

Вплив транскраніальної магнітної стимуляції на концентрацію BDNF, кортизолу, тиреотропного гормону та тироксину в сироватці крові хворих на розсіяний склероз

Володимир Малахов
Петро Гапонов

Харківська Медична Академія Післядипломної Освіти
Харківська Медична Академія Післядипломної Освіти

Дизайн, контингент та методи дослідження. Дослідження було проведено на базі відділу аутоімунних та дегенеративних захворювань нервової системи, центр розсіяного склерозу ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМНУ». Результати були отримані при обстеженні 110 хворих на розсіяний склероз (73 жінок та 37 чоловіків). Діагноз був встановлений за критеріями McDonald et al., 2017. Всі пацієнти були розподілені на групу втручання, яким було застосовано курс рТМС і групу порівняння без застосування неінвазивної нейромодуляції. З метою неінвазивної нейромодуляції в процесі лікування та реабілітації була застосована рТМС. Курс лікування проводився на апараті MagVenture, MagPro X100 та 8-подібного індуктора (койла). В сироватці крові визначали концентрацію кортизолу, тиреотропного гормону (ТТГ), загального тироксину (Т4) та BDNF.

Результати. Застосування ТМС не впливало значною мірою на показник вмісту кортизолу в сироватці крові хворих з прогресуючими типами РС, але мало позитивний вплив на ГГАС у хворих з ремітуючим типом. ТМС підвищувала концентрацію нейротрофіну BDNF в групі хворих з РТ РС, та менш виражено, але також достовірно – в групі ВПТ. ТМС призводило до підвищення рівня ТТГ в групі хворих з РТ РС, але не впливало на концентрацію загального тироксину в сироватці крові. Найбільш чутливим до впливів ТМС є ремітуючий тип захворювання.

Висновок. Нейротрофіни і гормони відіграють велику роль в процесах ремієлінізації та нейропластичності. Застосування обраних параметрів рТМС чинить позитивний вплив на гіпоталамо-гіпофізарні системи регуляції функцій глюкокортикоїдних та тиреоїдних гормонів, а також на нейротрофічні процеси в ЦНС в умовах розвитку розсіяного склерозу. ТМС відкриває нові перспективи неінвазивної нейромодуляції у хворих на РС.

Актуальність

Розсіяний склероз (РС) є аутоімунним запальним захворюванням, яке пов'язане з аутоімунною агресією, спрямованою проти протеїнових компонентів мієліну, та призводить до нейродегенерації. Найважливішою характеристикою періоду загострення є підвищена активність мієлін-реактивних Т-лімфоцитів та продукція аутоантитіл, які в період ремісії повністю не припиняються, що і є передумовою загострення захворювання [1]. Важлива роль в регуляції імунітету належить ендокринній системі, зокрема: глюкокортикоїдам, статевим та тиреоїдним гормонам, які здатні регулювати активність запальних та аутоімунних реакцій на рівні генетичного апарату імунокомпетентних клітин [2, 3, 4]. Різною активністю

гормональних компонентів імунорегуляції поряд з іншими регуляторними факторами визначаються і різні варіанти перебігу РС, гетерогенність його клінічних проявів, а також різна ефективність імунomodуючої терапії.

Хронічне запалення та пошкодження нервових тканин створюють стресорну ситуацію для організму, що супроводжується напруженим функціонуванням гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової системи (ГГАС) адаптації. Кортизол є одним з основних життєво важливих гормонів надниркових залоз, який регулює та підтримує гомеостаз. Під його контролем знаходяться: обмін речовин, судинний тонус та тонус міокарду, активність нервової системи, функції імунної системи, зокрема процеси запалення. Кортизол є стрес-гормоном як при гострому стресі, так і при довготривалому — викликаному негативними соціальними явищами, хронічними хворобами та ін. Тому в умовах захворювання РС, де кортизолу належить важлива роль в стримуванні аутоімунних та запальних процесів — механізми регуляції інших функцій організму зазнають суттєвих змін [6].

