунного взаимодействия [6]. Важнейшей стресс-регулирующей системой является гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальная система (ГГАС). Своевременная активация ГГАС при стрессе и ЧМТ обеспечивает адекватную секрецию кортикостерона и противодействует развитию избыточного вторичного воспаления. Стресс также меняет активность гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы (ГГС), поскольку половые гормоны обладают нейропротективными свойствами в процессе адаптации при стрессе [1, 15]. В ЦНС тестостерон и его метаболиты выполняют роль нейростероидов, доказано их участие в формировании обучения, памяти и социально-поведенческой мотивации [3].

В работах многих авторов показана регуляторная роль глюкокортикоидных гормонов (ГК) и BDNF в патофизиологии ЧМТ, их связь с риском летального исхода, особенно среди молодых пациентов [13, 23]. Повышенный уровень ГК в ответ на стресс или ЧМТ может вызвать снижение синаптической пластичности, обусловленной подавляющим действием кортизола на экспрессию гена BDNF [24]. Регуляции уровней ГК и BDNF взаимосвязаны через множество механизмов, что проявляется при стрессе и ЧМТ [19, 27].

Целью настоящего исследования было определение изменений, развивающихся после экспериментальной ЧМТ и затрагивающих уровни гормонов кортикостерона, тестостерона и ростового фактора BDNF в сыворотке крови, а так-

же экспрессию гена BDNF в гипоталамусе, для определения возможности коррекции развивающихся нарушений препаратом rIL-2.

Материалы и методы

Работа выполнена на крысах-самцах породы Wistar массой 280-330 г. Животных содержали в условиях вивария при комнатной температуре с 12-часовым циклом свет/темнота, свободным доступом к воде и пище, на стандартной диете в соответствии с нормами содержания лабораторных животных. Все процедуры с животными проводились в одно и то же время. В качестве модели механической травмы головного мозга использовали модель «падающего груза»: груз массой 115 г падал с высоты 80 см при моделировании легкой травмы и с высоты 120 см для нанесения травмы средней тяжести в центр теменной части головы животного [2]. Падение груза направлялось при помощи цилиндрической трубы с внутренним диаметром 20 мм, которая была жестко закреплена на штативе двумя держателями и центрирована над головой крысы. Расстояние между концом трубы и головой животного составляло 7 см. Установка для нанесения ЧМТ была собрана в отделе общей патологии и патофизиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» на основе литературных сведений об установках для модели «падающего груза» [2]. Перед нанесением травмы животные получали наркоз из расчета 3-5 мл медицинского эфира на 1 кг массы тела в смеси с атмосферным воздухом. Эксперименты проводились в соответствии с требованиями нормативных документов, действующих в РФ, и регламентирующих гуманное обращение с животными при проведении медико-биологических исследований (№ 755 от 12.08.1977 г.). После нанесения травмы животных переносили в специальную пластиковую клетку, и за ними велось наблюдение вплоть до восстановления нормальных поведенческих паттернов.

При проведении исследования животным вводили коммерческий препарат дрожжевого рекомбинантного человеческого интерлейкина-2 (Ронколейкин, ООО «БИОТЕХ», Санкт-Петербург, Россия). Видовые различия в данном случае не являются критическими, поскольку на нуклеотидном уровне в кодирующей области ген IL-2 человека и крысы имеет 72% гомологии, и белок сохраняет все основные типы активности, присущие данному цитокину [28]. После нанесения ЧМТ крысам ежедневно в течение 3-х дней внутрибрюшинно вводили rIL-2 (на курс – 3 инъекции) в дозе 30 мкг/кг массы животного, который разводили стерильным изотоническим

раствором хлорида натрия. Контрольным животным (также с ЧМТ) по той же схеме вводили 0,15 М NaCl в том же объеме и в те же дни.

Всего были сформированы следующие группы (по 5 животных): интактные крысы, крысы после ЧМТ (группа 1), крысы, которым вводили rIL-2 без ЧМТ (группа 2), крысы, которым вводили rIL-2 сразу после ЧМТ (группа 3), и животные, которым вводили rIL-2 через 72 ч после ЧМТ (группа 4).

На 7 и 14 сутки после нанесения ЧМТ и после окончания курса лечения rIL-2 животные выводились из эксперимента декапитацией: собирали кровь для тестирования содержания гормонов и уровня BDNF, выделяли мозг для постановки ПЦР в реальном времени (РВ).

