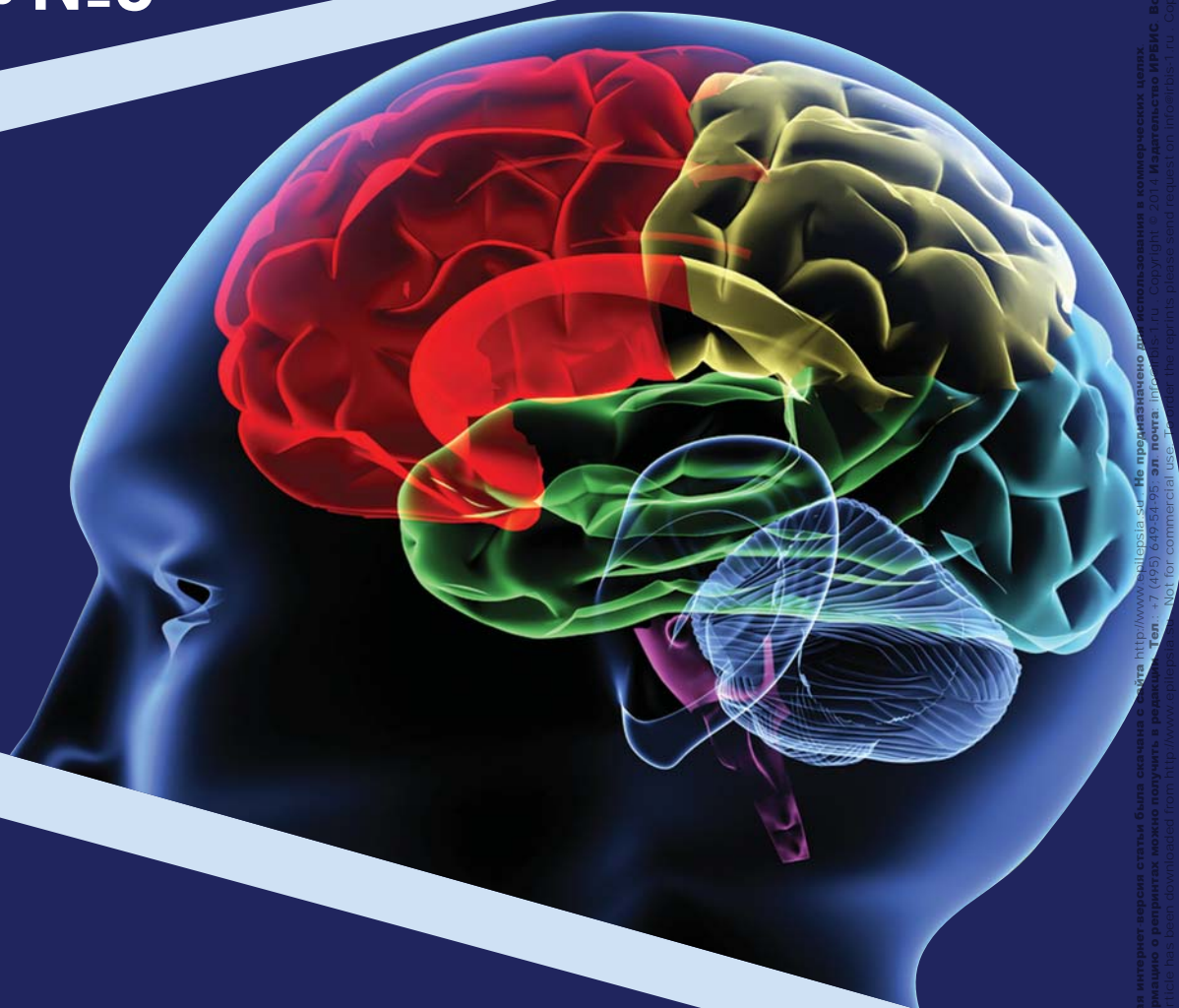


Проблемная комиссия «Эпилепсия. Пароксизмальные состояния» РАН  
и Министерства здравоохранения Российской Федерации

Российская Противозепилептическая Лига

# ЭПИЛЕПСИЯ и пароксизмальные состояния

2014 Том 6 №3



Включен в перечень ведущих  
рецензируемых журналов  
и изданий ВАК

# ИММУННЫЕ НАРУШЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ЭПИЛЕПСИЕЙ И ВОЗМОЖНОСТИ ИММУНОМОДУЛЯЦИИ РЕКОМБИНАНТНЫМ ЧЕЛОВЕЧЕСКИМ ИНТЕРЛЕЙКИНОМ IL-2

Липатова Л.В.<sup>1</sup>, Серебряная Н.Б.<sup>2</sup>, Сивакова Н.А.<sup>1</sup>,  
Василенко А.В.<sup>1</sup>, Капустина Т.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский психоневрологический институт им. В.М. Бехтерева» Минздрава РФ

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава РФ

*Резюме: имеются многочисленные экспериментальные и клинические данные о том, что эпилепсия является следствием особого воспалительного процесса в центральной нервной системе, который способствует активации микроглии и астроглиозу, что сопровождается повреждением нейронов, индукцией эпилептического процесса и его прогрессированием. В работе представлены результаты исследования содержания иммунных параметров, ответственных за нейровоспаление и нейрорепарацию, у больных эпилепсией (БЭ). Выявлены повышение сывороточных концентраций ряда провоспалительных цитокинов в плазме крови БЭ и дисбаланс цитокинов группы IL-1. С целью иммуномодуляции проведено лечение препаратом рекомбинантного человеческого интерлейкина IL-2 (rIL-2h), являющимся центральным регулятором цитокинового иммунного ответа. В результате отмечено достоверное снижение уровня IL-8 и повышение концентрации мозгового нейротрофического фактора (BDNF) в плазме крови, улучшение клинико-электроэнцефалографических показателей у больных эпилепсией, что может свидетельствовать о снижении выраженности системного воспалительного процесса и активации процессов нейропластичности и нейрогенеза у БЭ.*

*Ключевые слова: эпилепсия, фармакорезистентность, иммунные нарушения, воспаление, цитокины, нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), иммуномодуляция.*

Нейробиологические исследования последних лет позволили сформулировать представление о том, что эпилепсия является следстви-

ем особого воспалительного процесса в центральной нервной системе, который связан как с индукцией судорожного синдрома, так и с его прогрессированием. Имеются многочисленные экспериментальные и клинические данные о роли провоспалительных факторов в патогенезе эпилепсии, в частности, о связи повышенных уровней провоспалительных цитокинов и белков острой фазы воспаления с риском развития судорожных припадков [1,11,23]. Хронический воспалительный процесс при эпилепсии способствует активации микроглии и астроглиозу, что сопровождается повреждением нейронов [37], в результате чего нарушается citoархитектоника гиппокампа с развитием локальной нейродегенерации [5].