Але і функціонування самої ГГАС має складну систему регуляції на різних рівнях ЦНС з боку лімбічної системи, префронтальної кори та структур стовбура головного мозку. Взаємодія вказаних структур із клітинами глії та ГГАС контролюють стан астенії в умовах хронізації захворювання [7, 8]. Нейрони префронтальної кори мають значну щільність глюкокортикоїдних рецепторів, стимуляція яких у стані стресу надає інгібіторного впливу на ГГАС через модуляцію нейрональної активності кори головного мозку [9]. Ці факти знайшли застосування в розробці і впровадженні неінвазивних засобів впливу на функції мозку, зокрема транскраніальної магнітної стимуляції (ТМС). ТМС є новим терапевтичним засобом, здатним у залежності від параметрів стимуляції моделювати активність нейромедіаторних та нейрогормональних процесів в умовах неврологічної та психічної патології. Існують підтвердження позитивного впливу ТМС на ГАМК- і глутаматергічні механізми: при депресії, на нейротрофічні процеси в постінсультний період, на рівень β -ендорфіну при хронічних болях та на експресію маркерів запалення TNF- α і COX-2 на моделі хвороби Паркінсона [10, 11]. Механізми впливу ТМС на гормональні та нейротрофічні процеси при РС становлять значний інтерес для визначення оптимальних умов та параметрів стимуляції.

Мета роботи

Метою роботи було оцінити вплив ритмічної ТМС на рівень нейротрофіну BDNF, кортизолу та тиреоїдних гормонів у пацієнтів із РС.

Дизайн, контингент та методи дослідження

Дослідження було проведено на базі відділу аутоімунних і дегенеративних захворювань нервової системи Центру розсіяного склерозу ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України». Результати були отримані при обстеженні 110 пацієнтів із розсіяним склерозом (73 жінок та 37 чоловіків). Діагноз був встановлений за критеріями McDonald et al., 2017.

Процедури цього дослідження відповідають етичним стандартам Гельсінської декларації 1975 року, переглянутої в 2008 році і національного законодавства. Інформована згода на участь у дослідженні була обговорена і підписана всіма учасниками дослідження. Засідання комісії з питань етики і деонтології (протокол №7Б від 19.07.2019) ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології Національної академії медичних наук України».

Всі пацієнти отримували препарати хворобомодифікуючої терапії: препарати 1-ї (інтерферон бета 1- β , інтерферон бета 1- α , глатирамеру ацетат, теріфлуномід) або 2-ї ланки (мітоксантрон, окрелізумаб, алемтузумаб, кладрибін), в залежності від типів перебігу — у поєднанні з пульс терапією метилпреднізолоном у випадку загострення захворювання і були розподілені на

групу втручання, яким було застосовано курс рТМС і групу порівняння без застосування неінвазивної нейромодуляції.

З метою неінвазивної нейромодуляції в процесі лікування та реабілітації була застосована рТМС. Курс лікування проводився на апараті MagVenture, MagPro X100 та 8-подібного індуктора (койла). Всі пацієнти були протестовані за допомогою опитувальника безпеки та відібрані згідно показань і протипоказань проведення рТМС. В залежності від провідних клінічних проявів були застосовані різні протоколи проведення рТМС. Були обрані протоколи з високочастотною стимуляцією зон ДЛПФК та первинної моторної кори, зони М1 (D,S) з частотою 10Гц, амплітудою 90-100% від ВМВ, тривалістю 10 сеансів, від 1600 до 2000 стимулів за сесію.

В сироватці крові визначали концентрацію кортизолу, тиреотропного гормону (ТТГ), загального тироксину (Т4) та BDNF. Кров для дослідження забирали з ліктьової вени натщесерце, центрифугували 10-15 хв. при 3000 об/хв. Визначення вмісту гормонів здійснювали за допомогою наборів реактивів для імуно-ферментного аналізу: «Кортизол-ІФА», «ТТГ-ІФА», «Т4-ІФА» фірми «Гранум» (Україна) та BDNF «Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Sandwich ELISA Kit» фірми «EMD Millipore Corporation» (Germany). Оптичну щільність зразків вимірювали на ІФА-аналізаторі Stat-Fax 2100 (USA). Концентрацію BDNF вимірювали в пг/мл, кортизолу – в нмоль/л, ТТГ – в мМОд/л, Т4 – в нмоль/л.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми «Statistika 6.0» (Statsoft Inc., USA, 2001), де в групах визначали середнє значення та стандартне відхилення ($x \pm SD$). Для виявлення статистично значущих відмінностей між групами використовували однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA. Відмінності вважали достовірними при $p < 0,05$ за тестом Тьюкі.

