

# **БОЛЕЗНЬ-МОДИФИЦИРУЮЩАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ У БОЛЬНЫХ ЭПИЛЕПСИЕЙ С АССОЦИИРОВАННЫМИ ПСИХИЧЕСКИМИ РАССТРОЙСТВАМИ**

Л. В. Липатова, Н. А. Сивакова

## **ВВЕДЕНИЕ**

Терминологическая комиссия Международной противоэпилептической лиги внесла предложение выделить иммунную эпилепсию в самостоятельную этиологическую форму эпилепсий (Special report of the ILAE Classification Task Force of the Commission for Classification and Terminology) (Scheffer I. E., 2016). Это решение связано с бурным ростом данных о ведущей роли иммунной системы в патогенезе многих острых и хронических заболеваний ЦНС, включая эпилепсию, появлением нового научного направления нейробиологических наук — психонейроиммунологии, постулирующей медиаторную, рецепторную, антигенную общность мозга и иммунной системы. За последние десятилетия накоплен большой фактический материал, свидетельствующий о нейроэндокринных, биохимических, иммунных нарушениях при многих нервно-психических заболеваниях. Результаты проведенных различными авторами исследований свидетельствуют о том, что заболевания головного мозга органического характера, аффективные расстройства, ряд соматических заболеваний имеют общие периферические и центральные механизмы нейровоспаления и многие из них — коморбидны эпилепсии (Мазо Г.Э. и соавт., 2014; Maes M. et al., 2011; Barbosa de Sousa J. M. et al., 2016). Не исключено, что иммунные нарушения могут стать важной составной частью интегральной теории возникновения эпилепсии, и дальнейшие иммунологические исследования будут способствовать продвижению в этом направлении.

## **НЕЙРОИММУННЫЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ ЭПИЛЕПСИИ**

За последние десятилетия получены многочисленные экспериментальные и клинические данные, сделавшие правомочным вопрос о рассмотрении воспалительной теории эпилептогенеза. Считается, что хронизации воспалительного процесса при эпилепсии способствуют активация микроглии и астроглиоз, сопровождающиеся повреждением нейронов (Vezzani A. et al., 2002). Основным постулатом такого рода работ является положение о том, что в основе воспаления в центральной нервной системе (ЦНС) лежит повреждение гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Центральная нервная система помимо неспецифического гематоэнцефалического, гематоликворного и ликвороэнцефалического барьера, имеет еще и свою автономную, специфическую иммунологическую защитную систему, названную «иммунным барьером» мозга. Иммунный барьер мозга в нормальных условиях функционирует в ЦНС автономно, будучи «прикрытым» ГЭБ

и гематоликворным барьером. Он не зависит от общей иммунной системы организма. Изолированное функционирование иммунокомпетентных клеток в ЦНС, которые образуют иммунную защитную систему мозга, было подтверждено в работах автора (Сепиашвили Р.И., 2003). Повреждение ГЭБ вызывает целый каскад иммунозависимых реакций, приводящих как к индукции эпилептического синдрома, так и к его прогрессированию. Предполагается, что в этом процессе наибольшую роль играют цитокины, главным образом потому, что они являются природными про- и антиконвульсантами (Vezzani A. et al., 2004; Vezzani A. et al., 2008; Diamond M. L. et al., 2014). Система цитокинов является самостоятельной системой иммунной регуляции, существующей наряду с нервной и эндокринной, и основная задача этих трех организующих систем состоит в поддержании гомеостаза организма и регуляции его защитных реакций.

Существует большое количество цитокинов, регулирующих процесс воспаления, которые могут обладать как про-, так и антиконвульсантной активностью. Проконвульсантные свойства присущи IL-1 $\beta$ , IL-8 и фактору некроза опухоли – TNF $\alpha$  (Vezzani A. et al., 2008). Нейротоксические эффекты цитокинов связаны с воздействием на альфа-амино-3-гидроксил-5-метил-4-изоксазол-пропионат (AMPA) N-метил-D-аспартат (NMDA) рецепторы. Провоспалительные цитокины, продуцируемые моноцитарными макрофагами (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ ) и Т-лимфоцитами (интерферон- $\gamma$ , IL-2), влияют на нейромедиаторный обмен и снижают концентрации триптофана и серотонина. При хроническом воспалении может снижаться интенсивность биосинтеза катехоламинов, что приводит к изменению нейротрансмиссии (Maes M. et al., 2011; Leonard B. et al., 2012).

Воспалительные факторы и посредники, такие как IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$ , могут способствовать 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 (Zou J.Y. et al., 2005). Рассматривается также специфическая роль цитокина IL-1 $\beta$  в генезе эпилепсии, что обусловлено его экспрессией в ЦНС, в астроцитах и микроглии как фактора хронического воспаления в ЦНС, вызванного различными причинами (травмой, инфекциями и пр.). IL-1 $\beta$  изменяет проницаемость ГЭБ и нейрональную возбудимость за счет повышения глутаматергической трансмиссии и оказывает проконвульсивное действие (Diamond M. L. et al., 2014).

