

*Maria G. Sokolova,
MD, assistant professor
North-West State Medical
University n.a. I.I. Mechnikov,
Saint-Petersburg*

Hyperexpression of Nerve Growth Factor in Patients with 2 Type Spinal Muscular Atrophy

Key words: spinal muscle atrophy of type 2 (SMA), blood serum, nerve growth factor (NGF), compensatory-adaptive process.

Annotation: The article presents the results of complex clinical-laboratory study of 12 patients with II type spinal muscular atrophy (SMA). Features of neurotrophins' changes were identified: concentration of nerve growth factor in blood serum of patients with 2 types SMA was significantly higher than in control group. The assumption is made that the overexpression of NGF is associated with the activity of compensatory-adaptive reactions aimed at the partial restoration of lost motor function in patients with SMA type 2. The identified features of neurotrophic regulation in patients with 2 type SMA should be taken into account at their treatment.

Введение

Болезнь человека нельзя рассматривать в отрыве от общих физиологических принципов функционирования живого организма. Независимо от патологии у больного сохраняются все механизмы, направленные на сохранение вида, и, безусловно, это касается и нейротрофической регуляции. Сейчас известно несколько десятков ростовых факторов, которые влияют на развитие, дифференцировку и жизнедеятельность нервной ткани. Нейротрофины синтезируются клетками-мишенями, активизируют процессы в нейроне через общие рецепторы (тирозинкиназные рецепторы), запускают внутриклеточные каскады, приводящие к транскрипции белков, инициируя процессы роста, дифференцировки и ветвления аксона. (3). Активное изучение нейротрофинов у больных с различной патологией ЦНС показало, что концентрация отдельных ростовых пептидов действительно меняется в зависимости от стадии заболевания и нозологии. Так, при болезни Альцгеймера на ранней стадии отмечено увеличение концентрации фактора роста головного мозга (ФРГМ), а при дальнейшем прогрессировании заболевания имеет место снижение концентрации ФРГМ в крови (4). Исследование уровня ФРГМ у пациентов с болезнью Паркинсона выявило в 30% случаев усиление синтеза этого нейротрофина (4). Исследование ФРН у больных БАС выявило, что при длительном течение заболевания его уровень в крови повышается (8). Безусловно, выявляемые изменения нейротрофической регуляции при нейродегенеративных заболеваниях оказывают влияние на жизнеспособность

нейронов. Нейротрофины в физиологических условиях активируют процессы роста и дифференцировки нервной ткани, стимулируют процессы роста аксона и синаптогенеза (6). Известно, что фактор роста нерва (ФРН) взаимодействует с тирозинкиназными рецепторами A (trkA) и стимулирует рост и ветвление аксона (5, 10). Изучение роли нейротрофина-ФРН в развитии нейродегенеративных заболеваний является актуальным и может быть использовано для выбора адекватной патогенетической терапии. Однако при многих редких нейродегенеративных заболеваниях уровень нейротрофинов пока еще не определяли в крови.

Цель исследования. Определение уровня фактора роста нерва (ФРН) у больных СМА 2 типа и сопоставление данных иммуноферментного анализа с данными клинико-неврологического осмотра.

Материалы и методы: На базе стационарного отделения «Хоспис (детский)» в г. Санкт-Петербурге было обследовано 12 больных СМА 2 типа в возрасте 4-15 лет. Контрольную группу составляли 30 здоровых детей. Определение уровня фактора роста нерва проводили иммуноферментным методом в образцах сыворотки крови с использованием коммерческих иммуноферментных наборов фирмы RayBiotech, Inc в соответствии с инструкциями производителя. Пороговые величины определения ФРН - 14 пг/мл. В ходе исследования применяли следующие процедуры и методы статистического анализа: определение числовых характеристик переменных; оценку соответствия эмпирического закона распределения количественных переменных теоретическому закону нормального распределения по критерию Шапиро-Уилка, оценку значимости различия средних арифметических значений в независимых выборках с использованием Т-критерия Стьюдента. Описание количественных признаков было выполнено с использованием среднего арифметического значения и стандартного отклонения. Нулевая статистическая гипотеза отвергалась при уровне значимости $p < 0,05$. Статистический анализ осуществлялся с использованием пакета STATISTICA 8.0 (StatSoft®, Inc., USA).