Результати та обговорення

Стан пацієнтів із РС можна охарактеризувати як стан хронічного стресу, який викликаний тривалим запаленням та нейродегенеративними процесами. Розвиток хронічного стресу передбачає динамічні дисрегуляторні зміни синтезу та секреції кортизолу в залежності від індивідуальних особливостей, характеру та тривалості дії стресора. Дисфункція ГГАС при РС відмічається вже на початку захворювання з періодами гіперактивації та подальшим поступовим виснаженням її функцій [12, 13].

За результатами нашого дослідження показники концентрації кортизолу в групі пацієнтів із ремітуючим типом РС (РТ) коливались в межах від 90 до 1562 нмоль/л, у групі з первинно прогресуючим типом (ППТ) вони складали від 171 до 442 нмоль/л, а в групі з вторинно прогресуючим типом (ВПТ) – від 51,5 до 468 нмоль/л (Табл. 1).

Тип РС	Група порівняння		Група втручання	
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
Первинно прогресуючий	286,6±38,7*	309,3±53,5*	279,3±58,7*	292,3±71,4*
Вторинно прогресуючий	158,4±35,8*	188,7±33,4*	165,2±47,5*	204,9±57,9*
Ремітуючий	736,1±68,4	594,3±75,3	680,8±76,0	519,0±76,6**

Таблиця 1. Концентрація кортизолу (нмоль/л) у сироватці крові пацієнтів із розсіяним склерозом у залежності від типів перебігу до і після лікування ($M \pm m$) * - $p < 0,05$ при порівнянні з групою «ремітуючий тип РС»; ** - $p < 0,05$ при порівнянні з групою «до лікування»

Представлені дані демонструють достовірно нижчий рівень кортизолу в групах пацієнтів із прогресуючими типами РС в порівнянні з групою РТ РС. Вранці, коли концентрація кортизолу

крові в добовому циклі максимальна, у половини пацієнтів із ВПТ — вона була нижче нижньої межі норми, що складає приблизно 130 нмоль/л. Треба відзначити, що в усіх групах спостерігались рідкісні випадки значного підвищення концентрації кортизолу в сироватці крові, які в декілька разів перевищували середні значення. Ми не враховували ці показники, тому що вони ще не знайшли пояснення, але нівелювали різницю між групами та ускладнювали розуміння загальної картини. Таким чином, для когорти пацієнтів із прогресуючими типами РС — більш характерними були випадки гіпофункції ГГАС. Це може бути одним із факторів, який призводить до: порушення сну та зниження когнітивних функцій, низького рівня активації метаболізму та низьку протизапальну активність. Тобто зниження секреції кортизолу є фактором, що погіршує прогноз захворювання [14].

Механізми гіперактивації ГГАС у пацієнтів із РС до кінця ще не з'ясовані, але показано, що прозапальні цитокіни, які продукуються мікроглією в зоні запалення (IL-1, IL-6, TNF- α) — є потужними активаторами синтезу кортиколіберину в нейронах гіпоталамусу. Особливістю РС є той факт, що в багатьох випадках у гіпоталамусі пацієнтів спостерігається збільшення в декілька разів кількості нейронів паравентрикулярного ядра, які експресують вазопресин поряд із кортиколіберином. Секреція вазопресину спричиняє більш потужний вплив на вивільнення АКТГ у гіпофізі та подальшу секрецію кортизолу наднирковими залозами, ніж кортиколіберин. Значне підвищення секреції кортизолу спостерігається у випадках загострення, прогресування захворювання та при активних нейродегенеративних процесах [15].