Участие процесса воспаления в патогенезе эпилепсии наглядно подтверждается эффективностью различных противовоспалительных средств (кортикостероидов, нейростероидов, иммуноглобулинов и др.) в лечении форм эпилепсии, резистентных к традиционным антиконвульсантам [11,35].

В ряде исследований показано, что многочисленные цитокины, регулирующие процесс воспаления, могут обладать как про-, так и антиконвульсантной активностью. Проконвульсантной активностью обладают IL-1 $\beta$ , IL-8 и TNF $\alpha$  [35,37,38]. Эти цитокины влияют на трансмиссию нейрональных медиаторов, способствуя развитию гиперсинхронности нейронов и гипервозбудимости головного мозга за счет ингибирования поглощения глутамата астроцитами, что вызывает повышение внеклеточной концентрации глутамата и создание условий для предиктального состояния и глутаматной эксайтотоксичности. Повышение экспрессии цитокина IL-1 $\beta$  в астроцитах и микроглии наблюдают при хроническом воспалении в ЦНС, вызванном различными причинами (травмой, инфекциями и пр.). IL-1 $\beta$  изменяет нейрональ-

ную возбудимость и оказывает проконвульсивное действие за счет повышения глутаматергической трансмиссии. Естественный антагонист IL-1 $\beta$  – рецепторный антагонист рецептора IL-1 $\beta$  (RAIL-1) – охарактеризован как мощный антиконвульсант, блокирующий у мышей эпилептический статус, индуцируемый пилокарпином, и судорожные припадки у лиц с тяжелыми формами эпилепсии [36].

Важнейшим иммунорегуляторным цитокином, который экспрессируется как клетками иммунной системы, так и клетками головного мозга, является цитокин IL-2 [14,22]. В иммунной системе IL-2 является незаменимым фактором, поддерживающим жизнеспособность и функцию регуляторных супрессорных Т-лимфоцитов (Treg). Дефицит продукции IL-2 клетками иммунной системы животных приводит к спонтанному развитию аутоиммунного заболевания, поражающего различные органы и системы, и характеризующегося инфильтрацией Т-клеток и в некоторых случаях депонированием аутоантител [16,19,34].

В нормальных условиях небольшие количества циркулирующих периферических Т-лимфоцитов непрерывно поступают в центральную нервную систему, где, как полагают, осуществляют иммунный надзор [12]. Исследования последних лет показали, что при недостаточности IL-2 в иммунной системе спонтанно формируются аутоиммунные Т-лимфоциты, имеющие усиленный хоминг в головной мозг, где они взаимодействуют с клетками мозга, нарушая их функцию.

IL-2, производимый клетками головного мозга, поддерживает рост эмбриональных септальных и гиппокампальных нейронов и влияет на высвобождение ацетилхолина из септо-гиппокампальных холинергических нейронов [8,29,31]. Показано, что дефицит IL-2 приводит к повышению продукции нескольких провоспалительных цитокинов в гиппокампе [9], нарушает архитектуру гиппокампа и связан с нарушением поведения у взрослых мышей [17]. В случае нарушения продукции IL-2 только клетками головного мозга (без дефицита этого цитокина в иммунной системе) происходит удвоение количества Т-клеток, поступающих во все области мозга.

Таким образом, хотя IL-2 не охарактеризован в настоящее время как цитокин, обладающий анти- или проконвульсантной активностью, исследования его действия (или его отсутствия) на структуру некоторых областей мозга показали его важную роль в создании и поддержании нормальной архитектуры гиппокампа.

К настоящему времени в России и за рубежом уже несколько биотехнологических препаратов рекомбинантного интерлейкина-2, созданных либо с использованием *E. coli* (Пролейкин, Тецелейкин, Биолейкин), либо дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (Ронколейкин, Альбулейкин) разработано и доступно в клинической практике, главным образом, в онкологии

в качестве противоопухолевого агента [2,4]. В рамках данной работы мы изучали возможности использования интерлейкина-2 в качестве иммуномодулятора у больных эпилепсией.

**Целью исследования** было изучение ряда иммунных параметров у больных фармакорезистентной эпилепсией (ФРЭ) и здоровых доноров (ЗД), а также оценка возможностей иммуномодуляции рекомбинантным человеческим интерлейкином IL-2 (rIL-2h), являющимся центральным регулятором цитокинового иммунного ответа, восполняющим дефицит эндогенных регуляторных молекул и полностью воспроизводящим их эффекты.

Мы использовали рекомбинантный дрожжевой rIL-2h, продуцентом которого является штамм непатогенных дрожжей-сахаромицетов *Saccharomyces cerevisiae*. Рекомбинантный дрожжевой IL-2 человека идентичен по аминокислотной последовательности пептидному фрагменту эндогенного человеческого IL-2 и не обладает выраженными побочными эффектами.

