

Список сокращений.....	7
Введение.....	8
Очерк 1. Нейроиммуноэндокринные молекулярно-клеточные взаимодействия в головном мозге в норме	10
1.1. Эволюция представления о нейроиммуноэндокринных взаимодействиях	10
1.2. Цитокины и их рецепторы в головном мозге.....	15
1.3. Принципы анализа системных нейроэндокриноиммунных взаимодействий.....	20
1.4. Нейроиммуноэндокринные взаимодействия: гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось	21
1.5. Нейроиммуноэндокринные взаимодействия: гипоталамо-гипофизарно-гонадная ось	25
1.6. Нейроиммуноэндокринные взаимодействия: гипоталамо-гипофизарно-тиреоидная ось.....	28
1.7. Нейроиммуноэндокринные взаимодействия: роль других сигнальных молекул.....	28
Цветные иллюстрации	33
Очерк 2. Нейроиммуноэндокринные молекулярно-клеточные взаимодействия в головном мозге при болезни Альцгеймера	49
<i>(в соавторстве с Т. В. Кветной, В. А. Зуевым, Н. А. Красковской)</i>	
2.1. История возникновения термина «болезнь Альцгеймера»	50
2.2. Эпидемиологические исследования болезни Альцгеймера	51
2.3. Стадии болезни Альцгеймера	52
2.4. Диагностика болезни Альцгеймера	54
2.5. Митохондрии — ключевое звено патогенеза болезни Альцгеймера.....	55
2.6. Экспрессия сигнальных молекул в мозге и их роль в патогенезе болезни Альцгеймера	57
2.7. Диагностика болезни Альцгеймера: аутопсийное исследование и изучение периферических тканей.....	74
2.8. Внеозговая экспрессия сигнальных молекул, участвующих в патогенезе болезни Альцгеймера	75
2.8.1. Фибробласты кожи.....	75
2.8.2. Тромбоциты и лимфоциты периферической крови.....	80
2.8.3. Тучные клетки	82
2.8.4. Спинномозговая жидкость, плазма крови, моча	83

Очерк 3. Нейроиммуноэндокринные молекулярно-клеточные взаимодействия в головном мозге при болезни Хантингтона	87
<i>(в соавторстве с В. А. Зуевым, Е. О. Кукановой)</i>	
3.1. Болезнь Хантингтона: история открытия заболевания.....	88
3.2. Клинические проявления болезни Хантингтона	88
3.3. Физиологические аспекты болезни Хантингтона.....	89
3.4. Диагностика болезни Хантингтона	91
3.5. Лечение болезни Хантингтона: современное состояние проблемы	93
3.6. Генетические аспекты болезни Хантингтона	95
3.7. Модели исследования болезни Хантингтона.....	100
3.8. Нейрохимические изменения при болезни Хантингтона.....	101
3.9. Разработка методологии изучения молекулярно-клеточных механизмов развития болезни Хантингтона.....	103
3.10. Разработка методов таргетного лечения болезни Хантингтона.....	108
Очерк 4. Нейроиммуноэндокринные взаимодействия в головном мозге при болезни Паркинсона	116
4.1. Симптомы болезни Паркинсона	116
4.2. Патогенез болезни Паркинсона.....	117
4.3. Диагностика болезни Паркинсона.....	119
4.4. Патогенетические и молекулярно-клеточные подходы к лечению болезни Паркинсона.....	120
Очерк 5. Мелатонин и нейродегенеративные процессы	127
<i>(в соавторстве с Т. В. Кветной, Т. С. Зубаревой)</i>	
5.1. Мелатонин — молекулярный маркер старения и заболеваний, ассоциированных с возрастом	127
5.2. Корреляция циркадианных ритмов синтеза мелатонина с развитием нейродегенеративных заболеваний.....	131
<i>(в соавторстве с S. Rosales-Corral, D. Xi. Tan, L. C. Manchester, Z. Zhou)</i>	
5.3. Экстрапинеальный мелатонин: роль в физиологических процессах в норме и при патологии.....	138
Очерк 6. Прижизненная молекулярная диагностика нейродегенеративных заболеваний (методологические аспекты) Life-time diagnostics of neurodegenerative diseases — methodological aspects	146
Заключение	156
Рекомендуемая литература	159

1.6. Нейроиммуноэндокринные взаимодействия: гипоталамо-гипофизарно-тиреоидная ось

Через 4–24 часа после иммунизации эритроцитами барана в гипоталамусе крыс обнаруживается повышение уровня mRNA тиролиберина и рецепторов тиролиберина. При этом уровень TSH в крови не меняется, но возрастает уровень PRL. Олигонуклеотиды, комплементарные к mRNA тиролиберина, при внутрижелудочковом введении ингибируют секрецию PRL и снижают титр вырабатываемых антител.

При введении тиролиберина *in vivo* продемонстрировано усиление бляшкообразования спленоцитами и увеличение выработки антител. Этот эффект блокируется антителами к β -субъединице TSH, что отражает реализацию действия тиролиберина через индукцию образования TSH.

TSH может усиливать как T-зависимую, так и T-независимую выработку антител *in vitro* при присутствии его в культуре в течение 1–2 суток. Для реализации эффектов TSH *in vivo* на гуморальный иммунитет необходимы T-лимфоциты. Показано, что TSH может непосредственно действовать на моноциты, макрофаги, дендритные клетки, а также нативные периферические T-клетки. Продемонстрирована способность дендритных клеток и моноцитов продуцировать биологически активный TSH на ранних стадиях иммунного ответа на антиген. TSH может синтезироваться T-лимфоцитами периферической крови после их стимуляции митогенами, а также в присутствии тиролиберина.

Тиролиберин непосредственно влияет на пролиферацию лимфоцитов и развитие T-лимфоцитов в желудочно-кишечном тракте. У человека уровень IL-2 в сыворотке значительно возрастал в течение стандартного тиролиберинового теста.