Однак існують дослідження, в яких йде мова про те, що при РС нерідко спостерігається пошкодження і втрата нейронів гіпоталамусу, що синтезують кортиколіберин. При цьому ступінь нейродегенерації корелює із рівнем глутамату і тау-білку в спинномозковій рідині (СМР), що було найбільш яскраво виражено у пацієнтів із ППТ. Високий рівень кортизолу асоціюється з повільним розвитком захворювання, особливо у жінок з ВПТ. Пацієнти з низьким рівнем кортизолу мають більшу кількість активних зон демієлінізації, зокрема в гіпоталамусі, що є несприятливим варіантом розвитку захворювання [16, 17].

Застосування ТМС не впливало, значною мірою, на показник вмісту кортизолу в сироватці крові пацієнтів із прогресуючими типами РС (Табл. 1), але достовірно знижувало рівень гормону на 24 % в групі РТ, що є важливим, оскільки тривала дія підвищених концентрацій кортизолу спричиняє атрофію дендритів та редукцію нейрогенезу в гіпокампі [18]. Дія ТМС супроводжувалась покращенням неврологічної симптоматики, в першу чергу — на прояви втоми та функцію ходи, у найбільшому ступені — в групі РТ. Ці дані узгоджуються з результатами деяких досліджень, в яких також продемонстровано зниження рівня кортизолу в крові після серії ТМС, але без урахування типу РС [19]. На підставі зіставлення багатьох результатів, було висунуто припущення про значну роль, поряд із кортизолом — надлишків глутамату в механізмах токсичного пошкодження клітин мозку [20]. Здається малоімовірним вплив ТМС на токсичну дію глутамату, але з'являються дослідження, в яких йдеться про активацію інгібіторної ГАМК-ергічної системи параметрами ТМС, близькими до тих, які використовувались нами, що може деякою мірою послаблювати збудливі ефекти глутамату [21].

Таким чином, застосовані нами в дослідженні параметри рТМС мають позитивний вплив на ГГАС у пацієнтів із ремітуючим типом РС, та помірний або слабкий вплив у пацієнтів із прогресуючими типами перебігу.

Роль нейротрофічних факторів у розвитку фізіологічних та патологічних процесів в організмі стала предметом широких досліджень в останні десятиріччя. Нейротрофічний фактор мозку (BDNF) грає дуже важливу роль як у розвитку мозку, так і в процесах нейропластичності. Наразі рівень BDNF розглядають в якості одного з базових маркерів нейродегенерації. Оскільки BDNF має важливе значення для виживання нейронів — зниження його рівня може сприяти клітинній атрофії, а в деяких випадках може навіть спричинити загибель клітин.

BDNF легко долає ГЕБ в обох напрямках, тому зміни його концентрації в крові віддзеркалюють зміни в ЦНС [22]. Було доведено, що хронічний стрес знижує рівень BDNF у периферичній крові практично здорових людей та пацієнтів із РС, більшість з яких вже мали початковий низький рівень нейротрофіну, а ступінь руйнування нервових клітин — негативно корелює із вмістом BDNF у сироватці крові пацієнтів із РС [23, 24].

У нашому дослідженні ми також визначали зміни рівня BDNF у пацієнтів із РС у залежності від особливостей перебігу захворювання та після рТМС. Було виявлено, що у групах пацієнтів із ремітуючим та прогресуючими типами перебігу РС — діапазон концентрації BDNF у сироватці крові коливався від 400 до 4200 пг/мл, але достовірна різниця була відмічена між групами ППТ та ВПТ і складала 60 % (Табл. 2).

Тип РС	Група порівняння		Група втручання	
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
Первинно прогресуючий	1002,2±115,7	774,6±94,8	1263,7±133,7	919,1±108,5
Вторинно прогресуючий	1610,5±166,4	1731,7±170,8	1773,2±163,4	2241,8±201,2*
Ремітуючий	1497,2±125,7	2062,8±228,0*	1761,2±139,7	2517,9±263,2*

Таблиця 2. Концентрація BDNF (пг/мл) у сироватці крові пацієнтів із розсіяним склерозом у залежності від типів перебігу до і після лікування (M±m) * - p < 0,05 при порівнянні з групою «вторинно прогресуючий тип РС»; ** - p < 0,05 при порівнянні з групою «до лікування»