### Материалы и методы

В плазме крови 34 больных эпилепсией (БЭ) и 13 ЗД определяли концентрацию цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, RAIL-1 и растворимого рецептора IL-2 (sIL-2R). Исследование цитокинов проводили с использованием мультиплексных систем (Luminex multiplex assays) и панели моноклокальных антител (панель Multiplex MAP). Концентрации IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, рецепторного антагониста IL-1 (RAIL-1), фактора некроза опухоли-альфа (TNF $\alpha$ ) были проанализированы с помощью флуоресцентной техники Luminex, с использованием мультиплексных магнитных бус (гранул) (панель Multiplex MAP) согласно инструкции изготовителей. Коротко в каждую лунку 96-луночного планшета добавляли по 25 мкл буфера, 25 мкл образца или стандарта, 25 мкл матричного раствора и 25 мкл смеси гранул, после чего проводили культивирование в течение ночи при постоянном встряхивании при 4°C. Все образцы и стандарты были представлены в трех экземплярах (по три лунки на каждый образец). После отмывки в каждую лунку добавляли по 25 мкл детектирующих антител и культивировали в течение одного часа при комнатной температуре. Следующая инкубация проводилась после добавления в каждую лунку 25 мкл стрептавидина-фикоэритрина, культивирование сопровождалось встряхиванием в течение 30 мин. при комнатной температуре. Затем плату промывали, добавляя в каждую лунку по 150 мкл жидкости. С помощью LuminexW 200™ (Luminex Corporation, Остин, США) определяли уровни флуоресценции в каждой лунке со стандартом, контролем качества и образцом плазмы. Данные анализировали с использованием программного обеспечения Bio-plex manager (Bio-Rad Laboratories, Inc Hercules, CA). Концентрации цитокина вычисляли при интерполяции калибровочной кри-



вой, использующей пошаговое пятикратное разбавление белковых стандартов. Калибровочные кривые строились для каждого анализатора программным обеспечением Bio-plex manager, а концентрации в образцах вычислялись по калибровочной кривой. Чувствительность Multiplex-анализа для изученных цитокинов колебалась от 0,6 до 15 пг/мл.

На втором этапе исследования оценивали результаты лечения 30 больных ФРЭ, из которых 16 получали препарат rIL-2h в схеме комплексного лечения, включавшего витамины группы В и полипептиды (традиционная терапия), а 14 – исследуемый препарат не получали. Ронколейкин® вводился в виде раствора подкожно по 1 мл в дозе 1,0 мг (1000000 ME rIL-2) через день №3. Иммунологические параметры оценивались до и после курса лечения. В плазме крови пациентов до и после лечения определяли концентрацию перечисленных выше цитокинов, растворимого рецептора IL-2 (sIL-2R) и нейротрофического фактора головного мозга BDNF (brain-derived neurotrophic factor).

Клиническую эффективность терапии до и после иммунокоррекции оценивали в баллах по динамике частоты эпилептических припадков и других клинических параметров, по шкале тяжести припадков (NHS-3) и шкале общего клинического впечатления (CGI). Кроме того, осуществлялся анализ параметров ЭЭГ в покое и при функциональных нагрузках.

Статистическую обработку результатов проводили с применением критериев Стьюдента (t), Манна-Уитни (U).

### Результаты и их обсуждение

Проведенное нами исследование показало, что у больных эпилепсией имеется существенное нарушение профиля цитокинов в плазме крови: повышены

уровни провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-8 и TNF $\alpha$ ) и снижена концентрация противовоспалительного цитокина RAIL-1 (см. табл. 1). Ранее нами было показано, что при фармакорезистентной эпилепсии (ФРЭ) значения цитокина IL-8 в плазме крови больных были в 1,5 раза выше, чем у больных с контролируемыми формами заболевания (КЭ), а показатели IL-1b у больных ФРЭ в сыворотке превышали аналогичные показатели у больных КЭ в 2,5 раза. При этом содержание RAIL-1 у больных ФРЭ было ниже, чем в группе больных КЭ [4,24,25]. Полученные нами данные подтвердили нарушение баланса цитокинов семейства IL-1 $\beta$  и показали их связь с активностью эпилептического процесса.

Приведенные в таблице 1 данные свидетельствуют о том, что по уровню IL-2 здоровые лица и больные эпилепсией достоверно не различались, так как у большинства обследованных лиц они были неопределяемыми. Однако меньшие концентрации растворимого рецептора этого цитокина (sIL-2R) позволяют считать, что у больных эпилепсией суммарная продукция IL-2 в организме, вероятно, ниже, чем у здоровых лиц. Многочисленные исследования показали, что концентрации IL-2 в плазме крови связаны с активностью Т-лимфоцитов, причем и у здоровых лиц, и при многих заболеваниях уровень этого цитокина очень низкий и достоверно не определяется [28].

Более чувствительным лабораторным маркером, характеризующим метаболизм IL-2, считается растворимый sIL-2R, который стабильно определяется у здоровых лиц и повышается при аутоиммунных заболеваниях, отторжении трансплантата, некоторых инфекционных процессах и гематологических злокачественных новообразованиях. При указанных заболеваниях этот показатель является прогностическим и изменяется при проведении соответствующей терапии [32].

Цитокины в плазме крови	Здоровые доноры (n=13) Me (min-max)	Больные эпилепсией (n=34) Me (min-max)	P (U)
IL-1 $\beta$	0 (0-2,1)	316 (172-399)	<0,01
RAIL-1	420 (300-500)	38 (0-1850)	<0,01
IL-2	0(0-7)	0 (0-4)	
sIL-2R	825 (300-1660)	612 (178-1477)	<0,05
TNF $\alpha$	0,5 (0-2,5)	14 (2-60)	<0,01
IL-6	0 (0-0,1)	0 (0-0)	
IL-8	1,0 (0-2,4)	157 (0-372)	<0,01
IL-10	0 (0-9)	0 (0-19)	

Таблица 1. Цитокины в плазме крови здоровых лиц и больных эпилепсией.

Цитокины, пг/мл	До лечения n=36	После лечения (традиционная терапия) n=14	После лечения (традиционная терапия+Ронколейкин®) n=18	P
	1	2	3	
IL-8	28,7 $\pm$ 15,5	23,2 $\pm$ 5,9	6,3 $\pm$ 1,4	P(t) 1-3<0,01
TNF- $\alpha$	5,7 $\pm$ 0,8	10,2 $\pm$ 2,2	6,4 $\pm$ 1,4	P(t) 1-2<0,01
IL-10	1,4 $\pm$ 1,0	0,9 $\pm$ 0,6	0,2 $\pm$ 0,2	
BDNF	4448,9 $\pm$ 780,4	3368,9 $\pm$ 990,9	7022,6 $\pm$ 547,8	P(U) 2-3<0,01

Таблица 2. Некоторые цитокины и факторы роста в плазме крови больных эпилепсией до и после лечения.