TSH модулирует иммунные функции, не только действуя на лимфоидные клетки, но и стимулируя секрецию тиреоидных гормонов. Лимфоциты способны превращать тироксин (T4) в трийодтиронин (T3). Гипотиреозидизм обычно (но не всегда) связан с иммунодефицитом. У мышей с нокаутным геном рецептора к T3 подавлен тимопоэз.

1.7. Нейроиммуноэндокринные взаимодействия: роль других сигнальных молекул

Мелатонин (MT). Является ключевой молекулой в регуляции циркадианных ритмов у позвоночных. Хелперные T-клетки экспрессируют G-протеиновые двусторонние мембранные, а возможно, также и ядерные рецепторы к мелатонину. MT стимулирует высвобождение Th-1-цитокинов, таких как IFN- γ и IL-2, а также новых опиоидных цитокинов, обладающих кросс-реактивностью, как с IL-4, так и с динорфином B. Было обнаружено, что MT усиливает выработку IL-1, IL-6 и IL-12 моноцитами челове-

ка. В целом MT осуществляет иммуностимулирующий эффект и влияет на гемопоэз, возможно, путем индуцирования опиоидов, которые действуют на к-опиоидные рецепторы, находящиеся на макрофагах стромы костного мозга. IFN- γ и колониестимулирующие факторы, по-видимому, влияют на выработку MT пинеальной железой.

В характере иммуномодулирующего действия MT есть одна интригующая особенность: он эффективен только в том случае, если введен в организм в определенное время суточного ритма животных. Связь иммунной системы со световым режимом, наличие специфических рецепторов на T-лимфоцитах может объяснить некоторые аспекты суточной и сезонной ритмичности иммунных ответов.

Известно, что некоторые заболевания имеют сезонную специфику, например астма, психические расстройства и другие. Можно предположить, что MT, как основной регулятор биологических ритмов, является синхронизирующим молекулярным фактором между иммунной и нейроэндокринной системами.

Фактор роста нервов и нейротропины. Фактор роста нервов (NGF) впервые был идентифицирован в подчелюстных железах мышей как фактор роста для сенсорных и симпатических ганглиев. NGF принадлежит к семейству нейротропинов, куда входят производимый в мозге нейротропин (BDNF) и нейротропин-3 (NTF-3). Имеются низкоаффинные нейротропиновые рецепторы (P25) и высокоаффинные нейротропиновые рецепторы.

Макрофаги человека экспрессируют *trkA*, а NGF является аутокринным фактором роста для этих клеток. Тимус и лимфоузлы экспрессируют *trkA*, а селезенка — *trkB*; эти рецепторы локализованы главным образом в строме этих органов. Экспрессия этих рецепторов характерна и для спленоцитов и тимоцитов. В-лимфоциты и антиген-представляющие клетки (фолликулярные дендритные клетки) также экспрессируют рецепторы для NGF. NGF стимулирует рост и функцию тучных клеток, В- и T-лимфоцитов; стимулирует выработку IgM и IgG, которая ингибируется IL-4. NGF ингибирует индукцию IgE IL-4.

T- и В-лимфоциты, макрофаги и тучные клетки синтезируют биологически активный NGF. NGF способствует росту гемопоэтических колоний и стимулирует хемотаксическую и фагоцитарную активность полиморфноядерных лейкоцитов, что позволяет предполагать способность NGF модифицировать воспалительную реакцию (на некоторых экспериментальных моделях *in vivo* зарегистрировано, что NGF подавляет воспаление). Недавние наблюдения показывают, что NGF иммунного происхождения обеспечивает защиту нервной системы и других тканей организма при воспалительных реакциях. Этот феномен подразумевает существование благоприятных «аутоиммунных» реакций.

Лептин (LEP). LEP продуцируется главным образом жировыми клетками (адипоцитами, или липоцитами). По своей структуре LEP принадле-

жит к семейству GLH/СТК и связывается рецепторами цитокинов класса I (Ob-R). Известны две изоформы рецепторов: Ob-Ra и Ob-Rb.

Лептин регулирует энергетический метаболизм, репродуктивную функцию, развитие и функционирование лимфатической ткани. В нормальных физиологических условиях секреция лептина регулируется инсулином, кортизолом и половыми стероидами (в основном тестостероном). У крыс центрально введенный LEP подавлял митогенную реакцию лимфоцитов селезенки, что опосредовалось CRF-симпатической активацией.

Лептин играет важную роль в координации пищевого состояния и функции Т-клеток. У долго голодавших мышей уровень LEP был снижен и отмечалась повышенная чувствительность к эндотоксиновому шоку. У мышей с ограниченным доступом к пище реакция на введение LPS характеризовалась резко повышенной выработкой TNF и ослабленной — кортикостерона. Эта реакция нормализовалась с применением LEP.

При острофазных реакциях (например, сепсисе) уровень LEP в сыворотке быстро повышается. Это повышение вызывают цитокины, особенно TNF- α . LEP оказывает ингибирующий эффект на выработку глюкокортикоидов и IL-6. Уровень LEP в крови положительно коррелирует с выживаемостью пациентов с септициемией. LEP стимулирует выработку антагониста IL-1-рецептора (IL-1ra), который защищает мышей от токсического действия LPS.

В клетках глии мышей LEP стимулирует выработку IL-1. В экспериментах на животных экзогенный LEP способствовал как повышению фагоцитоза, так и выработке провоспалительных цитокинов. Лептин также участвует в заживлении ран и ангиогенезе.

Катехоламины и ацетилхолин. Различные клетки иммунной системы экспрессируют адренергические рецепторы β -типа. Бета-адренергические рецепторы ингибируют аллергические и астматические реакции и в целом подавляют различные иммунные процессы, к которым относятся лимфоидные реакции на митогены и антигены, высвобождение гистамина из лейкоцитов и тучных клеток, а также кожные реакции на антигены и гистамин.