Слід відзначити відсутність різниці показників вмісту BDNF до лікування між вторинно прогресуючим та ремітуючим типами перебігу РС. Таким чином, пацієнти із ППТ — в середньому мали в 1,5 рази нижчий рівень BDNF, ніж у зазначених групах. Порівнюючи представлені дані із даними вмісту кортизолу в сироватці крові пацієнтів із РС, можна відмітити, що пацієнти з прогресуючим типом РС — мають достовірно нижчий рівень кортизолу, ніж з РТ РС, а первинно прогресуючий тип перебігу від ВПТ та РТ РС — відрізняє значно знижений рівень BDNF. Доведено, що ген BDNF володіє певним рівнем поліморфізму, який корелює зі ступенем атрофії мозку та когнітивних порушень [25]. І хоча в досліджуваній літературі не було виявлено прямих доказів взаємозв'язку поліморфізму гена BDNF з типом перебігу РС — не можна виключити наявність генетичної складової у формуванні первинно прогресуючого чи ремітуючого типів.

Кортизол, рівень якого суттєво змінюється в умовах розвитку РС — є одним із факторів, який впливає на рівень продукції BDNF, але цей процес залежить від дуже багатьох умов, що не дозволяє однозначно передбачити зміни BDNF у залежності від високого чи низького рівня секреції гормону. Мабуть, це є причиною того, що ми не виявили кореляцій між рівнями цих показників.

Кортизол та BDNF діють узгоджено, але на різних рівнях. BDNF синтезується, головним чином — в нервових клітинах, та діє локально на сусідні структури, підтримуючи їх пластичність та контролюючи нейрогенез. Кортизол залучений до координації багатьох процесів не тільки в мозку, але й у цілому організмі — тобто є ключовим регулятором в системі адаптації, та в залежності від ситуації — може спричиняти позитивні чи негативні для організму ефекти [26].

Дія ТМС на тлі фармакологічної терапії викликала односпрямований ефект на рівень BDNF у сироватці крові: підвищення концентрації нейротрофіну в групі пацієнтів із РТ РС на 42,8 % та менш виражений, але також достовірний - в групі ВПТ на 26,4 %. Сама терапія теж чинила позитивний вплив — підвищення концентрації BDNF на 37,8 %, але лише в групі РТ. Таким

чином — ТМС підсилює ефективність фармакологічної терапії в групах із ремітуючим та вторинно прогресуючим типами РС на рівні активації нейропротективних та нейропластичних процесів.

Ще однією важливою ланкою гормональної регуляції перебігу нейродегенеративних захворювань — є тиреоїдні гормони. При РС вони чинять помітний вплив на відновлення мієлінових оболонок. Репаративні процеси при РС починаються вже в період першого загострення. Вони складаються з мобілізації мультипотенційних попередників олігодендроцитів, які розподілені серед сірої та білої речовини в субвентрикулярній зоні латеральних шлуночків, гіпокампі та спинному мозку. Деякі фактори, які утворюються у вогнищі запалення — стимулюють міграцію попередників олігодендроцитів та стовбурових клітин до зони пошкодження та їх проліферацію. Екзогенний тироксин (Т4) зупиняє проліферацію клітин-попередників, сприяє їх диференціюванню в олігодендроцити та стимулює експресію основного білка — мієліну. Однак такі можливості відсутні у випадках непошкоджених мієлінових оболонок [27]. Відомо також, що недиференційовані клітини-попередники секретують фактор росту нервів NGF, який регулює локальний запальний процес та захищає олігодендроцити від пошкоджуючої дії TNF- α . Тиреоїдний гормон контролює ендогенний синтез NGF та сприяє процесу ремієлінізації [28, 29].

У нашому дослідженні було виявлено, в середньому — стабільний рівень концентрації ТТГ у пацієнтів із РС, не зважаючи на тип перебігу захворювання (Табл. 3).