Определение концентрации кортикостерона (Кс), тестостерона (Тс) и BDNF в крови животных проводилось с помощью ELISA, наборы фирмы DRG Diagnostic (Германия), согласно протоколу, предложенному фирмой-производителем. Экспрессия гена BDNF в гипоталамусе определялась методом ПЦР РВ при использовании набора реактивов фирмы Bio-Rad (США).

Статистическая обработка материалов исследования включала стандартное статистическое вычисление средних величин, их погрешностей, достоверность различий определяли с использованием t-критерия Стьюдента. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Проведенные нами ранее исследования показали, что после ЧМТ существенно и разнонаправленно изменяются концентрации кортикостерона и тестостерона в крови животных: уровень Кс повышался через 2 часа после травмы с последующим его снижением ниже уровня интактных животных вплоть до 14 дня наблюдения. Напротив, уровень Тс через 2 часа после травмы достоверно снижался, но быстро возвращался к уровню интактных крыс [9].

В настоящем исследовании мы проанализировали динамику секреции Кс и Тс после ЧМТ у животных с травмой легкой и средней степени тяжести (рис. 1 и 2) и показали, что изменение концентрации гормонов зависели от степени тяжести ЧМТ. При ЧМТ легкой степени повышение уровня Кс в крови отмечали уже через 2 часа после травмы (пик с 4-кратным подъемом уровня гормона), что соответствовало типичной гормональной реакции на стресс (рис. 1). Однако далее у этих животных наблюдали длительное угнетение уровня Кс с его нормализацией только к 14 дню после травмы. При ЧМТ средней тяжести увеличение концентрации Кс через 2 часа после ЧМТ было достоверно меньшим и отсроченным (отмечались спустя 24 часа и далее), снижаясь до аномально низких величин вплоть до 14 дня наблюдения (окончания эксперимента). Такой

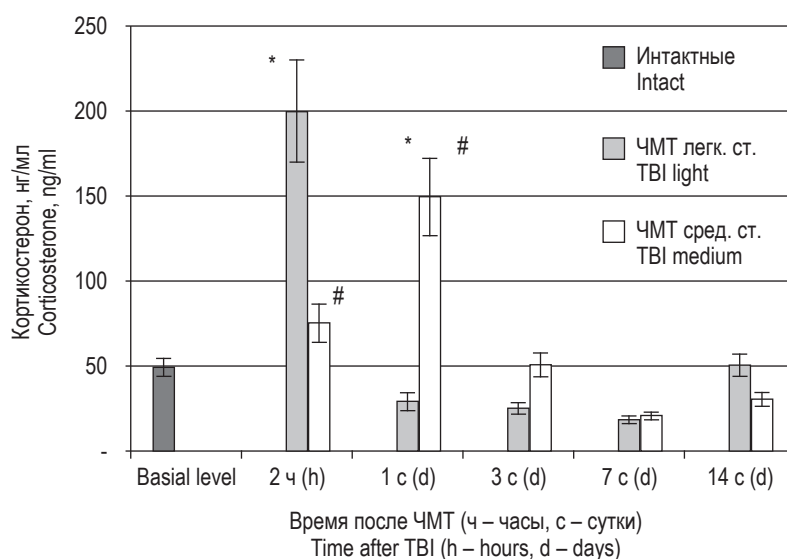


Рисунок 1. Концентрация кортикостерона (Кс) в сыворотке крови крыс после ЧМТ разной степени тяжести

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с уровнем гормонов у интактных животных; # – $p < 0,05$ по сравнению с уровнем Кс у животных с ЧМТ в те же сроки наблюдения.

Figure 1. Concentration of corticosterone (Cs) in the blood serum of rats after TBI of varying severity

Note. * , $p < 0.05$ compared with the basal level of hormones; # , $p < 0.05$ compared with the level of Cs in animals with TBI at the same time of observation.