Полученные нами результаты показали низкие уровни IL-2 и его растворимого рецептора в плазме крови обследованных больных эпилепсией, что свидетельствовало о том, что, несмотря на наличие зарегистрированного воспалительного процесса, повышения продукции IL-2 в организме больных, по видимому, не наблюдается. Полученные результаты позволили предположить, что назначение экзогенного цитокина в виде препарата rIL-2h может обеспечить снижение активности процесса воспаления и связанного с ним проконвульсивного эффекта.

После проведения короткого курса комплексной терапии с включением препарата rIL-2h или без него уровни цитокинов IL-1b, IL-2, IL-6 и RAIL-1 достоверно не изменились. Некоторое повышение уровня TNFα отмечено в группе больных, получавших только традиционную терапию. В группе, получавшей препарат, достоверно снизилась только концентрация IL-8, хемоаттракционного цитокина, привлекающего и активирующего нейтрофильные гранулоциты – основную популяцию лейкоцитов, проникающих в ткань мозга при эпилепсии (см. табл. 2).

Наиболее значительными оказались изменения в продукции BDNF, концентрация которого после лечения в группе, получавшей препарат rIL-2h, достоверно повысилась ~ в 1,6 раз (в группе больных, не получавших препарат rIL-2h, концентрация BDNF достоверно не изменилась).

BDNF, как и фактор роста нервов (NGF), является нейротрофическим фактором, который стимулирует развитие нервных клеток центральной и периферической нервной системы, помогает поддерживать выживание существующих нейронов и поощряет рост и дифференцирование новых нейронов и синапсов [18]. Мыши, родившиеся без способности синтезировать BDNF, имеют дефекты развития мозга и сенсорной нервной системы, обычно они умирают вскоре после рождения, что позволяет предполагать, что BDNF играет важную роль в нормальном развитии нервной системы [13,33].

Дизрегуляция BDNF выявлена при многих неврологических и психических заболеваниях. Повышенные сывороточные уровни BDNF были найдены при

шизофрении, фибромиалгиях, на ранних стадиях болезни Альцгеймера и у детей с эпилепсией [8]. Сниженные сывороточные уровни BDNF обнаружены у взрослых больных при депрессии, биполярных расстройствах, болезни Хантингтона, поздних стадиях болезни Альцгеймера, аутизме, рассеянном склерозе [7] и у взрослых, больных эпилепсией [21]. Причем в эксперименте на животных было показано, что определенное повышение уровней BDNF и фактора роста фибробластов-2 (FGF-2) в гиппокампе уменьшает проявление астроглиоза (разрастание «мшистых волокон») и развитие спонтанных судорожных припадков через 4 недели после вызванного пилокарпином эпилептического статуса [30,20].

После лечения препаратом rIL-2h отмечено достоверное улучшение ряда клинических показателей у БЭ: у 90,0% – снижение частоты припадков различной степени выраженности (у 63,3% больных отмечена 50% редукция частоты иктальных событий), при этом возросла средняя длительность межприступного периода с  $24,7 \pm 2,3$  до  $94,6 \pm 3,7$  дней ( $p < 0,01$ ). Снижение частоты припадков после лечения препаратом rIL-2 с высокой степенью достоверности коррелировало с уменьшением пароксизмальной активности на ЭЭГ и улучшением показателей по шкалам NHS-3 и CGI.

У больных эпилепсией, получавших препарат rIL-2h, отмечено уменьшение тяжести припадков: более выраженная, в сравнении с контролем, положительная динамика по шкале NHS-3 – суммарный балл в первой группе уменьшился с  $18,87 \pm 0,78$  до  $6,23 \pm 1,82$ , во второй – с  $17,75 \pm 3,07$  до  $9,27 \pm 1,54$ , а значения общего клинического впечатления по шкале CGI составили  $6,91 \pm 1,22$  и  $2,07 \pm 0,95$  (в контрольной группе –  $6,20 \pm 1,04$  и  $4,46 \pm 1,18$ ), что свидетельствует о смещении этих показателей из диапазона умеренных и выраженных расстройств в область легких и умеренных, в то время как у больных, не получавших rIL-2h, показатели CGI остались в диапазоне умеренных и выраженных расстройств.

Снижение частоты припадков после лечения препаратом rIL-2h достоверно коррелировало с уменьшением пароксизмальной активности на ЭЭГ (см. рис. 1). С целью изучения фоновой биоэлектриче-

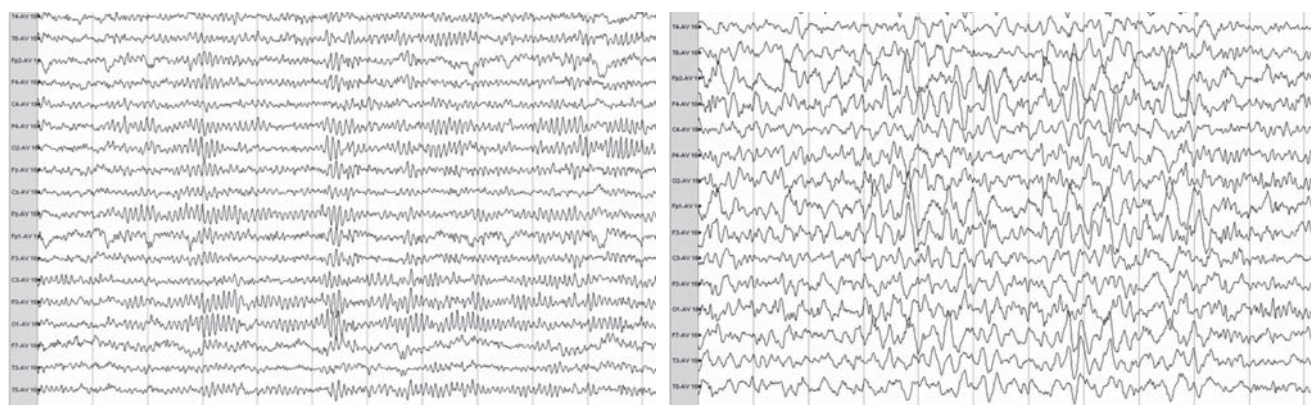


Рисунок 1. ЭЭГ больного И., 31 год, до и после лечения.