Тип РС	Група порівняння		Група втручання	
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
Тиреотропний гормон				
Первинно прогресуючий	1,37 \pm 0,28	1,35 \pm 0,33	1,34 \pm 0,38	1,33 \pm 0,35
Вторинно прогресуючий	1,35 \pm 0,30	1,36 \pm 0,40	1,35 \pm 0,33	1,38 \pm 0,38
Ремітуючий	1,38 \pm 0,29	1,39 \pm 0,42	1,37 \pm 0,34	1,45 \pm 0,31**
Тироксин				
Первинно прогресуючий	78,83 \pm 4,83*	80, 66 \pm 7.30	82,25 \pm 5,30*	78,93 \pm 6,00*
Вторинно прогресуючий	96,34 \pm 7,96	98,21 \pm 8,51	96,18 \pm 8,11	99,25 \pm 7,78
Ремітуючий	96,40 \pm 5,92	99,81 \pm 6,33	97,13 \pm 6,47	98,16 \pm 6,54

Таблиця 3. Концентрація тиреотропного гормону (мМОд/л) та тироксину (нмоль/л) у сироватці крові пацієнтів із розсіяним склерозом до і після лікування (M \pm m) * - p < 0,05 при порівнянні з групою «вторинно прогресуючий тип РС»; ** - p < 0,05 при порівнянні з групою «до лікування»

Визначення вмісту тироксину (Т4) продемонструвало низький рівень гормону в групі пацієнтів із ППТ (на 17-22 % нижчий від показників у групах ВПТ та РТ). Ці дані можуть свідчити про наявність гіпофункції щитовидної залози в умовах розвитку первинно прогресуючого типу РС. Слід також відзначити, що концентрація ТТГ в сироватці крові чоловіків, які страждають на РС — була значно нижча, ніж у жінок, що може відображати менш благоприємний перебіг захворювання.

Застосування ТМС спричиняло підвищення рівня ТТГ у групі пацієнтів із РТ РС, але не впливало на концентрацію загального тироксину в сироватці крові. У групах з іншим типом перебігу РС, достовірних змін, зазначених показників — виявлено не було. У доступній літературі, дані відносно змін показників тиреоїдного обміну вельми суперечливі, але у більшості випадків — свідчать про активацію тиреоїдної функції після застосування ТМС у пацієнтів із депресивними розладами та РС, що супроводжується покращенням клінічної картини перебігу захворювання [31,33]. Треба також враховувати, що гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдна система здійснює регуляцію функцій обміну речовин, енергетичного обміну та

репаративних процесів: як на рівні цілого організму, так і локально — на рівні окремих тканин та патологічних локусів, тому велику значущість має саме локальна специфічна модуляція процесів обміну, яка не завжди відображається на рівні циркулюючих у крові гормонів [32].

Висновок

Нейротрофіни і гормони відіграють велику роль у процесах ремієлінізації та нейропластичності. Застосування обраних параметрів рТМС чинить позитивний вплив на гіпоталамо-гіпофізарну систему регуляції функцій глюкокортикоїдних та тиреоїдних гормонів, а також на нейротрофічні процеси в ЦНС в умовах розвитку розсіяного склерозу. Найбільш чутливим до впливів ТМС є ремітуючий тип захворювання. Таким чином, підсумовуючи отримані дані — можна стверджувати, що ТМС відкриває нові перспективи для неінвазивної нейромодуляції у пацієнтів із РС.

Додаткова інформація

Конфлікт інтересів

Автори заявляють про відсутність будь-якого конфлікту інтересів.