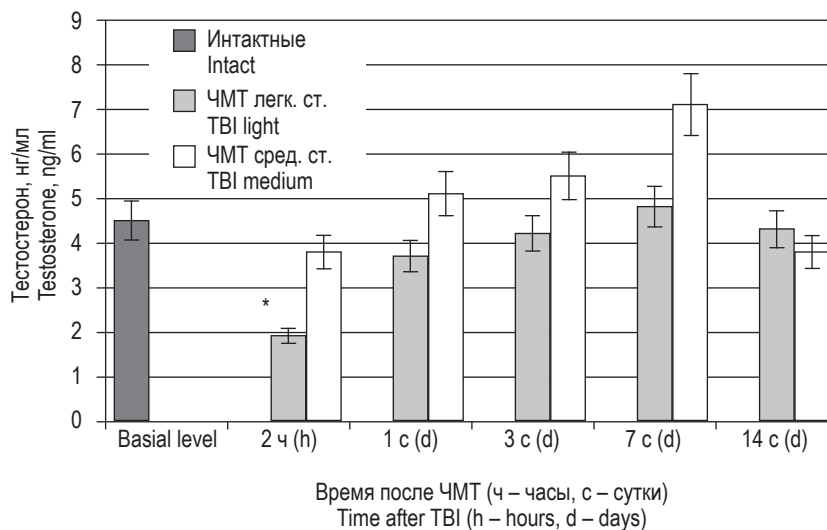


Рисунок 2. Концентрация тестостерона (Тс) в сыворотке крови крыс после ЧМТ разной степени тяжести
Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 2. Concentration of testosterone (Ts) in the blood serum of rats after TBI of varying severity
Note. As for Figure 1.

тип ответа явно не соответствует оптимальному и определяется как медленное и недостаточное включение противовоспалительных реакций, так и как склонность к неэффективной регуляции воспаления [25]. Разный характер изменения эндогенного уровня Кс в крови животных с ЧМТ легкой и средней степени тяжести в первые и последующие сутки посттравматического периода может, по-видимому, рассматриваться как ранний маркер тяжести ЧМТ и иметь прогностическое значение.

Известно, что стресс у животных вызывает подавление синтеза тестостерона [15], причем продолжительность действия стрессора – определяющий фактор для снижения уровня этого гормона [4]. В нашем исследовании в группе животных с легкой травмой концентрация тестостерона снижалась в 2 раза через 2 часа после нанесения ЧМТ (рис. 2). Такая динамика уровня гормона типична для стрессорной реакции [6]. В последующие сроки уровни тестостерона не отличались достоверно от уровня этого гормона у интактных животных. При ЧМТ средней степени тяжести уровень тестостерона не снижался достоверно и оставался высоким (не отличающимся от нормального уровня) до 14 дня после ЧМТ. Сопоставление уровней кортикостерона и тестостерона свидетельствует о реципрокном изменении концентрации этих гормонов в обеих группах травмированных животных, что совпадает с данными других авторов [6, 15].

В следующей серии экспериментов работа проводилась на животных с ЧМТ средней степени тяжести для изучения возможности коррекции развивающихся нарушений. Животным после экспериментальной ЧМТ вводили gIL-2 по описанной схеме, начиная введение препарата или непосредственно после нанесения ЧМТ, или через 72 часа после нанесения ЧМТ. Представленные в таблице 1 данные свидетельствуют, что введение gIL-2 контрольным животным (без ЧМТ, группа 2) увеличивало концентрацию Кс в 2 раза по сравнению с уровнем гормона у интактных животных, что, по-видимому, обусловлено кортикотропным действием gIL-2 [32]. На 7 сутки после ЧМТ концентрация Кс в крови животных (1 группа) была снижена на 30% по сравнению с уровнем гормона у интактных животных. При введении травмированным животным gIL-2 непосредственно после ЧМТ или через 72 ч после ЧМТ (3 и 4 группы животных) отмечалось существенное повышение уровня Кс по сравнению с нелечеными крысами 1 группы. На 14 сутки концентрация Кс сохранялась повышенной в группе животных с ЧМТ и введением gIL-2 непосредственно после ЧМТ, в остальных группах возвращалась к показателям у интактных животных. Полученный результат может свидетельствовать об улучшении/нормализации стресс-реакций у травмированных животных.