Результаты и обсуждения. Спинальная мышечная атрофия (СМА) 2 типа – аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся дегенеративным изменением альфа-мотонейронов передних рогов спинного мозга. Заболевание медленно прогрессирует, проявляется слабостью проксимальной мускулатуры, парезами, дыхательной недостаточностью и ранней смертностью (1). К 18-20 годам у больных СМА 2 типа формируются выраженные атрофии межреберных мышц, что приводит к развитию дыхательной недостаточности.

Обследованы 12 больных со спинальной мышечной атрофией 2 типа, из них 5 девочек и 7 мальчиков в возрасте от 4 до 15 лет. Нарушения в двигательной сфере проявлялись с рождения. Молекулярно-генетическое исследование подтверждало диагноз СМА 2 типа с выявлением дефекта на длинном плече 5-ой хромосомы (в интервале между D5S629 и D5S557). Все больные СМА 2 типа наблюдались в течение 5 лет, за этот период времени заболевание неуклонно прогрессировало. Клинико-неврологическая картина была представлена вялыми парезами рук и ног с преобладанием процесса в проксимальных отделах, активные движения сохранялись лишь в дистальных отделах рук, мышцах шеи, мимической и дыхательной

мускулатуре. Наблюдались фибриляции и фасцикуляции мышц, выраженная диффузная мышечная гипотония. Были выявлены контрактуры крупных суставов конечностей и выраженный кифосколиоз позвоночника. Функции тазовых органов, чувствительность и интеллект были сохранены.

Данные иммуноферментного анализа свидетельствуют о том, что концентрация ФРН (3899 ± 1058 пг/мл) в сыворотке крови больных СМА 2 типа статистически значимо ($p < 0,001$) выше, чем в контрольной группе (782 ± 582 пг/мл). Оценки концентрации ФРН в сыворотке крови контрольной группы находятся в диапазоне от 110 пг/мл до 2237 пг/мл. Тогда как у больных СМА 2 типа – в интервале от 1387 пг/мл до 5411 пг/мл. Нами выявлено, что у больных СМА 2 типа в сыворотке крови имеет место превышение ФРН (см. рис. 1).