In vivo адреналин вызывает лейкоцитоз и эозинофилию, вслед за которой наступает эозинопения. По крайней мере некоторые из этих эффектов, сопровождающиеся перераспределением лейкоцитов, обусловлены высвобождением глюкокортикоидов. Норадреналин ингибирует высвобождение гистамина из лейкоцитов и дегрануляцию тучных клеток, а также оказывает различные эффекты на антителообразование. У мышей подавление симпатической передачи резерпином резко увеличивало выработку TNF. В этом процессе участвовали нейронные $\alpha 2$ - и макрофагальные β - и $\alpha 2$ -рецепторы. У здоровых добровольцев катехоламины подавляли индуцированную выработку TNF- α , IL-6 и IL-1, но повышали уровень IL-10. У больных затянувшимся сепсисом катехоламины подавляли выработку TNF- α и IL-6, а на продукцию IL-1 и IL-10 влияния не оказывали. В настоящее время влияние

периферической и центральной катехоламиновых систем на регуляцию иммунитета является предметом интенсивных исследований.

Ацетилхолин влияет на иммунные процессы с помощью никотиновых и мускариновых рецепторов. Холинергические агенты усиливают иммунные процессы, включая митогенез лимфоцитов, цитотоксические реакции, высвобождение гистамина и других медиаторов из тучных клеток. Эти эффекты опосредуются мускариновыми рецепторами. У больных аллергией наблюдается повышенная чувствительность к холинергической стимуляции. Показано участие холинергических механизмов в развитии вызванной нагрузкой анафилаксии.

Вещество/субстанция P (SP). SP опосредует передачу болевых ощущений сенсорными нервными волокнами типа C и является основным медиатором нейрогенного воспаления. Тимocyты, B- и T-лимфоциты, макрофаги, тучные клетки и астроциты имеют SP-рецепторы.

SP способна индуцировать дегрануляцию тучных клеток слизистых оболочек и кишечника, может вызывать выпотевание плазмы и бронхokonстрикцию. SP оказывает прямое действие на лимфоциты, макрофаги, эозинофилы и нейтрофилы. Она способствует пролиферации лимфоцитов, выработке лимфокинов и оказывает различные влияния на секрецию иммуноглобулина. В эозинофилах SP усиливает экспрессию Fc- γ - и ϵ -рецепторов и снижает экспрессию C3b-рецепторов. SP стимулирует интенсивность дыхания, реакции хемотаксиса и фагоцитоза у полиморфноядерных лейкоцитов.

SP стимулирует высвобождение PGE2 и коллагеназы из ревматоидных синовиоцитов, а также PGE и тромбосана B2 из астроцитов. SP индуцирует выработку IL-3 и GM-CSF клетками костного мозга, что отчасти опосредуется интерлейкинами IL-1 и IL-6, продукцию которых в костном мозге также индуцирует SP.

Пептид, связанный с геном кальцитонина (CGRP). Рецепторы к CGRP функционально связаны с аденилатциклазой и присутствуют на зрелых лимфоцитах, макрофагах. Показано, что CGRP может синтезироваться в тучных клетках, клетках костного мозга, а также в T-лимфоцитах тимуса и мезентериальных лимфоузлов.

CGRP индуцирует выброс веществ из тучных клеток, вызывает медленное возникновение выраженной эритемы кожи и расширение сосудов. В мононуклеарных фагоцитах человека CGRP препятствует презентации антигенов и индуцируемой IFN- γ выработке H₂O₂. Проплиферация лимфоцитов также ингибируется CGRP.

В коже человека нервные волокна, содержащие CGRP, связаны с клетками Лангерганса. CGRP играет важную роль в регуляции иммунной функции кожи. Он ингибирует презентацию антигенов клетками Лангерганса у человека и индукцию реакций контактной гиперчувствительности к гаптанам у мышей.

Локально примененный CGRP усиливает воспалительную реакцию кожи на аллергены и раздражители и поддерживал процесс сенсибилизации. В мышечных тимоцитах CGRP ингибирует экспрессию NFκB и способствовал апоптозу.

Соматостатин (ST). Соматостатин представляет собой нейропептид, который вырабатывается в мозге и связывается с пятью различными рецепторами (SSTR): к ST, SP, VIP и CGRP. Предполагается, что ST вместе с одним из этих рецепторов, SSTR2, экспрессируется в тимусе мышей, хотя их точная локализация окончательно не определена. Обнаружено, что ST сильно экспрессирован как в кортикальных, так и в медуллярных эпителиальных клетках, тогда как его рецептор SSTR2 экспрессирован на тимоцитах.

Рецепторы для ST имеются на Т- и В-лимфоцитах, а также на тучных клетках. ST действует как антагонист SP и проявляет благотворное влияние в моделях аутоиммунных заболеваний и хронического воспаления. ST ингибирует IgE-зависимое высвобождение медиатора базофилами и тучными клетками человека. Он также ингибирует пролиферацию лимфоцитов, индуцированную эндотоксином лейкоцитоз, секрецию IgA, выработку IFN-α и повреждает макрофаги. ST оказывает различные воздействия на антителозависимую цитотоксичность.

Вазоактивный интестинальный пептид (VIP) и пептид, активирующий аденилатциклазу гипофиза (PACAP). Рецепторы к ним имеются на моноцитах и лимфоцитах; оба пептида вырабатываются клетками иммунной системы. VIP регулирует транспорт Т-клеток в слизистую лимфоидную ткань, он ингибирует пролиферацию лимфоцитов и оказывает различные эффекты на секрецию иммуноглобулинов и на опосредованную естественными киллерами цитотоксичность.