Концентрация Тс незначительно возрастала у животных на 7 сутки после ЧМТ по сравнению с этим показателем у интактных животных и кон-

ТАБЛИЦА 1. КОНЦЕНТРАЦИЯ СТРЕСС-ГОРМОНОВ И BDNF В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА BDNF В ГИПОТАЛАМУСЕ КРЫС ПОСЛЕ ЧМТ И ВВЕДЕНИЯ rIL-2 НЕПОСРЕДСТВЕННО ПОСЛЕ ЧМТ ИЛИ ЧЕРЕЗ 72 ЧАСА ПОСЛЕ ЧМТ

TABLE 1. THE SERUM CONCENTRATIONS OF STRESS HORMONES, BDNF, AND THE EXPRESSION OF BDNF GENE IN THE RAT HYPOTHALAMUS AFTER TBI AND rIL-2 ADMINISTRATION IMMEDIATELY AFTER TBI OR 72 HOURS AFTER TBI

Группы животных Groups of animals	Кортикостерон, нг/мл Corticosterone, ng/ml		Тестостерон, нг/мл Testosterone, ng/ml		BDNF, мкг/мл в сыворотке Serum BDNF, µg/ml		Экспрессия гена BDNF (отн. показатели BDNF/GADF) BDNF gene expression (relative BDNF/GADF)	
	7-е 7 th day	14-е 14 th day	7-е 7 th day	14-е 14 th day	7-е 7 th day	14-е 14 th day	7-е 7 th day	14-е 14 th day
Интактные крысы Intact rats	75,2±6,4		3,8±0,6		6,0±0,4		0,880±0,031	
Сутки после ЧМТ Day after TBI								
Группа 1 (ЧМТ) Group 1 (TBI)	50,6±4,2*	80,4±10,2	5,2±0,2	4,5±0,6	4,0±0,3*	6,0±0,9	0,83±0,04	0,86±0,04
Группа 2 (введение IL-2) Group 2 (administration of IL-2)	160,2±18,4#	120,3±15,6	5,9±0,4	4,0±0,5	8,2±1,0#	6,2±1,2	0,85±0,03	0,83±0,03
Группа 3 (ЧМТ + IL-2) Group 3 (TBI + IL-2)	180,3±20,0#	160,8±20,4#	9,0±0,8#	4,1±0,8	9,1±1,1#	6,9±0,9	0,81±0,03	0,81±0,03
Группа 4 (ЧМТ + IL-2 через 72 ч) Group 4 (TBI + IL-2 h after 72h)	300,6±50,2#	100,8±12,2	7,1±1,0#	3,7±0,7	6,3±1,2	7,0±1,0	0,89±0,02#	0,85±0,03

Примечание. * p < 0,05 – в сравнении с уровнем гормонов у интактных животных; # p < 0,05 – в сравнении с уровнем гормонов у животных, подвергнутых ЧМТ.

Note. * p < 0.05, compared with the level of hormones in intact animals; # p < 0.05, compared with the level of hormones in animals with TBI.

трольных, получавших только rIL-2, но существенно повышалась в группе животных после ЧМТ и введения rIL-2 (p < 0,05), осуществляемого как непосредственно после травмы, так и при начале курса rIL-2 через 72 часа после ЧМТ. К 14 суткам после ЧМТ гормональные показатели нормализовались во всех группах животных.

Измерение уровня BDNF в сыворотке крови животных также проводилось после нанесения

ЧМТ и введения rIL-2 в двух изучаемых режимах. Представленные в таблице 1 данные свидетельствуют, что на 7 сутки после ЧМТ уровень BDNF в сыворотке крови достоверно снижался (по сравнению с интактными животными), но в опытной группе, получавшей rIL-2 непосредственно после ЧМТ, и в контрольной группе, получавшей rIL-2 без ЧМТ, достоверно повышался. У животных, которым вводили rIL-2 через 72 часа

после ЧМТ, эффект был менее выраженным. На 14 сутки уровни BDNF в сыворотке крови соответствовали значениям у интактных животных во всех исследуемых группах.

Уровень экспрессии гена BDNF в гипоталамусе у животных после ЧМТ на 7 сутки наблюдения не изменялся по отношению к этому показателю у интактных животных (прослеживается только некоторая тенденция к его снижению). Повышение уровня экспрессии гена BDNF не наблюдали и после введения rIL-2 у животных без ЧМТ, а также у животных, получивших rIL-2 непосредственно после ЧМТ. Только в группе животных, получавших rIL-2 через 72 часа после ЧМТ, отмечено повышение экспрессии гена BDNF на 7-е сутки после травмы. На 14 сутки уровень экспрессии гена BDNF у животных опытных групп не отличался от этого показателя в группе интактных животных.