Недавние исследования показали, что IL-1R1 локализуется в пирамидных клетках гиппокампа на N-метил-D-аспартат (NMDA) рецепторах — подтипе рецепторов глутамата, которые играют важную роль в возникновении и распространении судорог. IL-1 $\beta$ , через активацию IL-1R1 нейронов, вызывает тирозин-киназное фосфорилирование NR2B-субъединицы NMDA-рецепторов (NR2B — субъединица NMDAR, является основным тирозин-фосфорилированным белком в постсинаптической области). Вследствие этого действия NMDA-рецептор-опосредованный Ca<sup>2+</sup> поступает внутрь нейронов, при этом увеличивается уровень IL-1 $\beta$ . Этот эффект играет важную роль в возникновении

эксайтотоксичности и, возможно, в генерации приступов. IL-1 $\beta$  также может подавлять обратный захват глутамата астроцитами и увеличить его высвобождение из глиальных клеток через продукцию TNF $\alpha$ , что приводит к повышению уровня внеклеточного глутамата. Высвобождение глутамата из астроцитов может играть определенную роль в возникновении приступоподобных (seizure-like) состояний (Егорова В. Н. и др., 2012). Кроме того, IL-1 $\beta$  может увеличить высвобождение нейронального глутамата также через активацию индуцируемой в астроцитах синтазы окиси азота. IL-1 $\beta$  также может подавлять ГАМК-опосредованное поступление Cl<sup>-</sup>, таким образом, возможно снижение ингибирующей трансмиссии.

Естественный антагонист IL-1 $\beta$  — рецепторный антагонист рецептора IL-1 $\beta$  (RAIL-1) охарактеризован как мощный антиконвульсант, блокирующий у мышей пилокарпин-индуцированный эпилептический статус и судорожные припадки у лиц с тяжелыми формами эпилепсии. В литературе описывается антиконвульсивное действие RAIL-1 на модели экспериментального эпилептического статуса. В результате было отмечено, что индукция приступов при отсутствии экстрацеребральных факторов способствовала высвобождению IL-1 $\beta$  из клеток мозга и увеличению его биосинтеза в астроцитах. При введении RAIL-1 приступы быстро завершались, кроме того, не развивались повторно и не увеличивалась пронициаемость ГЭБ вследствие припадков (Blumer D. et al., 2004).

В свете современных представлений о молекулярных механизмах иммунных реакций особое место принадлежит интерлейкину-2 (IL-2) — центральному регуляторному цитокину иммунного ответа, который, контролируя пролиферацию, дифференцировку и выживаемость различных клеток-мишеней, определяет тип и длительность иммунных реакций как приобретенного, так и врожденного иммунитета, способствует регенерации нейронов после их повреждения, а также стимулирует пролиферацию и дифференцировку олигодендроцитов. IL-2 экспрессируется как клетками иммунной системы, так и клетками головного мозга, оказывает влияние на электрофизиологическую функцию нейронов, возбуждая реактивность нейронов гипоталамуса и коры головного мозга, регулирует экспрессию генов в клетках гипофиза, активирует парасимпатический отдел вегетативной нервной системы (Егорова В. Н. и др., 2012). В экспериментальных моделях показано, что дефицит IL-2 приводит к повышению продукции нескольких провоспалительных цитокинов, нарушает архитектуру гиппокампа и связан с нарушением поведения у взрослых мышей (Huang Z. et al., 2009).

Нейродегенерация и снижение нейрогенеза гиппокампа являются одним из общих патогенетических механизмов, с которыми связан эпилептогенез. При многих неврологических и психических заболеваниях выявлена дисрегуляция нейротрофинов, в частности, нейротрофического фактора мозга BDNF (brain derived neurotrophic factor). Описаны сниженные уровни BDNF в сыворотке и плазме крови у взрослых больных при депрессии, биполярных расстройствах, болезни Хантингтона, поздних стадиях болезни Альцгеймера, аутизме, рассеянном склерозе и у взрослых больных эпилепсией (LaFrance W.C.J. et al., 2010; Autry A. E. et al., 2012).

В качестве условия, необходимого для эпилептогенеза при kindling-механизме, в последнее время рассматривают повышение экспрессии нейротрофического фактора мозга, которая, в частности, может происходить под влиянием эпилептического припадка и ведет к активации тирозинкиназного рецептора TrkB нейротрофического фактора мозга. Гипотеза, предложенная P. Isackson et al. (1991), отводит важную роль (по крайней мере, при лимбическом эпилептогенезе) активации тирозиновых рецепторов (TrkB), опосредуемой нейротрофическим фактором мозга BDNF, который в нормальных условиях активирует рост дендритов кортикальных нейронов, способствуя тем самым длительной потенциации возбуждающей синаптической трансмиссии (Isackson P. J., 1991). Этот процесс был идентифицирован в мшистых волокнах гиппокампа и показан как необходимый для эпилептогенеза при kindling-модели. С таким пониманием механизма развития эпилепсии связано и то обстоятельство, что ингибирование TrkB-рецепторов может предупреждать эпилептогенез. Антikonвульсивное и нейропротекторное действие также описано у нейротрофических факторов, в частности у BDNF и фактора роста нервов (NGF), которые стимулируют развитие нервных клеток центральной и периферической нервной системы, помогают поддержать выживание существующих нейронов и поощряют рост и дифференцирование новых нейронов и синапсов.