При развитии воспаления VIP, выделяясь из пептидергических нервных окончаний в очаге воспаления или из иммунокомпетентных клеток, ингибирует продукцию таких провоспалительных факторов, как TNF-α, IL-6, IL-12, оксид азота, и, наоборот, стимулирует выработку противовоспалительного цитокина IL-10. Вслед за этим включается сложный и многообразный каскад синтеза и метаболизма сигнальных молекул, основными моментами которого являются следующие: VIP индуцирует секрецию IgA путем «переключения» изотипов и вместе с PACAP ингибирует перенос NFκB в ядра стимулированных макрофагов, подавляя Jak/Stat — фосфорилирование. Таким образом, оба пептида противодействуют эффекту IFN-γ и подавляют воспалительную реакцию.

PACAP также ингибирует продукцию цитокинов TGF-β1, IL-12, IL-4, IL-6, TNF-α, а также NO. В нестимулированных макрофагах выработка IL-6 усиливалась при действии VIP/PACAP. Они также ингибировали индуцированный антигеном апоптоз в CD4⁺ (но не CD8⁺) Т-лимфоцитах путем подавления Fas.

Цветные иллюстрации

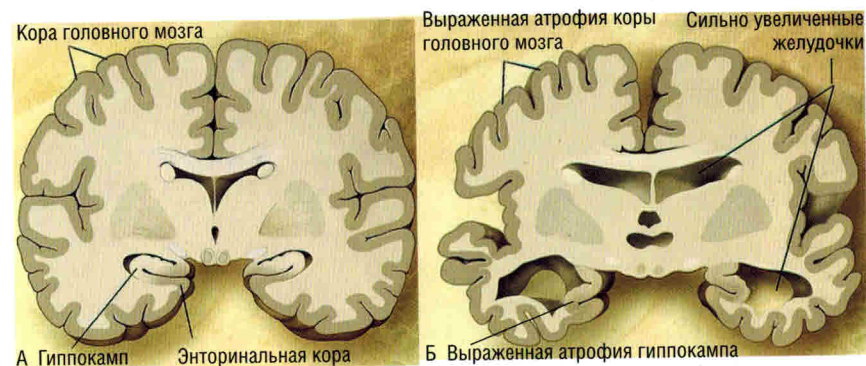


Рис. 2.1. Схема строения головного мозга пожилого человека: А — в норме, Б — при болезни Альцгеймера. https://ru.wikipedia.org/wiki/Alzheimer's_Disease_Education_and_Referral_Center,_a_service_of_the_National_Institute_on_Aging

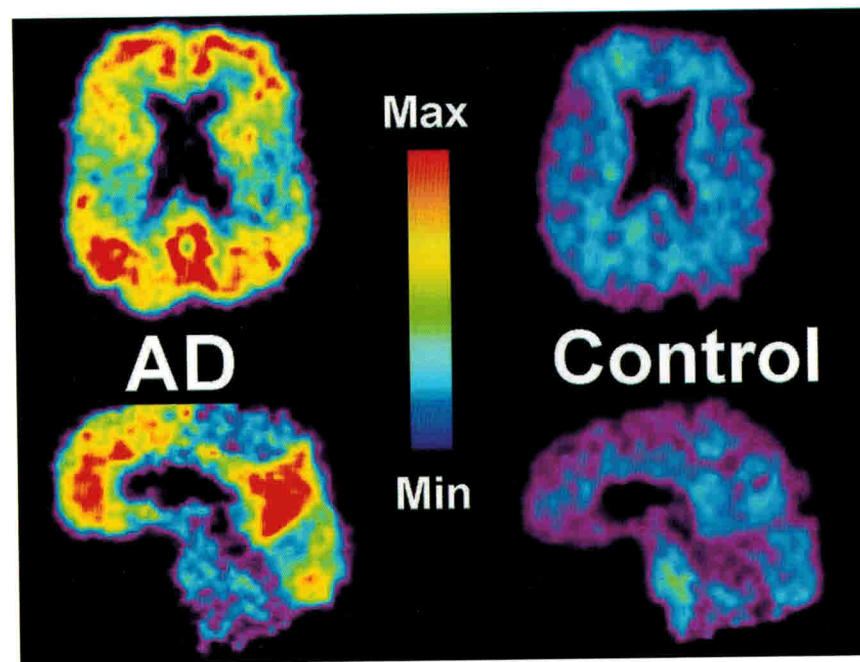


Рис. 2.2. ПЭТ-сканирование при болезни Альцгеймера. Введенный в организм Питтсбургский состав В скапливается в мозге, закрепляясь за отложениями бета-амилоида (слева). Справа — мозг пожилого человека без признаков болезни Альцгеймера. <https://ru.wikipedia.org/wiki>