Обсуждение

Представленные данные об изменении уровня стресс-гормонов Кс и Тс после ЧМТ свидетельствуют, что характер выявленных изменений зависел от степени тяжести ЧМТ. Наблюдаемый при ЧМТ легкой степени краткосрочный выраженный подъем уровня Кс, по-видимому, соответствует оптимальной стресс-реакции, необходимой для преодоления последствий острого стресса и воспаления. Считается, что такое раннее включение противовоспалительных механизмов через активацию ГГАС позволяет сбалансировать про- и противовоспалительные сигналы и противодействовать развитию вторичного воспаления [4]. Напротив, наблюдаемый у животных, получивших ЧМТ средней степени тяжести, менее выраженный и отсроченный подъем уровня Кс мы расцениваем как недостаточно выраженный стресс-лимитирующий ответ.

Известно, что при стрессе активация ГГАС оказывает непосредственное влияние на ГГС, вступая с ней в реципрокные отношения. Недостаток секреции кортикостерона является причиной повышения секреции АКТГ, который сдвигает стероидогенез в сторону избыточного образования дезоксикортикостерона и угнетения продукции андрогенов [4, 6]. Проведенное нами исследование также подтверждает разнонаправленное и реципрокное изменение концентраций кортикостерона и тестостерона при стрессе, вызванном ЧМТ.

Стресс является также причиной изменения уровней IL-2 и его высокоаффинного рецептора, причем при легком стрессе концентрация данного цитокина и экспрессия его рецептора по-

вышаются, а при выраженном угнетаются [17]. По-видимому, недостаточность продукции IL-2 при стрессе и ЧМТ может приводить к угнетению синтеза и выделения BDNF с последующим снижением его концентрации в сыворотке крови и ЦСЖ. В то же время введение rIL-2 интактным животным приводило к выраженному увеличению концентрации BDNF в сыворотке крови.

У животных, перенесших ЧМТ средней степени тяжести, наблюдалось снижение уровня BDNF в сыворотке крови. Клинические наблюдения также свидетельствуют, что уровень ростового фактора BDNF достоверно снижался у лиц, получивших ЧМТ [14]. Интересно, что при анализе факторов риска смертности после ЧМТ у человека полиморфизм гена BDNF был определен как генетический фактор, связанный с прогнозом заболевания [5]. Кроме того, исследование больных с ЧМТ уточнило, что уровень BDNF снижался пропорционально тяжести повреждения и может быть использован как маркер тяжести и исхода заболевания [29]. В представленном нами эксперименте введение rIL-2 травмированным животным повышало концентрацию BDNF в сыворотке крови, причем изменения были особенно выражены у животных, получивших препарат сразу после ЧМТ (табл. 1). Таким образом, полученные нами данные подтверждают способность экзогенного IL-2 усиливать выделение BDNF, важнейшего цитокина, необходимого для успешной нейрорепарации [7].

В ряде исследований показано, что в условиях целостного организма имеются позитивные ассоциации между повышенными уровнями глюкокортикоидных гормонов и BDNF при стрессе и ЧМТ [11, 13]. Так, при стрессе у животных повышается концентрация BDNF и мРНК его высокоаффинного рецептора TrkB в гипоталамических ядрах, секретирующих кортикотропин-релизинг гормон (КРФ), что приводит к увеличению уровня мРНК КРФ в гипоталамусе [11]. Экспериментальные исследования других авторов показали, что внутрижелудочковое введение BDNF крысам индуцировало повышение концентрации КРФ в гипоталамусе, АКТГ в гипофизе и кортикостерона в крови через 30 минут после введения. При этом глюкокортикоидные гормоны могут ограничивать увеличение экспрессии BDNF после ЧМТ по механизму отрицательной обратной связи [23]. Такое ограничение необходимо, поскольку избыточное повышение уровня BDNF может приводить к повышению смертности больных после ЧМТ. Инверсия во взаимодействии глюкокортикоидов и BDNF отмечалась и в эксперименте у адреналэктомированных животных при

ЧМТ, когда уровень мРНК BDNF в гиппокампе значительно увеличивался. Заместительное введение кортикостерона предупреждало это нежелательное повышение уровня BDNF [23].

Таким образом, модуляция экспрессии BDNF и реактивности ГАКС при ЧМТ вовлечены в физиологический ответ и отражают гомеостатический процесс при стрессе и повреждении. Зарегистрированное в нашем исследовании повышение концентраций нейротропного фактора BDNF и кортикостерона после инъекций rIL-2 могут расцениваться как взаимосвязанные события, вовлеченные в процесс нейрорепарации после полученных повреждений. Клинические исследования свидетельствуют, что сывороточная концентрация BDNF коррелирует с тяжестью ЧМТ [30], и пациенты с легкими травмами имели самые высокие сывороточные уровни этого ростового фактора [18].