## ВОЗМОЖНОСТИ НЕЙРОИММУНОМОДУЛЯЦИИ ПРИ ЭПИЛЕПСИИ

Трансляционные медицинские технологии предполагают внедрение открытий фундаментальной медицины в клиническую практику. В настоящее время они рассматриваются как наиболее перспективное направление в современной медицине, основанное на новой философии в здравоохранении, направленной на применение инновационных биотехнологий для лечения и профилактики патологических состояний у человека, разработки превентивных мер. Накоплены экспериментальные и клинические данные об эффективности лечения эпилептических синдромов иммуномодуляторами воспаления и другими средствами, подавляющими этот процесс: стероидами, иммуноглобулинами, эндогенным антikonвульсантом — антагонистом рецептора IL-1, блокирующим развитие воспалительных реакций в тканях (Симбирцев А. С., 2011; Librizzi L. et al., 2010; Siv M., 2010). Ряд ведущих исследователей рассматривают возможность использования иммуномодулирующих средств в лечении заболеваний ЦНС в качестве патогенетического воздействия, оказывающего положительное влияние на клинические характеристики болезни, оптимизирующего функционирование всей иммунологической системы. Наиболее перспективными иммунотропными средствами для использования в терапии различных нервно-психических расстройств представляются цитокины, поскольку они продуцируются как иммунокомпетентными клетками, так и клетками нервной системы и являются идентичными для обеих систем.

Рекомбинантные аналоги цитокина ИЛ-2 (rIL-2) в настоящее время нашли широкое применение в клинической практике. Вводимый в организм rIL-2 обеспечивает адекватную и целенаправленную медикаментозную коррекцию иммунных дисфункций, восполняя дефицит эндогенных регуляторных молекул и полностью воспроизводя их эффекты. Высокая иммунокорригирующая эффективность, прогнозируемость и селективность его действия обусловлены наличием на клетках специфических рецепторов и существованием природных механизмов его элиминации. ИЛ-2 и его рекомбинантные препараты обладают способностью активировать процессы репарации и регенерации тканей. Чрезвычайно важна биологическая активность ИЛ-2, связанная с его участием в регуляторных эффектах, обеспечивающих сопряженную работу интегративных биологических систем: иммунной, эндокринной, нервной. Многогранность биологической активности ИЛ-2 позволяет при его применении в качестве иммуномодулятора рассчитывать не только на коррекцию проявлений иммунной недостаточности, но и на оптимизацию функционирования всей системы иммунитета и адекватное ее взаимодействие с другими системами организма. Лекарственные препараты на основе интерлейкина-2 являются мощными средствами патогенетической иммуноориентированной терапии и обладают как прямым замещающим действием, так и оказывают различные индуктивные эффекты (Егорова В. Н. и др., 2012).

Было показано, что сочетанное применение нейролептического препарата и rIL-2 у больных с рано начавшейся шизофренией в первые же недели от начала лечения приводит к существенному снижению выраженности расстройств психического уровня и улучшению когнитивных функций, в первую очередь, внимания и речевых. Положительный клинический эффект наблюдался при значительно сниженных дозах базового лечения нейролептиком. По мнению авторов, полученные положительные результаты, достигнутые при лечении rIL-2, подтверждают общий механизм психонейроиммуномодуляции и коррекции как следствие синергизма воздействия иммуномодуляторов в целом на нервную и иммунологическую системы (Козловская Г. В. и др., 2005). Важным свойством rIL-2 является его способность опосредовать регуляторное воздействие на функции клеток врожденного и приобретенного иммунитета путем восстановления нарушенного баланса между субпопуляциями Т-лимфоцитов — хелперов первого и второго типов и восполнять недостаток эндогенного ИЛ-2 и воспроизводить его эффекты как одного из ключевых компонентов цитокиновой сети. Был установлен положительный эффект rIL-2 при лечении эмоционально-поведенческих и депрессивно-астенических расстройств у больных с сосудистыми поражениями головного мозга, нарушением мозгового кровообращения (Козлов В. К., 2002; Курманова Г. М. и др., 2003; Егорова В. Н. и др., 2004). При применении препарата в комплексной терапии у больных наблюдалась быстрая положительная динамика личностного адаптационного потенциала, оцениваемого по критериям регуляции поведенческих реакций, выраженности астенического синдрома и суицидального риска. В контрольной группе пациентов дезадаптивные проявления астенических реакций сохранялись в течение длительного времени (Егоренкова Е. В. и др., 2003).

## МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ

**Методика иммунобиохимического исследования.** Лабораторное обследование пациента позволяло идентифицировать дефекты компонентов иммунной системы, определить уровень иммунных нарушений, что крайне важно для назначения патогенетического лечения с включением иммуноориентированной терапии. Иммунобиохимическое исследование осуществлялось в Федеральном государственном унитарном предприятии «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства (ФГУП «ГосНИИ ОЧБ» ФМБА России). Кровь для исследования брали у пациентов из локтевой вены утром натощак. Оценка уровней цитокинов в плазме и ЦСЖ, IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, TNF $\alpha$ , RAII-1, растворимого рецептора IL-2 (sIL-2R), BDNF, белка S-100, СРБ в сыворотке крови и ликворе производилась методом твердофазного иммуноферментного анализа, выполняемого 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, мкл матричного раствора и 25 мкл смеси гранул, после чего проводили культивирование в течение ночи при постоянном встряхивании при 4 °С. 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  $\mu$ L стрептавидина-фикоэритрина, культивирование сопровождалось встряхиванием в течение 30 минут при комнатной температуре. Затем плату промывали, добавляя в каждую лунку по 150  $\mu$ L жидкости. С помощью LuminexW 200™ (Luminex Corporation, Остин, Техас) 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 кривой, использующей пошаговое пятикратное разбавление белковых стандартов. Калибровочные кривые строились для каждого аналита программным обеспечением Bio-plex manager, а концентрации в образцах вычислялись по калибровочной кривой. Чувствительность Milliplex исследования колебалась от 0,6 до 15 пг/мл для изученных цитокинов.