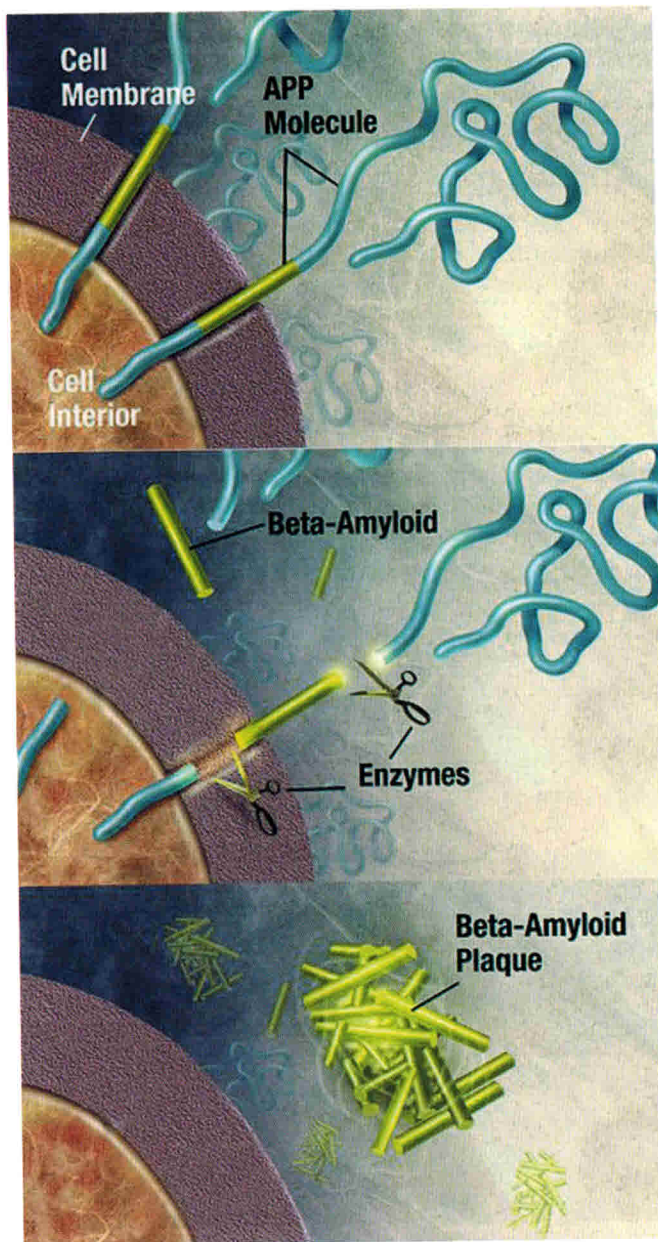


Рис. 2.3. Схема образования сенильных бляшек при болезни Альцгеймера. Ферменты «разрезают» предшественник бета-амилоида на участки, один из которых играет ключевую роль в формировании сенильных бляшек при болезни Альцгеймера. <https://ru.wikipedia.org/wiki>

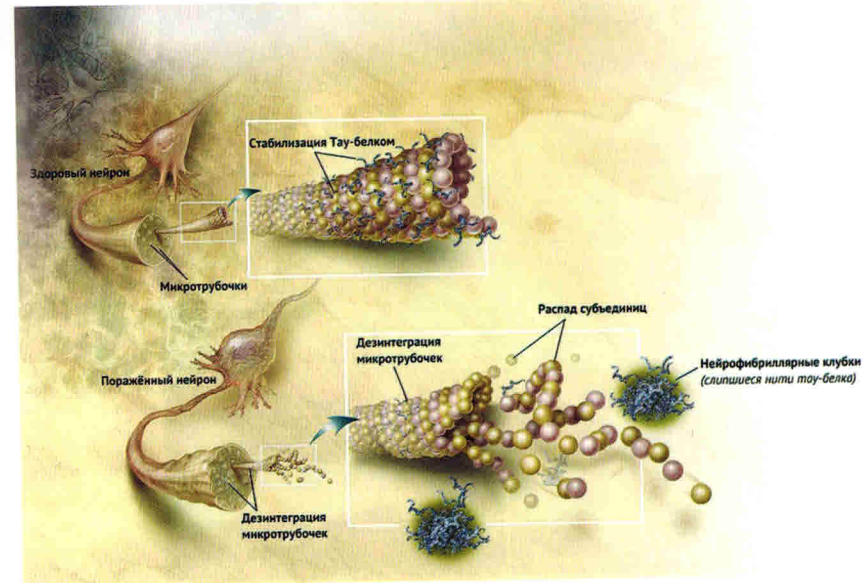


Рис. 2.4. Дезинтеграция микротрубочек при болезни Альцгеймера <http://www.nia.nih.gov/NR/rdonlyres/A01D12CE-17E3-4D3D-BCEF-9ABC4FF91900/0/>

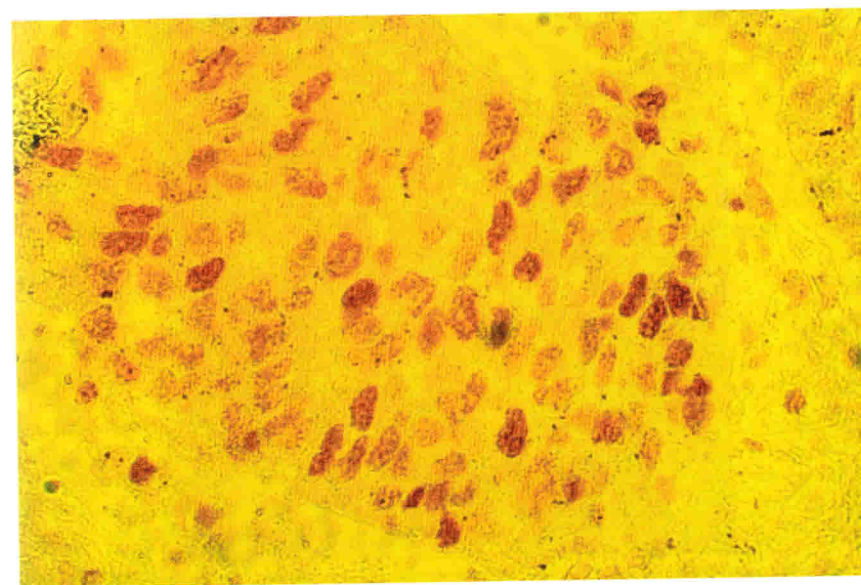


Рис. 2.5. Выраженная экспрессия тау-протеина в лимфоцитах крови при БА. x 600

Очерк 4

Нейроиммуноэндокринные взаимодействия в головном мозге при болезни Паркинсона

Болезнь Паркинсона (БП) — идиопатическое, медленно прогрессирующее дегенеративное заболевание центральной нервной системы, характеризующееся гипокинезией, мышечной ригидностью, тремором в покое и постуральной неустойчивостью. Болезнь Паркинсона поражает примерно 0,4% населения старше 40 лет и 1% — старше 65 лет.

БП относится к группе нейродегенеративных заболеваний головного мозга. Причины возникновения болезни в настоящие дни остаются до конца не выясненными, однако есть предположения о наследственной предрасположенности. К основным признакам БП относятся нарушение координации движений, скованность и замедленность при ходьбе, тремор (дрожание) рук, ног, подбородка. Чаще всего БП поражает людей пожилого возраста. Однако в процессе естественного старения отдельные признаки развития паркинсонизма могут постепенно выявляться у здорового человека. Это заболевание чаще всего начинается после 50–60 лет, затем длительно и неуклонно прогрессирует до конца жизни больного. БП одинаково подвержены и мужчины, и женщины.