Источником BDNF в сыворотке крови могут быть как клетки мозга, так и периферические клетки [8, 12]. При исследованиях ЧМТ у человека о мозговой экспрессии BDNF косвенно можно судить по изменению концентрации данного цитокина в ЦСЖ. У здоровых лиц, как и у грызунов, уровни BDNF в сыворотке коррелируют с его уровнями в ЦСЖ [22, 26]. Однако при исследовании 203 больных с ЧМТ было показано,

что уровни BDNF в сыворотке и ЦСЖ в течение первой недели после тяжелой ЧМТ изменялись разнонаправленно: уровни BDNF в сыворотке были снижены, а уровни BDNF в ЦСЖ были немного увеличены [14]. В нашем исследовании о возможностях внутримозговой продукции BDNF судили по изменению экспрессии его гена в ткани гипоталамуса. Мы не выявили повышения уровня экспрессии гена BDNF как после введения rIL-2 животным без ЧМТ, так и на 7-е сутки после травмы у животных, получивших rIL-2 непосредственно после ЧМТ. Однако при введении rIL-2 животным через 72 часа после ЧМТ, экспрессия гена BDNF была повышена, что может приводить к повышению уровня цитокина в ткани мозга и ЦСЖ, как это показано в клинических наблюдениях [14].

Таким образом, установленные в работе положительные ассоциации уровней BDNF и глюкокортикоидных гормонов при ЧМТ, а также возможности координации этих параметров при введении rIL-2 при экспериментальной ЧМТ средней степени тяжести позволяют предположить, что благоприятные эффекты rIL-2 на восстановительные процессы в ЦНС при ЧМТ частично опосредованы взаимным модулирующим воздействием BDNF и глюкокортикоидных гормонов.

Список литературы / References

1. Бабичев В.Н. Нейроэндокринный эффект половых гормонов // Успехи физиологических наук, 2005. Т. 36, № 1. С. 54-67. [Babichev V.N. Neuroendocrine Effect Sex Hormones. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk = Advances in Physiology*, 2005, Vol. 36, no. 1, pp. 54-67. (In Russ.)]
2. Белошицкий В.В. Современные принципы моделирования черепно-мозговой травмы в эксперименте // Украинський нейрохірургічний журнал, 2008. № 4. С. 9-15. [Biloshytsky V.V. The principles of experimental traumatic brain injury modeling. *Ukrainiyskiy neyrokhirurgichniy zhurnal = Ukrainian Neurosurgical Journal*, 2008, no. 4, pp. 9-15. (In Russ.)]
3. Гончаров Н.П., Кацья Г.В., Нижник А.И. Дегидроэпиандростерон и функции мозга // Вестник РАМН, 2006. № 6. С. 45-50. [Goncharov N.P, Katsia G.V., Nizhnik A.N. Dehydroepiandrosterone and the cerebral functions. *Vestnik RAMN = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2006, Vol. 74, no. 6, pp. 45-50. (In Russ.)]
4. Кубасов Р.В. Гормональные изменения в ответ на экстремальные факторы внешней среды // Вестник РАМН, 2014. № 9-10. С. 102-110. [Koubasov R.V. Hormonal changes in response to extreme environment factors. *Vestnik RAMN = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2014, no. 9-10, pp 102-109. (In Russ.)]
5. Острова И.В., Аврущенко М.Ш. Экспрессия мозгового нейротрофического фактора (BDNF) повышает устойчивость нейронов к гибели в постреанимационном периоде // Общая реаниматология, 2015. Т. 11, № 3. С. 45-53. [Ostrova I., Avrushchenko M.Sh. Expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) increases the resistance of neurons to death in the postresuscitation period. *Obshchaya reanimatologiya = General Reanimatology*, 2015, Vol. 11, no. 3, pp. 45-53. (In Russ.)]
6. Рыбакина Е.Г., Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Филатенкова Т.А., Дмитриенко Е.В. Клеточно-молекулярные механизмы изменения защитных функций организма при черепно-мозговой травме и попытка лечения // Медицинский академический журнал, 2014. Т. 14, № 4. С. 55-62. [Rybakina E.G., Shanin S.N., Fomicheva E.E., Filatenkova T.A., Dmitrienko E.V. Cell-molecular mechanisms of protective function's changes under traumatic brain injury and ways for it's medication. *Meditsinskiy akademicheskij zhurnal = Medical Academic Journal*, 2014, Vol. 14, no. 4, pp. 55-62. (In Russ.)]