Оборудование, использованное в работе и зарегистрированное в «Государственном реестре медицинских изделий» (М., 1996):

- пакет программ MATLAB версии 6.0 и выше, The Math Works, Inc.;
- центрифуга лабораторная ИЛ 1–3, (Россия), рег. № 95/311–149;
- фотометр вертикальный медицинский «Сапфир Ф-002», (Россия), рег. № 92/135–136;
- дозаторы пипеточные одноканальные с варьлируемым объемом (Россия), рег. № 93/199–209.

**Материалы и методы.** Обследовано 160 больных эпилепсией (БЭ), госпитализированных в отделение лечения больных органическими психическими заболеваниями и эпилепсией СПб НМИЦПН им. В. М. Бехтерева, и 30 относительно здоровых доноров (ЗД), не имеющих актуальных соматических и психоневрологических расстройств. Исследуемые пациенты были разделены на 2 группы: первую группу составили 80 БЭ фармакорезистентной эпилепсией (ФРЭ), вторую группу — 80 БЭ с контролируемой эпилепсией (КЭ), у которых при назначении антиэпилептической терапии (АЭТ) приступов не наблюдалось более 12 месяцев.

Иммунобиохимическое исследование осуществлялось в Федеральном государственном унитарном предприятии «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства (ФГУП «ГосНИИ ОЧБ» ФМБА России).

Оценка уровней цитокинов в плазме и цереброспинальной жидкости (ЦСЖ), IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, TNFa, RAIL-1, растворимого рецептора IL-2 (sIL-2R), BDNF в сыворотке крови и ликворе, а также белка S-100 (S100b), СРБ и альбуминов в сыворотке крови производилась методом твердофазного иммуноферментного анализа, выполняемого с помощью флуоресцентной техники Luminox, с использованием мультиплексных магнитных бус (гранул) (панель Multiplex MAP) согласно инструкции изготовителей.

60 пациентам с ФРЭ проведен курс комплексного лечения rIL-2 (Ронколейкин®). Препарат Ронколейкин®, получаемый из клеток продуцента — рекомбинантного штамма непатогенных пекарских дрожжей вида *Saccharomyces cerevisiae*, является полным структурным и функциональным аналогом эндогенного IL-2 и обладает тем же спектром функциональной активности. Препарат вводился в виде раствора подкожно по 1 мл в дозе 1,0 мг (1 000 000 ME rIL-2) через день № 3 60 больным ФРЭ, 20 пациентов продолжали получать только базовую терапию АЭП.

Для оценки клинико-параклинических параметров до и после лечения rIL-2 использовались следующие методы:

- 1) Клинико-психопатологический.
- 2) Клинико-неврологический.
- 3) Нейрофизиологический (ЭЭГ).
- 4) Психометрический метод, включающий в себя батарею психометрических шкал и опросников.
- 5) Оценка эффективности лечения осуществлялась с помощью следующих шкал:
  - общего клинического впечатления о тяжести состояния (Clinical Global Impression — Severity scale (CGI-S), 1976);
  - общего клиническое впечатление об изменении состояния (Clinical Global Impression — Improvement scale (CGI-I), 1976);
  - Национальная Британская шкала частоты и тяжести эпилептических припадков (National Health Seizure Severity Scale — NHS3, 1996).
- 6) Статистическая обработка проводилась с использованием пакетов прикладных программ Microsoft Excel 2010 и SPSS IBM 19.0.

## БИОХИМИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ

Одним из наиболее чувствительных маркеров периферического и центрального воспалительного процесса в организме является острофазный белок СРБ. У больных эпилепсией изучалась концентрация маркеров системного воспалительного ответа СРБ — представителя семейства белков острофазового ответа (acute-phase response proteins), синтез которого в печени индуцируется интерлейкином-6, и альбуминов, имеющих наибольшее значение в клинической практике. В результате обследования больных эпилепсией обнаружен повышенный уровень сывороточных белков-маркеров воспаления — СРБ, альбуминов и нейроантгена S100b. В общей группе больных эпилепсией концентрация СРБ была выше показателей «средней нормы» ( $1,37 \pm 0,74$ ) и составила  $5,79 \pm 0,58$  мг/л, при этом в группе больных с КЭ уровень СРБ составил  $2,89 \pm 0,58$  мг/л, при ФРЭ — в 2,2 раза выше (табл. 1). Для пациентов с резистентной формой эпилепсией с ассоциированными непсихотическими психическими расстройствами характерным было и повышение концентрации альбуминов ( $46,52 \pm 2,3$ ) по сравнению с группой больных КЭ ( $45,82 \pm 5,02$ ) и ЗД ( $43,27 \pm 3,99$ ) (табл. 1).