ской активности головного мозга (БЭА) была использована классификация Е.А. Жирмунской (1991), которая позволила нам определить качественный уровень ЭЭГ-нарушений. Проведенный анализ результатов ЭЭГ у больных экспериментальной и контрольной групп до лечения выявил следующие изменения БЭА: очень грубые – в 50,8 и 52,1% наблюдений, грубые – в 30,4 и 31,4%, значительные – в 39,2 и 41,4% соответственно. Таким образом, на момент включения в исследование статистически значимых достоверных корреляций по ЭЭГ-показателям в обеих группах зарегистрировано не было. ЭЭГ-динамика в экспериментальной группе после проведения курса лечения препаратом rIL-2h была представлена следующим образом: грубые, значительные, умеренные и легкие нарушения БЭА наблюдались достоверно реже (20,8%, 15,1%, 5,1% и 2,2%), а очень грубые – не определялись вовсе. В контрольной группе ЭЭГ-динамика также была положительной, однако была представлена более скромными показателями: очень грубые – в 47,4%, грубые – 39,5%, остальную часть составили значительные изменения БЭА.

## Заключение

Таким образом, представленные данные подтверждают наличие воспалительного процесса при эпилепсии, проявляющегося нарушением уровня цитокинов семейства IL-1. Повышение у обследованных больных уровня IL-8, хемокина, привлекающего и активирующего нейтрофильные гранулоциты, по-видимому, связано с проникновением этих лейкоцитов в ткань мозга – важным этапом в генезе судорожного припадка. Повышение сывороточных концентраций IL-1b и

IL-8 не ассоциировано с увеличением уровня многофункционального цитокина IL-2 или sIL-2R – последний является признанным лабораторным маркером повышенной продукции IL-2. Поскольку IL-2, продуцируемый иммунными клетками и нейронами, является незаменимым цитокином для поддержания жизнеспособности супрессорных популяций (T-reg) лимфоцитов, его низкие концентрации, выявленные у больных эпилепсией, мы расценили как функциональный дефицит. Введение экзогенного цитокина rIL-2h в виде короткого курса из трех инъекций привело к снижению уровня IL-8 и повышению концентрации BDNF в плазме крови, а клинически проявилось уменьшением числа судорожных эпизодов в течение года наблюдения у 90% больных, получавших препарат. Полученные данные об увеличении содержания BDNF после лечения препаратом rIL-2h могут свидетельствовать об активации процессов нейропластичности и нейрогенеза у больных ФРЭ.

Положительная динамика после лечения препаратом rIL-2h достоверно коррелировала с улучшением клинических показателей и уменьшением эпилептиформной активности на ЭЭГ.

Высокая иммунокорректирующая эффективность, прогнозируемость и селективность действия препаратов на основе рекомбинантного интерлейкина-2 обусловлены наличием на клетках специфических рецепторов и существованием природных механизмов их элиминации. Таким образом, ранняя иммуномодулирующая терапия может быть эффективным терапевтическим выбором для больных эпилепсией с лабораторно верифицированными иммунопатологическими синдромами.

## Литература:

- Блинов Д.В. Современные представления о роли нарушения резистентности гематоэнцефалического барьера в патогенезе заболеваний ЦНС. Часть 2: Функции и механизмы повреждения гематоэнцефалического барьера. Эпилепсия и пароксизмальные состояния. 2014; 1: 70-84.
- Ефремов А.В., Матвеевский Н.А., Трунов А.Н., Сафронов И.Д. Состояния гуморального иммунитета у женщин при опухолевых заболеваниях матки. Акушерство, гинекология и репродукция. 2011; 2: 13-15.
- Липатова Л.В., Сивакова Н.А., Скоромец Т.А., Орлов И.А., Аникин С.А., Серебряная Н.Б., Симбирцев А.С. Роль воспаления в патогенезе эпилепсии. Цитокины и воспаление. 2012; 3: 61-64.
- Молчанов О.Е., Карелин М.И., Жаринов Г.М. Современные тенденции применения препаратов рекомбинантного интерлейкина-2 в онкологии. Цитокины и воспаление. 2002; 1 (3): 38-47.
- Allan S.M., Rothwell N.J. Cytokines and acute neurodegeneration. Nat. Rev. Neurosci. 2001; 2: 734-744.
- Anderson G., Rodriguez M. Multiple sclerosis, seizures, and antiepileptics: role of IL-18, IDO, and melatonin. Eur. J. Neurol. 2011 May; 18 (5): 680-5.
- Autry A.E., Monteggia L.M. Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. Pharmacol. Rev. 2012 Apr; 64 (2): 238-58.
- Beck R.D., Jr, King M.A., Ha G.K., Cushman J.D., Huang Z., Petitto J.M. IL-2 deficiency results in altered septal and hippocampal cytoarchitecture: relation to development and neurotrophins. J. Neuroimmunol. 2005; 160: 146-153.
- Cardona A.E., Li M., Liu L., Savarin C., Ransohoff R.M. Chemokines in and out of the central nervous system: much more than chemotaxis and inflammation. J. Leukoc. Biol. 2008; 84: 587-594.
- Connolly A.M., Chez M., Streif E.M. et al. Brain-derived neurotrophic factor and autoantibodies to neural antigens in sera of children with autistic spectrum disorders, Landau-Kleffner syndrome, and epilepsy. Biol. Psychiatry. 2006; 59: 354-363.
- De Simoni M.G., Perego C., Ravizza T., Moneta D., Conti M., Marchesi F., De Luigi A., Garattini S., Vezzani A. Inflammatory cytokines and related genes are induced in the rat hippocampus by limbic status epilepticus. Eur. J. Neurosci. 2000; 12: 2623-2633.
- Dinkel K., MacPherson A., Sapolsky R.M. Novel glucocorticoid effects on acute inflammation in the CNS. J. Neurochem. 2003; 84: 705-716.
- Ernfors P., Kucera J., Lee K.F., Loring J., Jaenisch R. Studies on the physiological role of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 in knockout mice. Int. J. Dev. Biol. 1995; 39 (5): 799-807.
- Hanisch U.K., Quirion R. Interleukin-2 as a neuroregulatory cytokine. Brain. Res. Brain. Res. Rev. 1995; 21: 246-284.
- Hickey W.F., Hsu B.L., Kimura H. T-lymphocyte entry into the central nervous system. J. Neurosci. Res. 1991; 28: 254-260.
- Horak I., Lohler J., Ma A., Smith K.A. Interleukin-2 deficient mice: a new model to study autoimmunity and self-tolerance. Immunol. Rev. 1995; 148: 35-44.
- Huang E.J., Reichardt L.F. Neurotrophins: Roles in Neuronal Development and Function. Annu. Rev. Neurosci. 2001; 24: 677-736.
- Huang Z., Dauer D.J., Ha G.K., Lewis M.H.,