7. Серебряная Н.Б., Липатова Л.В., Сивакова Н.А., Василенко А.В. Рекомбинантный интерлейкин IL-2 человека как агент антиэпилептической терапии // Российский иммунологический журнал, 2014. Т. 8, № 3. С. 723-726. [Serebryanya N.B., Lipatova L.V., Sivakova N.A., Vasilenko A.V. The recombinant human interleukin-2 (IL-2) as the agent of antiepileptic therapies. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2014, Vol. 8, no. 3, pp. 723-726. (In Russ.)]
8. Серебряная Н.Б., Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Якуцени П.П. Тромбоциты и нейровоспаление. Часть 1: Тромбоциты как регуляторы нейровоспаления и нейрорепарации // Цитокины и воспаление, 2017. Т. 16, № 4. С. 5-12. [Serebryanaya N.B., Shanin S.N., Fomicheva E.E. Platelets and neuroinflammation. Part I: platelets as regulators of neuroinflammation and neurorepair. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2017, Vol. 16, no. 4, pp. 5-12. (In Russ.)]
9. Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Филатенкова Т.А., Серебряная Н.Б. Коррекция нарушений нейроиммунных взаимодействий при экспериментальной черепно-мозговой травме препаратом рекомбинантного IL-2 // Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 2. С. 171-178. [Shanin S.N., Fomicheva E.E., Filatenkova T.A., Serebryanaya N.B. Correction of disturbed neuroimmune interactions in experimental traumatic brain injury by means of recombinant interleukin 2. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2018, Vol. 20, no. 2, pp. 171-178. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2018-2-171-178.
10. Abbas A.K., Trotta E., Simeonov D., Marson A., Bluestone J.A. Revisiting IL-2: Biology and therapeutic prospects. *Sci. Immunol.*, 2018; Vol. 3, Iss. 25, pii: eaat1482. doi: 10.1126/sciimmunol.aat1482.
11. Alexander N., Osinsky R., Schmitz A., Mueller E., Kuepper Y., Hennig J. The BDNF Val66Met polymorphism affects HPA-axis reactivity to acute stress. *Psychoneuroendocrinology*, 2010, Vol. 35, Iss. 6, pp. 949-953.
12. Chacón-Fernández P., Säuberli K., Colzani M., Moreau T., Ghevaert C., Barde Y.-A. Brain-derived neurotrophic factor in megakaryocytes. *J. Biol. Chem.*, 2016, Vol. 291, no. 19, pp. 9872-9881.
13. de Assis G.G., Gasanov E.V. BDNF and Cortisol integrative system – plasticity vs. degeneration: implications of the Val66Met polymorphism. *Front. Neuroendocrinol.*, 2019, 55, 100784. doi: 10.1016/j.yfrne.2019.100784.
14. Failla M.D., Conley Y.P., Wagner A.K. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in traumatic brain injury-related mortality: interrelationships between genetics and acute systemic and central nervous system BDNF profiles. *Neurorehabil. Neural. Repair*, 2016, Vol. 30, no. 1, pp. 83-93.
15. Gray M., Bingham B., Viau V. A comparison of two repeated restraint stress paradigms on hypothalamic-pituitary-adrenal axis habituation, gonadal status and central neuropeptide expression in adult male rats. *J. Neuroendocrinol.*, 2010, Vol. 22, Iss. 2, pp. 92-101.
16. Hernandez-Ontiveros D.G., Tajiri N., Acosta S., Giunta B., Tan J., Borlongan C.V. Microglia activation as a biomarker for traumatic brain injury. *Front. Neurol.*, 2013, Vol. 4, no. 30, pp. 1-9.
17. Himmerich H., Fischer J., Bauer K., Kirkby K.C., Sack U., Krügel U. Stress-induced cytokine changes in rats. *Eur. Cytokine Netw.*, 2013, Vol. 24, no. 2, pp. 97-103.
18. Kalish H., Phillips T.M. Analysis of neurotrophins in human serum by immunoaffinity capillary electrophoresis (ICE) following traumatic head injury. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, 2010, Vol. 878, Iss. 2, pp. 194-200.
19. Kamamura E., Numakawa T., Adachi N., Kunugi H. Glucocorticoid suppresses BDNF-stimulated MAPK/ERK pathway via inhibiting interaction of Shp2 with TrkB. *FEBS Letters*, 2011, Vol. 585, Iss. 20, pp. 3224-3228.
20. Liesz A., Suri-Payer E., Veltkamp C., Doerr H., Sommer C., Rivest S. Regulatory T cells are key cerebroprotective immunomodulators in acute experimental stroke. *Nat. Med.*, 2009, Vol. 15, pp. 192-199.
21. Loane D.J., Byrnes K.R. Role of microglia in neurotrauma. *Neurotherapeutics*, 2010, Vol. 7, no. 4, pp. 366-377.
22. Morganti-Kossmann M.C., Yan E., Bye N. Animal models of traumatic brain injury: is there an optimal model to reproduce human brain injury in the laboratory? *Injury*, 2010, Vol. 41, Suppl. 1, pp. S10-S13.
23. Munoz M.J., Kumar R.G., Oh B.M., Conley Y.P., Wang Z., Failla M.D., Wagner A.K. Cerebrospinal fluid cortisol mediates brain-derived neurotrophic factor relationships to mortality after severe TBI: a prospective cohort study. *Front. Mol. Neurosci.*, 2017, Vol. 10, 44. doi: 10.3389/fnmol.2017.00044.
24. Numakawa T. Possible protective action of neurotrophic factors and natural compounds against common neurodegenerative diseases. *Neural Regen. Res.*, 2014, Vol. 9, Iss. 16, pp. 1506-1508.
25. Pearson-Murphy B.E. Glucocorticoids, Overview. *Encyclopedia of Stress (Second Edition)*. Ed. Fink G., Academic Press, 2007, pp. 198-210.
26. Pillai A. Decreased BDNF Levels in CSF of drug-naive first-episode psychotic subjects: correlation with plasma BDNF and psychopathology. *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, 2010, Vol. 13, Iss. 4, pp. 535-539.
27. Rothman S.M., Mattson M.P. Activity dependent stress-responsive BDNF signaling and the quest for optimal brain health and resilience throughout the lifespan. *Neuroscience*, 2013, Vol. 239, no. 3, pp. 228-240.
28. Saleem Basha N., Kewani Ghirmay, Melles Kahase. In silico comparison of interleukin-2 of Homo sapiens with different species. *Pharma Focus: The journal of Eritrean Pharmaceutical Association (ERIPA)*, 2011, Vol. 14, no. 10, pp. 32-37.
29. Schober M.E., Block B., Requena D.F., Hale M.A., Lane R.H. Developmental traumatic brain injury decreased brain derived neurotrophic factor expression late after injury. *Metab. Brain Dis.*, 2012, Vol. 27, no. 2, pp. 167-173.