Таблица 1

### Содержание СРБ, альбуминов и белка S100b в плазме крови больных ФРЭ, КЭ и здоровых доноров

	Альбумины, г/л	СРБ, мг/л	S100b, пг/мл
ЗД (1)	$43,27 \pm 3,99$	$1,37 \pm 0,74$	$0,5 \pm 0,03$
КЭ (2)	$45,82 \pm 5,02$	$2,89 \pm 0,58$	$5,84 \pm 1,42$
ФРЭ (3)	$46,52 \pm 2,3^{*1-3}$	$6,33 \pm 1,20^{**1-3, *1-2}$	$8,92 \pm 2,31^{**1-3, *1-2}$

Примечание: \* —  $p(t) < 0,05$ ; \*\* —  $p(t) < 0,01$ .

Концентрация нейроантгена S100b, маркера деструктивных процессов в ЦНС, также была достоверно выше у больных ФРЭ ( $5,84 \pm 1,42$ ), в сравнении с больными КЭ ( $8,92 \pm 2,31$ ) и ЗД ( $0,5 \pm 0,03$ ) (табл. 1).

Таким образом, в крови БЭ обнаружены повышенные концентрации маркеров системного воспалительного ответа, значения которых были максимальны у больных ФРЭ. СРБ способен активировать эндотелий, усиливая проницаемость ГЭБ для нейтрофилов, что может определить патогенетическую роль этого реактанта острой фазы воспаления в патогенезе эпилептического синдрома. Так как концентрация СРБ и альбуминов в плазме крови имеет высокую корреляцию с активностью и стадией патологического процесса, эти параметры могут быть использованы для диагностики и мониторинга заболевания.



## ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПРИ ЭПИЛЕПСИИ

Результаты исследования уровня про- и противовоспалительных цитокинов в плазме крови и ЦСЖ у больных эпилепсией и относительно здоровых доноров представлены в таблице 2.

Таблица 2

### Цитокины в плазме крови и ЦСЖ здоровых лиц и больных эпилепсией

Цитокины (пг/мл)	ЗД Ме (min-max)	БЭ Ме (min-max)	p (U)
В плазме крови			
IL-1 $\beta$	0,36 (0–2,1)	316,5 (172–399)	< 0,01
RAIL-1	420 (300–500)	38 (0–185)	< 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	0,94 (0–2,4)	157 (0–372)	< 0,01
IL-10	0 (0–9)	0 (0–19)	—
В цереброспинальной жидкости			
IL-1 $\beta$	н.д.	77,1 $\pm$ 17,3	—
RAIL-1	н.д.	0	—
IL-8	н.д.	6,4 $\pm$ 2,5	—

Примечание: н. д. — нет данных.

В результате проведенного исследования уровня цитокинов в плазме крови было установлено, что медиана провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и IL-8 у больных эпилепсией (316,5  $\pm$  14,0 пг/мл и 157,1  $\pm$  99,4 пг/мл) существенно превышала показатели здоровых лиц (0,36  $\pm$  0,01 пг/мл и 0,94  $\pm$  0,2 пг/мл). В ЦСЖ также выявлено статистически значимое повышение уровня цитокинов IL-1 $\beta$  и IL-8, медиана концентрации которых составила 77,1  $\pm$  17,3 пг/мл и 6,4  $\pm$  2,5 пг/мл, соответственно. Однако средние значения концентрации рецепторного антагониста RAIL-1 у больных эпилепсией были существенно ниже в плазме крови и не определялись (то есть концентрация была ниже 10 пг/мл, величины, характеризующей чувствительность используемых ИФА тест-систем) в ЦСЖ пациентов. При этом медиана концентрации RAIL-1 (420  $\pm$  116 пг/мл) в плазме крови в группе здоровых доноров была существенно выше, чем в плазме крови больных эпилепсией (38  $\pm$  13 пг/мл) (p < 0,01).

Проведенное 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 антицитокина RAIL-1. Наличие повышенного уровня цитокинов IL-1 $\beta$  и IL-8 в ЦСЖ у БЭ свидетельствует о нарушении ГЭБ и существовании системного воспалительного процесса, а отсутствие RAIL-1 — о снижении защитных факторов воспаления в ликворе. 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 интерлейкина-2 (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 (Mahendran R. et al., 2003).

Учитывая достоверное различие уровня провоспалительного цитокина IL-1 $\beta$  между основной группой БЭ и ЗД, было предположено, что данные показатели могут быть информативны при различных вариантах течения эпилепсии. При определении цитокинов семейства IL-1 $\beta$  у БЭ с фармакорезистентным и контролируемым течением выявлено, что показатели IL-1 $\beta$  у больных с ФРЭ как в плазме, так и в ликворе в 2,5 раза превышали аналогичные показатели у больных с КЭ (табл. 3).

Таблица 3

**Цитокины семейства IL-1 у больных с ФРЭ и КЭ**

Группа/ Параметры	КЭ	ФРЭ	ЗД	Р (U-тест)
	1	2	3	
	Me (Min–Max)			
IL-1 $\beta$ в плазме крови (пг/мл)	290 (172–391)	320 (210–399)	0,36 (0–2,1)	P <sub>1-3</sub> < 0,02 P <sub>2-3</sub> < 0,01
RAIL-1 в плазме крови (пг/мл)	50 (0–185)	0 (0–188)	420 (0–799)	P <sub>1-2</sub> < 0,05
Коэф. RAIL-1/IL-1 $\beta$	0,17 (0–4,9)	0,12 (0–0,5)	1,28 (0–10,4)	P <sub>1-2</sub> < 0,04 P <sub>1-3</sub> < 0,01 P <sub>2-3</sub> < 0,01
IL-1 $\beta$ в ЦСЖ (пг/мл)	63 (0–167)	78 (0–278)	н. д.	
RAIL-1 в ЦСЖ (пг/мл)	27 (0–278)	0	н. д.	