- Petitto J.M. Interleukin-2 deficiency-induced T cell autoimmunity in the mouse brain. *Neurosci Lett.* 2009; 463: 44-48.
19. Kundig T.M., Schorle H., Bachmann M.F., Hengartner H., Zinkernagel R.M., Horak I. Immune responses in interleukin-2-deficient mice. *Science.* 1993; 262: 1059-1061.
  20. Kuramoto S., Yasuhara T., Agari T., Kondo A., Jing M., Kikuchi Y., Shinko A., Wakamori T., Kameda M., Wang F., Kin K., Eda Hiro S., Miyoshi Y., Date I. BDNF-secreting capsule exerts neuroprotective effects on epilepsy model of rats. *Brain Res.* 2011 Jan 12; 1368: 281-9.
  21. LaFrance W.C. Jr., Leaver K., Stopa E.G., Papandonatos G.D., Blum A.S. Decreased serum BDNF levels in patients with epileptic and psychogenic nonepileptic seizures. *Neurology.* 2010 Oct 5; 75 (14): 1285-91.
  22. Lapchak P.A., Araujo D.M., Quirion R., Beaudet A. Immunoautoradiographic localization of interleukin 2-like immunoreactivity and interleukin 2 receptors (Tac antigen-like immunoreactivity) in the rat brain. *Neuroscience.* 1991; 44: 173-184.
  23. Lehtimäki K.A., Keränen T., Huhtala H., Hurme M., Ollikainen J., Honkaniemi J., Palmio J. et al.: Regulation of IL-6 system in cerebrospinal fluid and serum compartments by seizures: the effect of seizure type and duration. *J. Neuroimmunol.* 2004; 152: 121-125.
  24. Lipatova L.V., Serebryanaya N.B., Dubinina E.E., Churilova I.V., Leonova N.V., Egorova D.A., Sivakova N.A., Vasilenko A.V., Zaikova G.M. About the role of inflammation and oxidative stress in pathogenesis of drug resistant epilepsy. *J. Allergy, Asthma and Immunophysiology: from basic science to clinical management.* Medimond International Proceeding. London. 2013; 83-87.
  25. Lipatova L.V., Serebryanaya N.B., Sivakova N.A. About the role of inflammation in drug-resistant epilepsy. *Journal of Neurology.* June 2013; 260 (1): 146-147.
  26. Lipatova L.V., Serebryanaya N.B., Sivakova N.A. Opportunity of using recombinant human interleukin-2 in patients with epilepsy. *J. Epilepsia.* 2013; 54 (3): 341-342.
  27. M. Guilbaud O., Chaouat G., Cayol V., Speranza M., Chambry J., Paterniti S., Moussa M., Flament M., Jeammet P. Cytokines and anorexia nervosa. *Psychosom Med.* 2001 May-Jun; 63 (3): 502-4.
  28. Mahendran R., Mahendran R., Chan Y.H. Interleukin-2 levels in chronic schizophrenia patients. *Ann. Acad. Med. Singapore.* 2004 May; 33 (3): 320-3.
  29. Malek T.R., Yu A., Zhu L., Matsutani T., Adeegbe D., Bayer A.L. IL-2 family of cytokines in T regulatory cell development and homeostasis. *J. Clin. Immunol.* 2008; 28: 635-639.
  30. Paradiso B., Zucchini S., Su T., Bovolenta R., Berto E., Marconi P., Marzola A., Navarro Mora G., Fabene P.F., Simonato M. Localized overexpression of FGF-2 and BDNF in hippocampus reduces mossy fiber sprouting and spontaneous seizures up to 4 weeks after pilocarpine-induced status epilepticus. *Epilepsia.* 2011 Mar; 52 (3): 572-8.
  31. Petitto J.M., Huang Z. Molecular cloning of the coding sequence of an interleukin-2 receptor alpha subunit cDNA in murine brain. *J. Neuroimmunol.* 1995; 59: 135-141.
  32. Rubin L.A., Nelson D.L. The soluble interleukin-2 receptor: biology, function, and clinical application. *Ann. Intern. Med.* 1990 Oct 15; 113 (8): 619-27.
  33. Samland H., Huitron-Resendiz S., Masliah E., Criado J., Henriksen S.J., Campbell I.L. Profound increase in sensitivity to glutamatergic but not cholinergic agonist induced seizures in transgenic mice with astrocyte production of IL-6. *J. Neurosci. Res.* 2003; 73: 176-187.
  34. Schorle H., Holtschke T., Hunig T., Schimpl A., Horak I. Development and function of T cells in mice rendered interleukin-2 deficient by gene targeting. *Nature.* 1991; 352: 621-624.
  35. Van Rijckevorsel-Harmant K., Delire M., Schmitz-Moorman W., Wieser H.G. Treatment of refractory epilepsy with intravenous immunoglobulins. *Int. J. Clin. Lab. Res.* 1994; 24: 162-166.
  36. Vezzani A., Moneta D., Conti M., Richichi C., Ravizza T., De Luigi A., De Simoni M.G., Sperk G., Andell-Jonsson S., Lundkvist J., Iverfeldt K., Bartfai T. Powerful anticonvulsant action of IL-1 receptor antagonist on intracerebral injection and astrocytic overexpression in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000; 97: 11534-11539.
  37. Vezzani A., Moneta D., Richichi C., Aliprandi M., Burrows S.J., Ravizza T., Perego C., De Simoni M.G. Functional role of inflammatory cytokines and anti-inflammatory molecules in seizures and epileptogenesis. *Epilepsia.* 2002; 43: 30-35.
  38. Yuhas Y., Weizman A., Ashkenazi S. Bidirectional concentration-dependent effects of tumor necrosis factor alpha in Shigella dysenteriae-related seizures. *Infect Immun.* 2003; 71: 2288-2291.
- Ransohoff R.M. Chemokines in and out of the central nervous system: much more than chemotaxis and inflammation. *J. Leukoc. Biol.* 2008; 84: 587-594.
10. Connolly A.M., Chez M., Streif E.M. et al. Brain-derived neurotrophic factor and autoantibodies to neural antigens in sera of children with autistic spectrum disorders, Landau-Kleffner syndrome, and epilepsy. *Biol. Psychiatry.* 2006; 59: 354-363.
  11. De Simoni M.G., Perego C., Ravizza T., Moneta D., Conti M., Marchesi F., De Luigi A., Garattini S., Vezzani A. Inflammatory cytokines and related genes are induced in the rat hippocampus by limbic status epilepticus. *Eur. J. Neurosci.* 2000; 12: 2623-2633.
  12. Dinkel K., MacPherson A., Sapolsky R.M. Novel glucocorticoid effects on acute inflammation in the CNS. *J. Neurochem.* 2003; 84: 705-716.
  13. Ernfors P., Kucera J., Lee K.F., Loring J., Jaenisch R. Studies on the physiological role of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 in knockout mice. *Int. J. Dev. Biol.* 1995; 39 (5): 799-807.
  14. Hanisch U.K., Quirion R. Interleukin-2 as a neuroregulatory cytokine. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 1995; 21: 246-284.
  15. Hickey W.F., Hsu B.L., Kimura H. T-lymphocyte entry into the central nervous system. *J. Neurosci. Res.* 1991; 28: 254-260.
  16. Horak I., Lohler J., Ma A., Smith K.A. Interleukin-2 deficient mice: a new model to study autoimmunity and self-tolerance. *Immunol. Rev.* 1995; 148: 35-44.
  17. Huang E.J., Reichardt L.F. Neurotrophins: Roles in Neuronal Development and Function. *Annu. Rev. Neurosci.* 2001; 24: 677-736.
  18. Huang Z., Dauer D.J., Ha G.K., Lewis M.H., Petitto J.M. Interleukin-2 deficiency-induced T cell autoimmunity in the mouse brain. *Neurosci Lett.* 2009; 463: 44-48.
  19. Kundig T.M., Schorle H., Bachmann M.F., Hengartner H., Zinkernagel R.M., Horak I. Immune responses in interleukin-2-deficient mice. *Science.* 1993; 262: 1059-1061.
  20. Kuramoto S., Yasuhara T., Agari T., Kondo A., Jing M., Kikuchi Y., Shinko A., Wakamori T., Kameda M., Wang F., Kin K., Eda Hiro S., Miyoshi Y., Date I. BDNF-secreting capsule exerts neuroprotective effects on epilepsy model of rats. *Brain Res.* 2011 Jan 12; 1368: 281-9.
  21. LaFrance W.C. Jr., Leaver K., Stopa E.G., Papandonatos G.D., Blum A.S. Decreased serum BDNF levels in patients with epileptic and psychogenic nonepileptic seizures. *Neurology.* 2010 Oct 5; 75 (14): 1285-91.
  22. Lapchak P.A., Araujo D.M., Quirion R., Beaudet A. Immunoautoradiographic