Различают две разновидности паркинсонизма: первичную и вторичную. Первичный паркинсонизм, который составляет 80% от всех случаев заболевания этим недугом, представляет собой собственно БП. Как правило, ее появление обусловлено наследственными факторами. Вторичный паркинсонизм, по-другому — синдром Паркинсона, развивается на фоне других патологических состояний и заболеваний.

4.1. Симптомы болезни Паркинсона

К основным проявлениям паркинсонизма относят:

- 1) движения постепенно становятся замедленными и скованными, как правило, этот процесс начинается с правой руки, вызывая трудности при письме, выполнении бытовых действий, затем переходит на всю правую половину туловища, а с годами захватывает и левую сторону тела;

- 2) все мышцы постоянно находятся в напряженном состоянии (повышенном тонусе), из-за чего со временем формируется так называемая «поза просителя»: спина сутулая, руки и ноги согнуты в суставах, что приводит к развитию хронических болей;
- 3) походка изменяется, становится семенящей и шаркающей; при ходьбе больному особенно трудно сделать первый шаг, а затем центр тяжести словно начинает «убегать» от него, заставляя себя догонять, потеря равновесия может приводить к падениям;
- 4) руки и подбородок больного дрожат, особенно это заметно, когда человек находится в покое, а во время движения дрожание, наоборот, проходит;
- 5) застывание лица, редкое мигание вызывает иллюзию, что больной сердит или вовсе не испытывает эмоций;
- 6) речь становится невнятной, может возникнуть гиперсаливация (слюнотечение);
- 7) мышление замедляется, внимание снижается, однако память и интеллектуальные способности на первых порах сохраняются;
- 8) примерно у 50% пациентов снижается мотивация, пропадает заинтересованность в окружающем, снижается общий фон настроения, развивается хроническая депрессия;
- 9) возникают вегетативные и другие сопутствующие нарушения: запоры, нарушение мочеиспускания, импотенция, сухость кожи, волос, снижение обоняния, причем проявиться они могут уже на ранних стадиях болезни.

По мере прогрессирования БП у больного последовательно проходит пять стадий.

1. Признаки болезни в правой половине туловища.
2. Распространение симптомов на обе стороны.
3. Появление трудностей при удержании позы во время ходьбы и стояния.
4. Двигательная активность значительно ограничивается, передвижение возможно только с посторонней помощью.
5. Наступление полной обездвиженности.

4.2. Патогенез болезни Паркинсона

Патоморфологической основой БП является снижение численности дофамин-продуцирующих нейронов черной субстанции и в меньшей степени вентральной покрышки. Прежде чем эти нейроны погибнут, в них образуются эозинофильные цитоплазматические включения, называемые тельцами Леви.

Утрата более чем 80% пигментированных дофаминергических нейронов черной субстанции приводит к значительному снижению численности

пресинаптических дофаминергических окончаний и, соответственно, зон обратного захвата дофамина и снижению активности тирозингидроксилазы, а также снижению содержания дофамина в головном мозге.

В меньшей степени лишаются дофаминергической иннервации хвостатое ядро, прилежащее ядро, лобная кора, которые получают иннервацию преимущественно от вентральной покрывки (рис. 4.1, см. с. 42).

Уровень метаболитов дофамина, таких как гомованильная кислота или дигидроксифенилацетат, снижается в меньшей степени, чем уровень самого дофамина, что указывает на усиление кругооборота дофамина и повышение активности оставшихся дофаминергических окончаний. Аутопсийные исследования показали, что число дофаминовых D1- и D2-рецепторов у нелеченых больных с БП повышено. Однако у больных, подвергшихся лечению, подобных изменений не обнаруживается либо из-за длительной лекарственной стимуляции этих рецепторов, либо из-за вторичных изменений постсинаптических стриарных нейронов.

Из-за снижения выделения дофамина ослабляется опосредованное B2-рецепторами торможение стриатума, что приводит к гиперактивности непрямого пути. Одновременно ослабляется опосредованная D1-рецепторами стимуляция стриатума, что приводит к снижению активности прямого пути. Согласно этой модели у больных с БП возникают трудности при выполнении заданий, связанных с реализацией последовательных движений, — вследствие снижения функции прямого пути, а также возникает избыточное торможение сопутствующих движений, приводящее к олигокинезии и брадикинезии, — вследствие повышенной активности непрямого пути.

При БП снижается численность и норадренергических нейронов в глубом пятне, а затем и норадренергических окончаний в передних отделах мозга. У животных с экспериментальным паркинсонизмом выявлен повышенный кругооборот ацетилхолина в головном мозге, однако эти изменения не были подтверждены при исследовании больных паркинсонизмом. У больных с болезнью Паркинсона антагонисты мускариновых холинорецепторов (холинолитики) уменьшают выраженность симптомов, особенно тремора.

У нелеченых лабораторных животных с экспериментальным паркинсонизмом отмечено снижение численности ГАМК-рецепторов в наружном сегменте бледного шара и ее повышение во внутреннем сегменте бледного шара и черной субстанции. Эти данные соответствуют предположениям о гиперактивности непрямого пути и гипоактивности прямого пути при БП. Агонисты ГАМК-рецепторов могут оказывать благоприятное действие при болезни Паркинсона, ослабляя вызываемое стрессом усиление симптомов. При исследовании головного мозга у пациентов с БП отмечено снижение концентрации серотонина, но нет убедительных доказательств снижения

численности нейронов ядер шва. У лиц с БП, страдающих депрессией, содержание серотонинергических маркеров в цереброспинальной жидкости ниже, чем у больных без депрессии. Поэтому антидепрессанты, воздействующие на серотонинергическую систему, часто используются для лечения аффективных расстройств при БП.