Значение RAIL-1 у больных ФРЭ было низким — 0 (0–188) пг/мл в плазме крови и не определялось в ЦСЖ. Напротив, в группе больных КЭ медиана концентрации этого цитокина была вполне определима и составила 50 пг/мл в плазме крови и 27 пг/мл — в ликворе. Таким образом, в группе больных с КЭ показатели рецепторного антагониста IL-1, как и соотношение концентраций RAIL-1 к IL-1 $\beta$  0,17 (0–4,9), были существенно выше, чем при ФРЭ, что свидетельствует о восстановлении цитокинового баланса и активации компенсаторных процессов.

При оценке взаимосвязь уровня ряда иммунных параметров (IL-1 $\beta$ , IL-8, RaIL-1 и BDNF) с выраженностью НПП у больных с ФРЭ, наибольшие изменения иммунного статуса обнаружены у больных с нарушениями депрессивного регистра, установлена прямая корреляционная связь между иммунным дисбалансом и наличием депрессивных расстройств ( $r = 0,67$ ;  $p < 0,01$ ) ( $r = 0,71$ ;  $p < 0,01$ ) ( $r = -0,83$ ;  $p < 0,01$ ) (табл. 4).

Таблица 4

**Уровень про- и противовоспалительных цитокинов у больных с ФРЭ в зависимости от балльной выраженности депрессивных переживаний пациентов (по самоопроснику Бека)**

Результат теста Бека	IL-1 (пг/мл)	IL-8 (пг/мл)	RaIL-1 (пг/мл)
0–19 $\pm$ 10 (отсутствие или легкая выраженность депрессивных переживаний)	213 $\pm$ 61,0	93 $\pm$ 21,3	337 $\pm$ 84,7
26 $\pm$ 10 (умеренная выраженность депрессивных переживаний)	271 $\pm$ 45,2	167 $\pm$ 51,0	48 $\pm$ 13,4
30 $\pm$ 10 (тяжелая выраженность депрессивных переживаний)	314 $\pm$ 93,1	260 $\pm$ 99,4	29,86 $\pm$ 6,3

**БОЛЕЗНЬ-МОДИФИЦИРУЮЩАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ**

Полученные результаты показали низкие уровни IL-2 и sIL-2R в плазме крови обследованных БЭ, что свидетельствует о том, что, несмотря на наличие зарегистрированного воспалительного процесса, повышения продукции IL-2 в организме больных, по-видимому, не наблюдается, что позволило предположить, что назначение экзогенного цитокина в виде препарата rIL-2h может обеспечить снижение активности процесса воспаления и связанного с ним эпилептогенного эффекта.

После проведения короткого курса добавочной терапии Ронколейкином® или без него уровни цитокинов в обеих группах БЭ IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6 и RAIL-1 достоверно не изменились, за исключением IL-8, концентрация которого после

лечения значительно снизилась ( $28,7 \pm 15,56$  — до лечения препаратом rIL-2;  $6,3 \pm 1,4$  мкг / мл — после,  $p < 0,01$ ). Некоторое повышение уровня TNF $\alpha$  отмечено в группе больных, получавших только АЭТ. В группе БЭ, получавшей препарат rIL-2h, достоверно снизилась только концентрация IL-8, хемоаттрактивного цитокина, привлекающего и активирующего нейтрофильные гранулоциты — основную популяцию лейкоцитов, проникающих в ткань мозга при эпилепсии (табл. 5).

Таблица 5

**Цитокины и факторы роста в плазме крови больных ФРЭ до и после лечения препаратом rIL-2**

Цитокины, пг/мл	До лечения (n = 80)	Без лечения (n = 20)	После лечения (n = 60)	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	$4448,9 \pm 780,4$	$3368,9 \pm 990,9$	$7022,6 \pm 547,8$	$p(U)_{2-3} < 0,01$

Наиболее значительными оказались изменения в продукции BDNF, концентрация которого после лечения в группе, получавшей препарат rIL-2h, достоверно повысилась ~ в 1,6 раза (с 4448 пг/л до лечения до 7023 пг/л после лечения;  $p < 0,01$ ). В группе больных, не получавших Ронколейкин®, концентрация BDNF имела тенденцию к снижению и составила 3369 пг/л.

Концентрация белка S100b у пациентов после курса лечения rIL-2 достоверно снизилась с 8,92 пг/мл до 5,84 пг/мл ( $p < 0,01$ ), что может свидетельствовать об уменьшении активности нейродеструктивных процессов, сопровождающихся повышенным выходом нейроантигенов в плазму крови вследствие нарушения проницаемости ГЭБ.

После лечения препаратом rIL-2h отмечается достоверное улучшение ряда клинических показателей у БЭ: у 86,3% — 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 коррелировало с уменьшением пароксизмальной активности на ЭЭГ (Липатова Л. В. и др., 2015).

При оценке степени тяжести клинического состояния у пациентов с ФРЭ, которым была назначена комплексная терапия с применением препарата рекомбинантного IL-2 человека, по шкале CGI-S отмечается положительная динамика (табл. 6).