## References:

1. Blinov D.V. *Epilepsiya i paroksizmal'nye sostoyaniya.* 2014; 1: 70-84.
2. Efremov A.V., Matveevskii N.A., Trunov A.N., Safronov I.D. *Akusherstvo, ginekologiya i reproduksiya.* 2011; 2: 13-15.
3. Lipatova L.V., Sivakova N.A., Skoromets T.A., Orlov I.A., Anikin S.A., Serebryanaya N.B., Simbirtsev A.S. *Tsitokiny i vospalenie.* 2012; 3: 61-64.
4. Molchanov O.E., Karelin M.I., Zharinov G.M. *Tsitokiny i vospalenie.* 2002; 1 (3): 38-47.
5. Allan S.M., Rothwell N.J. Cytokines and acute neurodegeneration. *Nat. Rev. Neurosci.* 2001; 2: 734-744.
6. Anderson G., Rodriguez M. Multiple sclerosis, seizures, and antiepileptics: role of IL-18, IDO, and melatonin. *Eur. J. Neurol.* 2011 May; 18 (5): 680-5.
7. Autry A.E., Monteggia L.M. Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. *Pharmacol. Rev.* 2012 Apr; 64 (2): 238-58.
8. Beck R.D., Jr, King M.A., Ha G.K., Cushman J.D., Huang Z., Petitto J.M. IL-2 deficiency results in altered septal and hippocampal cytoarchitecture: relation to development and neurotrophins. *J. Neuroimmunol.* 2005; 160: 146-153.
9. Cardona A.E., Li M., Liu L., Savarin C.,