30. Simon D., Nascimento R.I., Filho E.M., Bencke J., Regner A. Plasma brain-derived neurotrophic factor levels after severe traumatic brain injury. *Brain Inj.*, 2016, Vol. 30, Iss. 1, pp. 23-28.

31. Tahvildari M., Dana R. Low-dose IL-2 therapy in transplantation, autoimmunity, and inflammatory diseases. *J. Immunol.*, 2019, Vol. 203, Iss. 11, pp. 2749-2755.

32. Turnbull A.V., Rivier C.L. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiol. Rev.*, 1999, Vol. 79, no. 1, pp. 1-71.

Авторы:

Фомичева Е.Е. — к.б.н., старший научный сотрудник отдела общей патологии и патологической физиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Шанин С.Н. — к.м.н., старший научный сотрудник отдела общей патологии и патологической физиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Филатенкова Т.А. — научный сотрудник отдела общей патологии и патологической физиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Серебряная Н.Б. — д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник отдела общей патологии и патологической физиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Fomicheva E.E., PhD (Biology), Senior Research Associate, Department of General Pathology and Pathophysiology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Shanin S.N., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Department of General Pathology and Pathophysiology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Filatenkova T.A., Research Associate, Department of General Pathology and Pathophysiology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Serebryanaya N.B., PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Research Associate, Department of General Pathology and Pathophysiology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 19.03.2020

Отправлена на доработку 24.03.2020

Принята к печати 06.05.2020

Received 19.03.2020

Revision received 24.03.2020

Accepted 06.05.2020