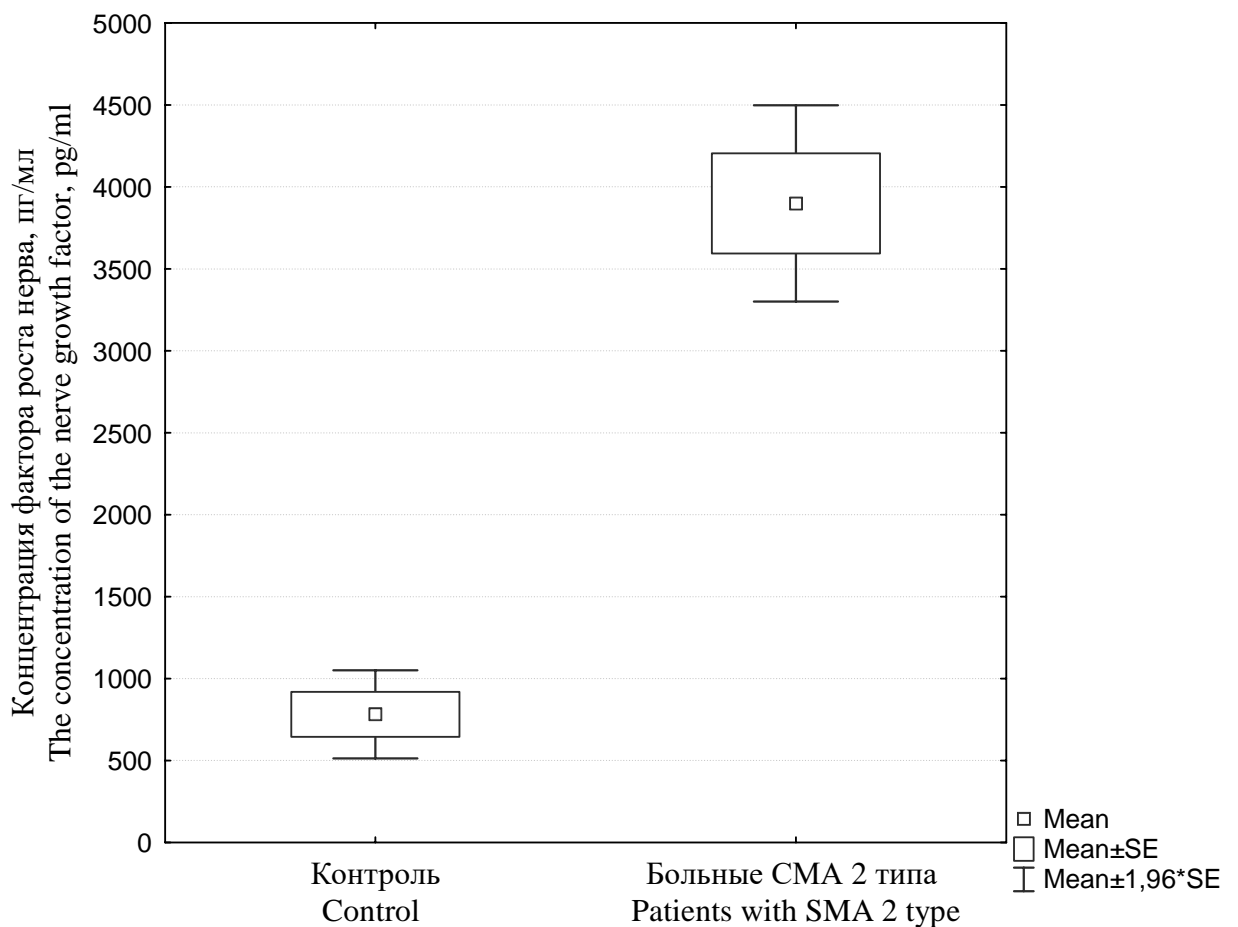


Рис. 1. Концентрация ФРН в сыворотке крови в исследуемых группах.

Проведенное нами исследование показало, что у больных СМА 2 типа имеет место повышенный уровень нейротрофина ФРН в отличие от других нейродегенеративных заболеваний ЦНС, при которых имеет место дефицит нейротрофического обеспечения (13,14). Нейротрофины синтезируются нейронами, клетками глии и клетками-мишенями, взаимодействуют с тирозинкиназными рецепторами (Trk-A, Trk-B, Trk-C) на поверхности нейрона (9). Это приводит к активизации каскада протеинкиназ, известных как

митогенактивируемые протеинкиназы (mitogenactivatedproteinkinase — MAP kinase pathway, далее фосфорилируемая MAP-киназа). MAP-киназа проходит через ядерную мембрану и в ядре фосфорилирует различные факторы транскрипции гена (7). Возникающие изменения транскрипции гена инициируют процессы пролиферации, дифференцировки и поддержания жизнеспособности нейрона. Повышенное содержание ФРН может быть связано с возрастом больных, ведь независимо от патологии организм ребенка растет. У детей наиболее интенсивно работают процессы роста и дифференцировки нервной ткани, синаптогенеза (3). Активность этих процессов зависит от концентрации ростовых пептидов. Но объяснить гиперэкспрессию ФРН только особенностью онтогенеза нельзя так как контрольную группу составляли дети данного возраста. Возможно усиление синтеза нейротрофина-ФРН происходит вследствие развития компенсаторно-приспособительных процессов, направленных на усиление репаративной функции нервной ткани. Компенсаторно-приспособительные механизмы запускаются и в физиологических, и в патологических условиях. Приспособление или адаптация – широкое биологическое понятие, включающее все формы регуляции функций организма в нормальных условиях и при патологии. В любой форме жизни заложены адаптационные реакции, направленные на ее выживание, на сохранение ее состояния или свойств, при воздействии факторов окружающей среды или при сдвигах внутри самой системы. Компенсация – это одна из важнейших форм приспособления, развивающаяся в условиях патологии, поэтому она носит индивидуальный характер, ибо определенной болезнью заболевает конкретный человек. Таким образом, компенсация – совокупность реакций организма, возникающих при повреждениях или болезнях и направленных на восстановление нарушенных функций. Человек обладает индивидуальными реакциями, но одновременно, как представитель биологического вида, он имеет и видовые приспособительные реакции. Те и другие реакции трудно разделить, поэтому в клинике их часто обозначают как компенсаторно-приспособительные процессы. Биологический смысл компенсаторных реакций заключается в восстановлении нарушенных функций органов и систем, а степень их восстановления является основным критерием достаточности этих реакций.