- localization of interleukin 2-like immunoreactivity and interleukin 2 receptors (Tac antigen-like immunoreactivity) in the rat brain. *Neuroscience*. 1991; 44: 173-184.
23. Lehtimäki K.A., Keränen T., Huhtala H., Hurme M., Ollikainen J., Honkaniemi J., Palmio J. et al.: Regulation of IL-6 system in cerebrospinal fluid and serum compartments by seizures: the effect of seizure type and duration. *J. Neuroimmunol.* 2004; 152: 121-125.
  24. Lipatova L.V., Serebryanaya N.B., Dubinina E.E., Churilova I.V., Leonova N.V., Egorova D.A., Sivakova N.A., Vasilenko A.V., Zaikova G.M. About the role of inflammation and oxidative stress in pathogenesis of drug resistant epilepsy. *J. Allergy, Asthma and Immunophysiology: from basic science to clinical management*. 2013; 83-87.
  25. Lipatova L.V., Serebryanaya N.B., Sivakova N.A. About the role of inflammation in drug-resistant epilepsy. *Journal of Neurology*. June 2013; 260 (1): 146-147.
  26. Lipatova L.V., Serebryanaya N.B., Sivakova N.A. Opportunity of using recombinant human interleukin-2 in patients with epilepsy. *J. Epilepsia*. 2013; 54 (3): 341-342.
  27. M. Guilbaud O., Chaouat G., Cayol V., Speranza M., Chambry J., Paterniti S., Moussa M., Flament M., Jeammet P. Cytokines and anorexia nervosa. *Psychosom Med.* 2001 May-Jun; 63 (3): 502-4.
  28. Mahendran R., Mahendran R., Chan Y.H. Interleukin-2 levels in chronic schizophrenia patients. *Ann. Acad. Med. Singapore*. 2004 May; 33 (3): 320-3.
  29. Malek T.R., Yu A., Zhu L., Matsutani T., Adeegbe D., Bayer A.L. IL-2 family of cytokines in T regulatory cell development and homeostasis. *J. Clin. Immunol.* 2008; 28: 635-639.
  30. Paradiso B., Zucchini S., Su T., Bovolenta R., Berto E., Marconi P., Marzola A., Navarro Mora G., Fabene P.F., Simonato M. Localized overexpression of FGF-2 and BDNF in hippocampus reduces mossy fiber sprouting and spontaneous seizures up to 4 weeks after pilocarpine-induced status epilepticus. *Epilepsia*. 2011 Mar; 52 (3): 572-8.
  31. Petitto J.M., Huang Z. Molecular cloning of the coding sequence of an interleukin-2 receptor alpha subunit cDNA in murine brain. *J. Neuroimmunol.* 1995; 59: 135-141.
  32. Rubin L.A., Nelson D.L. The soluble interleukin-2 receptor: biology, function, and clinical application. *Ann. Intern. Med.* 1990 Oct 15; 113 (8): 619-27.
  33. Samland H., Huitron-Resendiz S., Masliah E., Criado J., Henriksen S.J., Campbell I.L. Profound increase in sensitivity to glutamatergic but not cholinergic agonist induced seizures in transgenic mice with astrocyte production of IL-6. *J. Neurosci. Res.* 2003; 73: 176-187.
  34. Schorle H., Holtschke T., Hunig T., Schimpl A., Horak I. Development and function of T cells in mice rendered interleukin-2 deficient by gene targeting. *Nature*. 1991; 352: 621-624.
  35. Van Rijckevorsel-Harmant K., Delire M., Schmitz-Moorman W., Wieser H.G. Treatment of refractory epilepsy with intravenous immunoglobulins. *Int. J. Clin. Lab. Res.* 1994; 24: 162-166.
  36. Vezzani A., Moneta D., Conti M., Richichi C., Ravizza T., De Luigi A., De Simoni M.G., Sperk G., Andell-Jonsson S., Lundkvist J., Iverfeldt K., Barfai T. Powerful anticonvulsant action of IL-1 receptor antagonist on intracerebral injection and astrocytic overexpression in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2000; 97: 11534-11539.
  37. Vezzani A., Moneta D., Richichi C., Aliprandi M., Burrows S.J., Ravizza T., Perego C., De Simoni M.G. Functional role of inflammatory cytokines and anti-inflammatory molecules in seizures and epileptogenesis. *Epilepsia*. 2002; 43: 30-35.
  38. Yuhas Y., Weizman A., Ashkenazi S. Bidirectional concentration-dependent effects of tumor necrosis factor alpha in Shigella dysenteriae-related seizures. *Infect Immun.* 2003; 71: 2288-2291.

### IMMUNE DISTURBANCES IN PATIENTS WITH EPILEPSY AND OPPORTUNITY OF IMMUNOMODULATION BY RECOMBINANT HUMAN IL-2

Lipatova L.V.<sup>1</sup>, Serebryanaya N.B.<sup>2</sup>, Sivakova N.A.<sup>1</sup>, Vasilenko A.V.<sup>1</sup>, Kapustina T.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> St. Petersburg V.M. Bekhterev Psychoneurological Research Institute, Ministry of Health of the Russian Federation

<sup>2</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Ministry of Health of the Russian Federation

**Abstract:** the inflammation in epilepsy pathogenesis is the subjects of scientific discussion. Extensive evidence in favor of the inflammatory theory of epileptogenesis is obtained, according to which epilepsy is a consequence of specialty inflammation in the CNS connected with both the induction of convulsions and their progression. Special attention is paid to cytokines containing in plasma mostly because they are natural pro-convulsants, the markers of inflammation, increased level of which result in higher risk of seizures. Inflammatory factors and mediators such as IL-1 $\beta$  и TNF can influence on neuron transmission of mediators and promote development of hyper synchronous in neurons and hyper excitation of the brain. The specific role of cytokines IL-1 $\beta$  in epilepsy is discerning due to it expression in CNS in astrocytes and microglia as a factor of chronic inflammation in CNS. The aim of our study is to evaluate the dynamics of immunological parameters in patients with epilepsy (PE) during the treatment with rIL-2-medicament (Roncoleukinum<sup>®</sup>), cytokine drug of Interleukin's series containing recombinant human Interleukin-2 (rIL-2), which is a structural and functional analog of the endogenous IL-2. The results of the research of specialties of system inflammation response in epileptic patients reveal the increased level of the inflammation markers in plasma and CNS (increased concentration and violation of balance of cytokines of IL-1 $\beta$  family defined by decrease of RAIL-1 concentration and RAIL-1/IL-1 coefficient). We obtained the data on decrease of content of pro-inflammatory cytokine IL-8 and increase content of BDNF in PE as a result of rIL-2-medicament treatment. Changes of these immunological parameters correlated with clinical improvement of PE: reduction of seizure frequency and positive EEG changes. These results might be used to optimize treatment of PE due to modulation of inflammatory process and increase of neurotrophic factors production required for the processes of brain neuroplasticity and neurogenesis.

**Key words:** epilepsy, drug resistance, immune disturbances, inflammation, cytokines, BDNF (brain-derived neurotrophic factor), immunomodulation.