

УДК 616.832-004.2-097:57.082.13:611.018.83+577.112.82

КИРИЛЮК С.Я.¹НЕГРИЧ Т.І.¹СТОЙКА Р.С.²КІТ Ю.Я.²¹ Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького² Інститут біології клітини НАН України, м. Львів

АВТОАНТИТІЛА КЛАСУ IgG ДО ОСНОВНОГО БІЛКА МІЄЛІНУ ТА ГІСТОНУ-Н1 ЯК НОВІ БІОЛОГІЧНІ МАРКЕРИ РОЗСІЯНОГО СКЛЕРОЗУ

Резюме. З метою пошуку нових маркерів тяжкості перебігу розсіяного склерозу було проведено порівняльний аналіз вмісту у сироватці крові хворих на розсіяний склероз IgG-антитіл, специфічних щодо гістону-Н1 та основного білка мієліну (ОБМ). Для аналізу було використано 55 зразків сироватки крові пацієнтів чоловічої та жіночої статі різного віку, з різним перебігом захворювання. Вміст антигістон-Н1- і анти-ОБМ-IgG-антитіл оцінювали за допомогою імуноензимного аналізу. Було встановлено, що сироватки крові хворих на розсіяний склероз суттєво відрізняються за вмістом антигістон-Н1- та анти-ОБМ-антитіл і рівень цих IgG-антитіл залежить від клінічних характеристик захворювання.

Ключові слова: розсіяний склероз, IgG, гістон-Н1, основний білок мієліну.

Вступ

Розсіяний склероз (РС) є прогресуючим демієлінізуючим нейродегенеративним захворюванням центральної нервової системи, яке супроводжується утворенням у головному та/або спинному мозку склеротичних бляшок, що призводить до розвитку неврологічних порушень різного ступеня тяжкості [1, 2]. РС зараховують до аутоімунних захворювань, оскільки вважають, що саме імунні реакції відіграють ключову роль у процесі демієлінізації аксонів [1, 2]. Як і при інших аутоімунних захворюваннях, у хворих на РС виявляють високий титр антитіл (АТ) до антигенів власного організму — аутоантитіл (ауто-АТ). До них належать ауто-АТ зі спорідненістю до окремих білків мієліну, зокрема до основного білка мієліну (ОБМ), глікопротеїну мієліну олігодендроцитів, циклонукле-

отидифосфодіестерази та інших білків [8, 11]. Ауто-АТ до вказаних антигенів виявлені тільки у хворих на РС, і тому їх визначення у спинномозковій рідині та крові використовують для діагностики цього захворювання та оцінки ступеня його тяжкості [10].

Було встановлено, що в сироватці крові хворих на РС окрім антитіл до ОБМ також присутні антитіла до лінкерного гістону-Н1 [9]. Відомо, що функції

Адреса для листування з авторами:

Негрич Тетяна Іванівна
79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69
Львівський національний медичний університет
ім. Данила Галицького

© Кирилюк С.Я., Негрич Т.І., Стойка Р.С., Кіт Ю.Я., 2014

© «Міжнародний неврологічний журнал», 2014

© Заславський О.Ю., 2014

гістону-Н1 не обмежуються його участю у структурній реорганізації хроматину ядра еукаріотичних клітин. Гістон-Н1 також присутній на зовнішній поверхні плазматичної мембрани моноцитів, нейронів і астроцитів людини, де він діє як рецептор ліпополісахаридів грамнегативних бактерій [3, 4, 7]. Синтез позахроматинового гістону-Н1 у нейронах головного мозку відбувається конститутивно, але вміст його у цих клітинах зростає під час пріонних інфекцій та хвороби Альцгеймера [4, 5]. Оскільки було показано, що протеолітична активність щодо ОБМ зумовлена анти-ОБМ-антитілами, ми припустили, що в сироватці крові хворих на РС також можуть бути присутні антитіла, специфічні щодо гістону-Н1. Ймовірно, що присутність антигістон-Н1-автоантитіл у сироватці крові хворих на РС може відображати певні автоімунні процеси, залучені у розвиток цього захворювання.

Мета роботи — вивчення патогенетичного і клінічного значення авто-АТ, специфічних щодо ОБМ та гістону-Н1 при різних варіантах клінічного перебігу та ступенях тяжкості РС.

Матеріали та методи дослідження

У дослідження були включені 55 пацієнтів із вірогідним діагнозом РС згідно з критеріями Мак-Дональда (2010). У табл. 1 наведені демографічні характеристики обстежених хворих на РС.