Физиологическая цель нейротрофической регуляции – сохранение жизнеспособной популяции нейронов для выполнения генетически запрограммированной функции. Прогрессирующая гибель мотонейронов при СМА 2 типа приводит к усилению нейротрофической регуляции, но часть популяции нейронов уже погибла и не способна взаимодействовать с ростовыми факторами. Этими явлениями мы можем гипотетически объяснить повышенный уровень нейротрофина-ФРН при СМА 2 типа. Однако очень высокая концентрация нейротрофина-ФРН согласно нашим исследованиям, не приводит к восстановлению или частичной компенсации утраченной двигательной функции у больных СМА 2 типа (2). В эксперименте на органотипической культуре ткани мы показали, что сыворотка больных СМА 2 типа ингибирует рост нейритов сенсорных ганглиев (12). Была выявлена сильная корреляционная связь между фактом ингибирования роста нейритов нейронов сенсорных ганглиев и концентрацией ФРН в сыворотке крови больных СМА 2 типа (11). Таким образом было показано, что процесс спрутинга у больных СМА 2

типа не запускается, вследствие очень высокой концентрации ФРН, что способствует дальнейшему прогрессированию заболевания.

Заключение

У больных СМА 2 типа имеет место повышенная концентрация ФРН в крови. Скорее всего, гиперэкспрессия ФРН у больных СМА 2 типа возникает вследствие активности компенсаторно-приспособительных механизмов направленных на усиление нейротрофической регуляции для частичной компенсации утраченной двигательной функции. Эти данные необходимо учитывать при лечении больных СМА 2 типа. Успехи нейроиммунологии открывают клиницистам новые перспективы в изучение нейротрофической регуляции нервной системы, которые в дальнейшем, возможно, войдут в повседневную практику и будут использоваться для диагностики и составления индивидуальных программ лечения больных нейродегенеративными заболеваниями.

References:

1. *Neurology - the national management: Under edition RAS academician Gusev E.I. Moscow, GJeOTAR-Media, 2009; 936. (in Russian)*
2. *Sokolova MG, Pennijajnen VA, Rezvancev MV, Lobzin SV, Aleksandrov NJu. Study of reinnervation process in patients with 2 type of spinal muscular atrophy: clinical experimental study: Vestnik SZGMU, Saint-Petersburg, 2014, Vol.6, No 4; 45–52. (in Russian)*
3. *Faller DM, Shilds D. Molecular cytobiology. Moscow, BINOM, 2006; 256. (in Russian)*
4. *Angelucci F, Peppe A, Carlesimo GA, Serafini F. A pilot study on the effect of cognitive training on BDNF serum levels in individuals with Parkinson's disease: Front Hum Neurosci, 2015, Vol.1; 231–243.*
5. *Blais M. Nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, neurotrophin-3 and glial-derived neurotrophic factor enhance angiogenesis in a tissue-engineered in vitro model: Tissue Eng Part, 2013, №9; 55–64.*
6. *Davies AM. The role of neurotrophins in the developing nervous system: J. Neurobiol, 1994, V.25, № 11; 1134–1148.*
7. *Gurgis FM. Mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2 in neuroinflammation, heat shock protein 27 phosphorylation, and cell cycle: role and targeting: J. Neurobiol, 2013, Vol.85, № 2; 145–156.*
8. *He YY, Zhang XY, Yung WH, Zhu JN, Wang JJ. Role of BDNF in central motor structures and motor diseases: Mol Neurobiol, 2013, Vol. 48(3); 83–93.*
9. *Huang E J. Neurotrophins. Roles in neuronal development and function: Annu. Rev. Neurosci, 2001, Vol.24; 677–736.*
10. *Levi-Montalchini R. The nerve growth factor. 35 years later: Science, 1987, Vol. 237; 1154–1162.*
11. *Pennyaynen VA, Sokolova MG. Correlation of level NGF and of results neurotrophic impact of blood serum of patients with spinal muscle atrophy of 2 type with the purpose of studying sprouting in organotypic tissue culture: Proceedings of the 1st Congress of the European Academy of Neurology. Berlin, 2015; 148–150.*
12. *Sokolova MG, Pennyaynen VA. Analyse des neurotrophin einflusses von blutserum der patienten mit spinaler muskeltrophie typ 2 auf wachstum der neuriten*

sensorischer ganglien: Proceedings of the 2nd European Conference on Biology and Medical Sciences. «East West» Association for Advanced Studies and Higher Education GmbH. Vienna, 2014; 112–117.

13. *Sopova K. Dysregulation of neurotrophic and haematopoietic growth factors in Alzheimer's disease: from pathophysiology to novel treatment strategies:/ Alzheimer Res, 2013, №11; 27–29.*
14. *Van der Kolk NM, Speelman AD, van Nimwegen M, Kessels RP, Hakobjan M, Munneke M. BDNF polymorphism associates with decline in set shifting in Parkinson's disease: Neurobiol Aging, 2015, №36(3); 1605–1616.*