Посилання

1. Glass CK, Saijo K, Winner B, Marchetto MC, Gage FH. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. *Cell*. 2010;140(6):918-34. DOI: doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.016
2. Kern S, Schultheiss T, Schneider H, Schrepf W, Reichmann H, Ziemssen T. Circadian cortisol, depressive symptoms and neurological impairment in early multiple sclerosis. *Psychoneuroendocrinology*. 2011;36(10):1505-12. DOI: doi.org/10.1016/j.psyneuen.2011.04.004
3. Tomassini V, Onesti E, Mainero C, et al. Sex hormones modulate brain damage in multiple sclerosis: MRI evidence. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005;76(2):272-5. DOI: doi.org/10.1136/jnnp.2003.033324
4. Calzà L, Fernandez M, Giardino L. Cellular approaches to central nervous system remyelination stimulation: thyroid hormone to promote myelin repair via endogenous stem and precursor cells. *J Mol Endocrinol*. 2010;44(1):13-23. DOI: doi.org/10.1677/JME-09-0067
5. Kern S, Krause I, Horntrich A, Thomas K, Aderhold J, Ziemssen T. Cortisol awakening response is linked to disease course and progression in multiple sclerosis. *PLoS One*. 2013;8(4):e60647. DOI: doi.org/10.1371/journal.pone.0060647.
6. Pereira GM, Soares NM, Souza AR, Becker J, Finkelsztejn A, Almeida RMM. Basal cortisol levels and the relationship with clinical symptoms in multiple sclerosis: a systematic review. *Arq Neuropsiquiatr*. 2018;76(9):622-34. DOI: doi.org/10.1590/0004-282X20180091
7. Burfeind KG, Yadav V, Marks DL. Hypothalamic Dysfunction and Multiple Sclerosis: Implications for Fatigue and Weight Dysregulation. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2016;16(11):98. DOI: doi.org/10.1007/s11910-016-0700-3.
8. Matura LA, Malone S, Jaime-Lara R, Riegel B. A Systematic Review of Biological Mechanisms of Fatigue in Chronic Illness. *Biol Res Nurs*. 2018;20(4):410-21. DOI: doi.org/10.1177/1099800418764326
9. Smith SM, Vale WW. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues Clin Neurosci*. 2006;8(4):383-95. DOI: doi.org/10.31887/DCNS.2006.8.4/ssmith
10. Kim HK, Blumberger DM, Downar J, Daskalakis ZJ. Systematic review of biological markers of therapeutic repetitive transcranial magnetic stimulation in neurological and psychiatric disorders. *Clin Neurophysiol*. 2021;132(2):429-48. DOI: doi.org/10.1016/j.clinph.2020.11.025
11. Yang X, Song L, Liu Z. The effect of repetitive transcranial magnetic stimulation on a model