В стриатуме обнаружена высокая концентрация энкефалина и динорфина. Первый преимущественно сконцентрирован в ГАМК-ергических проекционных нейронах непрямого пути, второй — в ГАМК-ергических нейронах прямого пути. Хотя в бледном шаре и черной субстанции выявлена высокая концентрация опиоидных и каннабиноидных рецепторов, практически не проводились исследования эффективности опиоидов и каннабиноидов при паркинсонизме.

Хотя глутамат, субстанция Р, нейротензин, соматостатин, холецистокинин также могут быть вовлечены в патогенез БП, в настоящее время нет средств, которые бы селективно влияли на эти системы. С теоретической точки зрения торможение глутаматергической передачи в кортикостриарных или субталамопаллидарных путях может быть эффективно при БП. Однако в настоящее время проводятся клинические исследования, проверяющие эту гипотезу.

4.3. Диагностика болезни Паркинсона

Для того чтобы был поставлен точный диагноз, необходимо выявить, к какой разновидности относится паркинсонизм у пациента: первичной — собственно БП или вторичной, появляющейся как осложнение других заболеваний. Поэтому врачу важно знать, не было ли в жизни пациента факторов, которые могли привести к развитию вторичного паркинсонизма. К факторам такого рода относятся:

- 1) выраженный атеросклероз сосудов, вызванный отсутствием контроля за уровнем холестерина в крови;
- 2) артериальная гипертензия;
- 3) употребление наркотиков или прием некоторых лекарств, работа на вредном производстве;
- 4) перенесенные нейроинфекции и травмы головы.

Больной должен обязательно быть осмотрен специалистом-неврологом, так как именно он может отличить начальные проявления заболевания от симптомов других болезней. На следующем этапе проводится индивидуальный подбор лекарств.

Назначенные для лечения препараты помогают также убедиться в точности поставленного диагноза: если организм пациента реагирует на типичные прогипопаркинсонические препараты, значит, у больного действительно БП, а не симптомагический паркинсонизм. Если у паци-

ента обнаруживаются нехарактерные для данного заболевания симптомы, а эффективность назначенных препаратов минимальна, пациенту требуется дополнительное обследование. Особенно важно в этом случае пройти МРТ или компьютерную томографию головного мозга (рис. 4.2, см. с. 43).

4.4. Патогенетические и молекулярно-клеточные подходы к лечению болезни Паркинсона

Перед лечащим врачом пациента, страдающего БП, стоят две основные задачи: приостановить отмирание ганглий, содержащих дофамин, и уменьшить проявление симптомов болезни. Среди ученых до сих пор нет единого мнения о том, можно ли замедлить прогрессирование этой болезни. Однако в любом случае полезными для больного будут являться прием большого количества антиоксидантов (витамин Е) и усиленная физическая нагрузка в сочетании с лечебной физкультурой.

На ранних стадиях заболевания лекарственные препараты желательно как можно дольше не применять. Их использование целесообразно начать, когда у пациента появляются двигательные ограничения, мешающие ему осуществлять бытовые и профессиональные обязанности. Как правило, для лечения используют:

- 1) препараты леводопы — наком, мадопар, синемет;
- 2) препараты амантадина — мидантан, ПК-мерц;
- 3) ингибиторы моноаминоксидазы — юмекс (селегелин);
- 4) агонисты дофаминовых рецепторов — бромкриптин (парлодел), проноран, мирапекс;
- 5) антихолинергические средства — паркопан, акинетон, циклодол;
- 6) ингибиторы катехол-О-метилтрансферазы — комтан, тасмар.

Прием указанных препаратов, как правило, вызывает привыкание, поэтому дозу препарата для получения стойкого лечебного эффекта нужно постоянно повышать. Это же, в свою очередь, приводит к появлению побочных эффектов.

Для того чтобы избежать этого, нужно придерживаться основного принципа борьбы с болезнью Паркинсона: начинать с мягких низкодозированных препаратов, не спеша повышать дозу, а также комбинировать препараты, которые имеют разные механизмы действия. Причем каждое новое средство добавляется исключительно по необходимости. Препараты леводопы очень эффективны, но применять их следует в последнюю очередь, особенно пациентам, возраст которых не достиг 65 лет.

Группа ученых из университета Бата (University of Bath) идентифицировала возможную мишень для снижения уровня белка альфа-синуклеина, связанного с БП и деменцией с тельцами Леви.

Деменция с тельцами Леви является одним из видов слабоумия, которым только в Великобритании страдают более 100 000 человек. К характерным симптомам этого заболевания относятся потеря памяти, неустойчивость внимания, галлюцинации, нарушения сна, проблемы с моторикой.

Изменения в мозге пациентов с деменцией с тельцами Леви связали с тем, что происходит в мозге при болезни Паркинсона, при которой основные симптомы связаны с моторикой.

Для дальнейшего изучения общего для этих двух заболеваний механизма проводится исследование белка — альфа-синуклеина (рис. 4.3, см с. 43). Известно, что альфа-синуклеин образует аномальные скопления в мозге при деменции с тельцами Леви и БП. Считается, что одной из причин разных паттернов симптомов при этих двух болезнях является поражение скоплениями аномальных белков разных областей. Ранее было высказано предположение, что родственный альфа-синуклеину белок — бета-синуклеин — может держать под контролем уровень альфа-синуклеина, поэтому было решено выяснить, может ли этот механизм стать мишенью новых методов лечения. Для этого было изучено, как экспрессия альфа- и бета-синуклеина контролируется на генетическом уровне. Было установлено, что уровни этих двух белков связаны между собой.

Выявлены два фактора, связанные с клеточным стрессом, которые, как представляется, стимулируют экспрессию альфа-синуклеина, а также фактор, названный ZSCAN21, усиливающий экспрессию бета-синуклеина и одновременно снижающий экспрессию альфа-синуклеина. Изучив действие ZSCAN21 в клетках, они установили, что он подавляет тенденцию альфа-синуклеина образовывать характерные для него агрегаты.