Таблица 6

**Распределение больных с ФРЭ в зависимости от оценки степени тяжести клинического состояния по шкале CGI-S до и после лечения препаратом rIL-2h**

Степень тяжести клинического состояния	До лечения		После лечения		φ	Р
	абс	%	абс	%		
Слабо выраженная	4	6,7	33	55,0	6,282	< 0,001
Умеренная	30	50,0	23	38,3	1,293	> 0,05
Выраженная	21	35,0	4	6,8	4,064	< 0,001
Сильно выраженная	5	8,3	0	0	—	—
Итого	60	100,0	60	100,0		

Примечание: φ — критерий Фишера; различия достоверны при  $p < 0,05$ .

В результате исследования эффективности применения препарата рекомбинантного IL-2 человека в комплексной терапии выявлены статистически значимые различия в выраженности симптомов тревоги и депрессии до и после курса терапии с применением rIL2 в группе с ФРЭ, представленные в таблице 7.

Таблица 7

**Уровень тревоги и депрессии по психометрическим шкалам до и после лечения больных с ФРЭ препаратом rIL-2h**

	До лечения		После лечения		Т	Р
	М ± m	СО	М ± m	СО		
Шкала Бека	17,53 ± 1,19	9,18	13,97 ± 0,93	7,2	56,5000	< 0,001
HADS_D	8,58 ± 0,61	4,69	7,62 ± 0,48	3,72	120,5000	< 0,001
HADS_A	9,5 ± 0,56	4,34	8,12 ± 0,43	3,31	47,0000	< 0,001
HAM-A	23,72 ± 0,97	7,53	18,95 ± 0,79	6,15	0,0000	< 0,001
MADRS	16,32 ± 1,03	8,01	14,63 ± 0,88	6,8	24,0000	< 0,001

Примечание: М ± m — среднее значение, СО — стандартное отклонение, Т — критерий Вилкоксона, р — уровень статистической значимости.

Таким образом, представленные данные подтверждают наличие воспалительного процесса при эпилепсии, проявляющегося нарушением баланса про- и противовоспалительных цитокинов, повышением содержания белков воспаления (альбуминов, СРБ), активацией процессов нейродегенерации. Введение экзогенного цитокина — рекомбинантного IL-2 человека (Ронколейкин®) в виде короткого курса приводит к улучшению клинико-иммунологических, нейрофизиологических показателей, снижению выраженности тревожных и депрессивных нарушений, что доказывает эффективность нейроиммунотерапии у больных эпилепсией с ассоциированными НПП.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У больных эпилепсией имеется повышенное содержание в плазме крови и ликворе маркеров воспаления и нейродегенерации (С-реактивного белка, альбуминов, белка S-100, провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-8, TNF- $\alpha$ ), а также дисбаланс регуляторных цитокинов (RaIL-1, sIL-2R), что свидетельствует о наличии системного воспалительного процесса, максимально выраженного у больных ФРЭ. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что цитокины интерлейкинового ряда являются важным звеном, запускающим каскад структурно-функциональных повреждений нейронов и оказывающим влияние на формирование терапевтической резистентности при эпилепсии.

Применение препарата рекомбинантного человеческого интерлейкина-2 (rIL-2h), являющегося центральным регулятором цитокинового иммунного ответа, у больных ФРЭ в качестве адъювантной (добавочной) к проводимой базовой антиэпилептической терапии позволило достичь статистически значимого улучшения контроля припадков, позитивных изменений картины ЭЭГ, что позволяет рекомендовать этот метод лечения как новый перспективный подход к терапии ФРЭ, направленный на восстановление биологических адаптационных возможностей при эпилепсии.

Больным фармакорезистентной эпилепсией с ассоциированными непсихическими психическими расстройствами рекомендовано проводить курс иммунотерапии. Рекомбинантный IL-2 (Ронколейкин<sup>®</sup>) при эпилепсии следует применять в виде раствора подкожно по 1 мл в дозе 1,0 мг (1 000 000 МЕ rIL-2) через день № 3.

### Список литературы

1. *Егоренкова Е.В., Розентул А.Ш., Смолянинов А.Б.* Индивидуальные психологические особенности больных цереброваскулярной болезнью на фоне цитокиновой терапии // *Нейроиммунопатология.* — 2003. — Т. 1, № 2. — С. 49–50.
2. *Егорова В.Н., Попович А.М., Бабаченко И.В. и др.* Интерлейкин-2: обобщенный опыт клинического применения: юбилейное издание к 20-летию ООО «Биотех». — СПб.: Ультра Принт, 2012. — 98 с.
3. *Егорова В.Н., Попович А.М.* Ронколейкин<sup>®</sup>: результаты клинических испытаний. — СПб.: Альтернативная полиграфия, 2004. — 48 с.
4. *Козлов В.К.* Ронколейкин, биологическая активность, иммунокорректирующая эффективность и клиническое применение. — СПб.: Изд-во СПбГУ, 2002. — 84 с.
5. *Курманова Г.М., Рамазанова Ш.Х., Мажитова З.Х.* Опыт применения Ронколейкина у детей, больных бронхиальной астмой, в приступный период. // *Медицинская иммунология.* — 2003. — Т. 5, № 3–4. — С. 233.
6. *Мазо Г.Э., Дубинина Е.Е., Крижановский А.С.* Воспаление и депрессия: роль окислительного стресса, гормональных и клеточных факторов // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* — 2014. — № 1. — С. 80–84.
7. *Сепиашвили Р.И.* Основы физиологии иммунной системы. — М.: Медицина-Здоровье, 2003. — 240 с.