- rat of Parkinson's disease. *Neuroreport*. 2010;21(4):268-72. DOI: doi.org/10.1097/WNR.0b013e328335b411
12. Kern S, Schultheiss T, Schneider H, Schrepf W, Reichmann H, Ziemssen T. Circadian cortisol, depressive symptoms and neurological impairment in early multiple sclerosis. *Psychoneuroendocrinology*. 2011;36(10):1505-1512. DOI: doi.org/10.1016/j.psyneuen.2011.04.004
 13. Miller GE, Chen E, Zhou ES. If it goes up, must it come down? Chronic stress and the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis in humans. *Psychol Bull*. 2007;133(1):25-45. DOI: doi.org/10.1037/0033-2909.133.1.25
 14. Huitinga I, Erkut ZA, van Beurden D, Swaab DF. The hypothalamo-pituitary-adrenal axis in multiple sclerosis. *Ann N Y Acad Sci*. 2003;992:118-28. DOI: doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb03143.x
 15. Gold SM, Raji A, Huitinga I, Wiedemann K, Schulz KH, Heesen C. Hypothalamo-pituitary-adrenal axis activity predicts disease progression in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2005;165(1-2):186-191. DOI: doi.org/10.1016/j.jneuroim.2005.04.014
 16. Then Bergh F, Kämpfel T, Trenkwalder C, Rupprecht R, Holsboer F. Dysregulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis is related to the clinical course of MS. *Neurology*. 1999;53(4):772-777. DOI: doi.org/10.1212/wnl.53.4.772
 17. Melief J, de Wit SJ, van Eden CG, et al. HPA axis activity in multiple sclerosis correlates with disease severity, lesion type and gene expression in normal-appearing white matter. *Acta Neuropathol*. 2013;126(2):237-49. DOI: doi.org/10.1007/s00401-013-1140-7
 18. Suri D, Vaidya VA. Glucocorticoid regulation of brain-derived neurotrophic factor: relevance to hippocampal structural and functional plasticity. *Neuroscience*. 2013;239:196-213. DOI: doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.08.065
 19. Evers S, Hengst K, Pecuch PW. The impact of repetitive transcranial magnetic stimulation on pituitary hormone levels and cortisol in healthy subjects. *J Affect Disord*. 2001;66(1):83-8. DOI: doi.org/10.1016/s0165-0327(00)00289-5
 20. Pedraz B, Sammer G. The importance of glutamate in the neuro-endocrinological functions in multiple sclerosis, related to fatigue. *Importancia del glutamato en las funciones neuroendocrinológicas en la esclerosis múltiple relacionadas con la fatiga*. *Rev Neurol*. 2018;67(10):387-93.
 21. Dubin MJ, Mao X, Banerjee S, et al. Elevated prefrontal cortex GABA in patients with major depressive disorder after TMS treatment measured with proton magnetic resonance spectroscopy. *J Psychiatry Neurosci*. 2016;41(3):E37-E45. DOI: doi.org/10.1503/jpn.150223
 22. Sorenson M, Jason L, Peterson J, Herrington J, Mathews H. Brain derived neurotrophic factor is decreased in chronic fatigue syndrome and multiple sclerosis. *J Neurol Neurophysiol*. 2014. S12: S2-013. DOI: doi.org/10.4172/2155-9562.S12-013
 23. Comini-Frota ER, Rodrigues DH, Miranda EC, et al. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor correlate with the number of T2 MRI lesions in multiple sclerosis. *Braz J Med Biol Res*. 2012;45(1):68-71. DOI: doi.org/10.1590/s0100-879x2011007500165
 24. Nociti V, Santoro M, Quaranta D, et al. Correction: BDNF rs6265 polymorphism methylation in Multiple Sclerosis: A possible marker of disease progression. *PLoS One*. 2019;14(2):e0212906. DOI: doi.org/10.1371/journal.pone.0212906
 25. de Assis GG, Gasanov EV. BDNF and Cortisol integrative system - Plasticity vs. degeneration: Implications of the Val66Met polymorphism. *Front Neuroendocrinol*. 2019;55:100784. DOI: doi.org/10.1016/j.yfrne.2019.100784
 26. Calza L, Fernandez M, Giuliani A, Aloe L, Giardino L. Thyroid hormone activates oligodendrocyte precursors and increases a myelin-forming protein and NGF content in the spinal cord during experimental allergic encephalomyelitis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(5):3258-63. DOI: doi.org/10.1073/pnas.052704499
 27. Matsushita T, Horikawa M, Iwata Y, Tedder TF. Regulatory B cells (B10 cells) and regulatory T cells have independent roles in controlling experimental autoimmune encephalomyelitis initiation and late-phase immunopathogenesis. *J Immunol*. 2010;185(4):2240-52. DOI: doi.org/10.4049/jimmunol.1001307
 28. Calzà L, Fernandez M, Giardino L. Cellular approaches to central nervous system

- remyelination stimulation: thyroid hormone to promote myelin repair via endogenous stem and precursor cells. *J Mol Endocrinol.* 2010;44(1):13-23. DOI: doi.org/10.1677/JME-09-0067
29. Hartley MD, Banerji T, Tagge IJ, et al. Myelin repair stimulated by CNS-selective thyroid hormone action. *JCI Insight.* 2019;4(8):e126329. DOI: doi.org/10.1172/jci.insight.126329
 30. Trojak B, Chauvet-Gelinier JC, Vergès B, Bonin B. Significant increase in plasma thyroid-stimulating hormone during low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 2011;23(1):E12. DOI: doi.org/10.1176/jnp.23.1.jnpe12
 31. Yavuz S, Salgado Nunez Del Prado S, Celi FS. Thyroid Hormone Action and Energy Expenditure. *J Endocr Soc.* 2019;3(7):1345-1356. DOI: doi.org/10.1210/js.2018-00423
 32. Agüera E, Caballero-Villarraso J, Feijóo M, et al. Clinical and Neurochemical Effects of Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) in Multiple Sclerosis: A Study Protocol for a Randomized Clinical Trial. *Front Neurol.* 2020;11:750. DOI: doi.org/10.3389/fneur.2020.00750