В результате экспериментов был установлен общий биологический механизм, который может сместить баланс в сторону от альфа-синуклеина. Это исследование поможет понять не только то, что может быть причиной образования альфа-синуклеина, прежде всего при этих заболеваниях, но и дает мишень, которая потенциально может остановить БП.

Несмотря на то что эти эксперименты пока находятся на ранней стадии изучения клеток в лаборатории, они указывают на важный механизм, который поможет в дальнейших исследованиях. Выявление общих путей, вовлеченных в развитие нескольких заболеваний, таких как путь альфа-синуклеина при деменции с тельцами Леви и БП, может принести пользу многим людям (рис. 4.4, см с. 44).

Следующим шагом будет более детальное изучение ZSCAN21 и возможностей использования его функции для разработки новых препаратов для лечения этих заболеваний.

Исследовательские группы под руководством профессора Армина Гизе (Armin Giese) из Мюнхенского университета Людвиг Максимилиана (Ludwig Maximilians Universität, München) и профессора Христиана Гринзингера (Christian Griesinger) из Института биофизической химии им. Макса Планка (Max Planck Institut für Biophysikalische Chemie) в Геттингене разработали химическое соединение, способное отсрочить начало и замедлить прогрессирование БП у мышей.

Как известно, БП обычно проявляется в возрасте от 50 до 60 лет и является результатом потери вырабатывающих нейротрансмиттер дофамин-нейронов в *substantia nigra* (черной субстанции) — части области среднего мозга. При микроскопическом исследовании в пораженных клетках *substantia nigra* выявляются нерастворимые отложения белка альфа-синуклеина.

На первом этапе патологического каскада альфа-синуклеин образует олигомеры — крошечные агрегаты, состоящие из небольшого количества молекул этого белка, которые, очевидно, оказывают токсическое воздействие на нейроны. Ко времени появления у пациентов первых симптомов заболевания более половины подверженных этому процессу клеток — дофаминергических нейронов — уже потеряны. Поэтому многие ученые придают огромное значение разработке методов ранней диагностики этого заболевания. Однако возможность ранней постановки диагноза БП не дает никакой гарантии не только излечения недуга, но и замедления его прогрессирования: имеющиеся на сегодняшнем фармацевтическом рынке препараты только смягчают симптомы заболевания.

Интересен также поиск путей воздействия на основную причину гибели дофаминергических нейронов. В тесном сотрудничестве две лаборатории разработали вещество, которое, в мышинной модели заболевания, снижает скорость образования белковых отложений и задерживает дегенерацию нервных клеток. Как следствие, получающие это соединение мыши не проявляют признаков заболевания дольше, чем контрольные животные.

Особенностью нового соединения является то, что это первый препарат, который напрямую воздействует на олигомеры и препятствует их образованию.

На способность блокировать образование белковых отложений, характерных для БП, было протестировано большое количество веществ (рис. 4.5, см. с. 45).

Для скрининга использовался чрезвычайно чувствительный лазерный анализ. Несколько соединений свинца, выявленных в ходе первого этапа программы скрининга, послужили отправной точкой для дальнейшей оптимизации. В конечном счете одно вещество оказалось особенно активным. Андрею Леонову удалось синтезировать его фармацевтически перспективное производное. Это производное хорошо переносится в дозах, оказывающих терапевтически значимый эффект, может вводиться с пищей и эф-

фективно преодолевает гематоэнцефалический барьер, создавая высокую концентрацию в мозговой ткани. Ученые уже подали заявку на патент на данное соединение, названное ими Anle138b — сокращенные имя и фамилия Андрея Леонова.

В серии экспериментов были получены результаты, подтверждающие, что Anle138b может использоваться в качестве терапевтического средства и в организме человека. В настоящее время исследователи не только изучили механизм действия нового соединения биохимическими и структурными методами, но и протестировали его эффект на животных с несколькими моделями БП, созданными в Мюнхене и в лабораториях суперкластера «Наноразмерная микроскопия и молекулярная физиология мозга» (Mikroskopie im Nanometerbereich und Molekularphysiologie des Gehirns) в Геттингене.

Мыши, получавшие Anle138b, демонстрировали лучшую координацию движений, чем их не получавшие препарата одноплетники. Для оценки мышечной координации использовался следующий тест: мышей помещали на вращающийся стержень и оценивали, как долго животные могут сохранять равновесие. В целом чем раньше начиналось лечение, тем дольше животные оставались здоровыми.

Более того, оказалось, что положительный эффект Anle138b не ограничивается БП. Болезнь Крейтцфельда – Якоба вызывается токсичными агрегатами прионных белков. И здесь Anle138b тоже эффективно ингибирует слипание и значительно увеличивает время выживания. Эти результаты позволяют предположить, что Anle138b может предотвращать образование нерастворимых отложений и других белков, например тау-белка, связанного с БА. Ответ на вопрос, верно ли это предположение, будет получен в ходе дальнейших экспериментов. Таким образом, Anle138b как минимум будет полезным исследовательским инструментом, так как позволит ученым исследовать *in vitro* процесс образования олигомеров и искать способы подавления олигомеризации. В конечном счете исследователи надеются получить новую информацию о механизмах, лежащих в основе развития нейродегенеративных заболеваний.

Доступные на сегодня лекарственные средства для лечения болезни Паркинсона влияют только на симптомы заболевания за счет усиления функций сохранившихся в *substantia nigra* дофаминергических нейронов. Возможно, Anle138b — первый представитель нового класса нейропротекторов, позволяющих замедлить или даже остановить прогрессирование таких заболеваний, как БП или болезнь Крейтцфельда – Якоба.

Ученые из Монреальского неврологического института и клиники (Montreal Neurological Institute and Hospital) установили, что два гена, связанные с наследственной формой БП, участвуют в раннем контроле над качеством митохондрий.