8. *Симбирцев А.С.* Интерлейкин-1. Физиология. Патология. Клиника. — СПб.: Фолиант, 2011.
9. *Autry A.E., Monteggia L.M.* Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders // *Pharmacol. Rev.* — 2012. — Vol. 64, N 2. — P. 238–258.
10. *Barbosa de Sousa J.M., Fialho G.L., Wolf P. et al.* Determining factors of electrocardiographic abnormalities in patients with epilepsy: A case-control study // *Epilepsy Research.* — 2017. — Vol. 129. — P. 106–116.
11. *Blumer D., Montouris G., Davies K.* The interictal dysphoric disorder: recognition, pathogenesis, and treatment of the major psychiatric disorder of epilepsy // *Epilepsy Behav.* — 2004. — Vol. 5. — P. 826–840.
12. *Diamond M.L., Ritter A.C., Failla M.D. et al.* IL-1b associations with posttraumatic epilepsy development: A genetics and biomarker cohort study // *Epilepsia.* — 2014. — Vol. 55, N 7. — P. 1109–1119. doi: 10.1111/epi.12628
13. *Huang Z., Dauer D.J., Ha G.K. et al.* Interleukin-2 deficiency-induced T cell autoimmunity in the mouse brain // *Neuroscience letters.* — 2009. — Vol. 463, N 1. — P. 44–48.
14. *Isackson P.J., Huntsman M.M., Murray K.D., Gall C.M.* BDNF mRNA expression is increased in adult rat forebrain after limbic seizures: temporal patterns of induction distinct from NGF // *Neuron.* — 1991. — Vol. 6. — P. 937–948.
15. *LaFrance W.C. Jr., Leaver K., Stopa E.G. et al.* Decreased serum BDNF levels in patients with epileptic and psychogenic nonepileptic seizures // *Neurology.* — 2010. — Vol. 75, N 14. — P. 1285–1291.
16. *Leonard B., Maes M.* Mechanistic explanations how cell-mediated immune activation, inflammation and oxidative and nitrosative stress pathways and their sequels and concomitants play a role in the pathophysiology of unipolar depression // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews.* — 2012. — Vol. 36, N 2. — P. 764–785.
17. *Maes M., Galecki P., Chang Y.S., Berk M. et al.* A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro) degenerative processes in that illness // *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry.* — 2011. — Vol. 35, N 3. — P. 676–692.
18. *Scheffer I.E., French J., Hirsch E. et al.* Classification of the epilepsies: New concepts for discussion and debate: Special report of the ILAE Classification Task Force of the Commission for Classification and Terminology *Epilepsia Open*, \*\* (\*):1–8, 2016 doi: 10.1002/epi4.5
19. *Siv M.* Role of Inflammation in Epilepsy and Treatment with IVIg // *Wingate University School of Pharmacy*, 5.17. 2010. URL: <http://www.ice-epilepsy.org/role-of-inflammation-in-epilepsy-and-treatment-with-ivig.html>
20. *Vezzani A., Moneta D., Richichi C. et al.* Functional role of inflammatory cytokines and anti-inflammatory molecules in seizures and epileptogenesis // *Epilepsia.* — 2002. — Vol. 43 (Suppl. 5). — P. 30–35.
21. *Vezzani A., Balosso S., Ravizza T.* The role of cytokines in the pathophysiology of epilepsy // *Brain, Behavior and Immunity.* — 2008. — Vol. 22, N 6. — P. 797–803.
22. *Vezzani A., Moneta D., Richichi C. et al.* Functional role of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in seizures // *Adv. Exp. Med. Biol.* — 2004. — Vol. 548. — P. 123–133.
23. *Zou J.Y., Crews F.T.* TNF alpha potentiates glutamate neurotoxicity by inhibiting glutamate uptake in organotypic brain slice cultures: neuroprotection by NF kappa B inhibition // *Brain Res.* — 2005. — Vol. 1034, N 1–2. — P. 11–24.

## **Список сокращений**

BDNF (Brain derived neurotrophic factor) — нейротрофический фактор мозга

BDI (Beck Depression Inventory) — шкала оценки депрессии Бека

CGI (Clinical Global Impression) — шкала общего клинического впечатления

CGI-I (Clinical Global Impression — Improvement scale) — шкала общего клинического впечатления об изменении состояния

CGI-S (Clinical Global Impression — Severity scale) — шкала общего клинического впечатления о тяжести состояния

IL — интерлейкин

IL-1R1 — рецептор интерлейкина-1

NMDA — N-метил-D-аспартат

RaIL-1 — рецепторный антагонист интерлейкина-1

rIL-2 — рекомбинантный интерлейкин-2

rIL-2h — рекомбинантный человеческий интерлейкин-2

sIL-2R — растворимый рецептор интерлейкина-2

TNF $\alpha$  — фактор некроза опухоли альфа

TrkB — тирозинкиназный рецептор

АЭП — антиэпилептические препараты

БЭ — больные эпилепсией

ГЭБ — гематоэнцефалический барьер

ЗД — здоровые доноры

КЭ — контролируемая эпилепсия

НПР — непсихотические психические расстройства

СРБ — С-реактивный белок

ФРЭ — фармакорезистентная эпилепсия

ЦНС — центральная нервная система

ЦСЖ — цереброспинальная жидкость

ЭЭГ — электроэнцефалография