Середній вік обстеженої нами групи пацієнтів був відносно зрілим і становив $38,16 \pm 1,48$ року з перевагою жінок (67,27 %), що узгоджується з даними літератури. Переважна більшість хворих (58,18 %, $n = 32$) була з рецидивуючо-ремітуючим перебігом РС, а найменше — з первинно-прогресуючим (7,27 %, $n = 4$), у дебюті цього захворювання перебували 9,09 % ($n = 5$) пацієнтів. Тривалість захворювання виявилась значною і становила $8,29 \pm 1,10$ року. Найменша кількість пацієнтів захворіли недавно (до 1 року), їх було 10,9 %. Водночас частки хворих із тривалістю патологічного процесу 5–10 років і понад 10 років виявилися майже одна-

ковими (27,27 та 25,45 % відповідно). Переважна кількість обстежених — із середнім ступенем тяжкості (50,91 %). Середній бал за шкалою EDSS знаходився в межах $4,48 \pm 0,19$. Вагомою виявилась частка хворих із тяжкою інвалідизацією (20 %) (6–9 балів за шкалою EDSS). До групи контролю увійшли 20 практично здорових осіб відповідного віку та статі.

Усім хворим проводили загальноклінічне та неврологічне дослідження. Ступінь вираженості неврологічного дефіциту у хворих на РС визначали за допомогою шкали EDSS та функціональних систем (Functional System, FS). У сироватці крові хворих на РС за допомогою імуноензимного аналізу визначали вміст антитіл, специфічних щодо ОБМ та гістону-Н1. Отримані показники оптичної щільності автоантитіл визначали в умовних одиницях (ум.од.).

Імуноензимний аналіз (ІЕА) здійснювали, як описано в [6]. Для цього на 96-лункові планшети (Nunc, США) сорбували гістон-Н1 людини та ОБМ бика (8 мкг/мл) у 0,1 М карбонатному/бікарбонатному буфері, рН 9,6 при $+4^\circ\text{C}$ упродовж ночі. Планшети тричі промивали ТБС, що містив 0,05% твін-20, і блокували 5% БСА (Sigma, США) у цьому ж буфері впродовж 2 год при $+37^\circ\text{C}$. У лунки вносили препарати АТ (5 мкг/мл) та інкубували 2 год при $+37^\circ\text{C}$ у ТБС-буфері, що містив 2% БСА та 0,05% твін-20. Після завершення інкубації лунки промивали ТБС, що містив 0,05% твін-20 (3 рази). Наявність АТ детектували після інкубації із антитілами кози, моноспецифічними щодо важких ланцюгів IgG людини, кон'югованих із пероксидазою хрому (Jackson Labor, Німеччина). Імунокон'югати виявляли розчином субстрату, що містив 0,1% ТМВ (3,3',5,5'-тетраметилбензидин) у диметилсульфоксиді (Sigma, США), розчиненого у 100 мМ Na_2HPO_4 та 50 мМ лимонної кислоти, рН 4,5. Розчин ТМВ і субстратний буфер змішували у співвідношенні 1 : 10 і додавали 0,006% розчину пероксиду водню. Реакцію зупиняли внесенням у лунки 25% сірчаної кислоти (1 : 1). Уміст АТ визначали за оптичною щільністю розчину при 450 нм на сканері мікропланшетів BioTek (США).

Таблиця 1. Характеристика обстеженого контингенту хворих на РС

Демографічні та клінічні характеристики обстежених пацієнтів ($n = 55$)	Середні значення досліджуваного показника та його стандартна похибка ($M \pm m$)
Вік, роки	$38,16 \pm 1,48$
Чоловіки, %	32,73
Жінки, %	67,27
Середня тривалість захворювання, роки	$8,29 \pm 1,10$
Перебіг рецидивуючо-ремітуючий, %	58,18
Перебіг вторинно-прогресуючий, %	25,45
Перебіг первинно-прогресуючий, %	7,27
Дебют, %	9,09
Шкала EDSS, бали	$4,48 \pm 0,19$

Результати обробляли за допомогою програм Excel і Statistica 6.0. Розраховували середнє арифметичне і стандартну похибку. Ступінь вірогідності визначали за допомогою t-критерію Стьюдента. За рівень статистичної вірогідності вважали результати при $p < 0,05$.

Результати і обговорення

П'ятдесят п'ять зразків сироватки крові хворих на РС було тестовано за допомогою методу ІЕА на наявність анти-ОБМ- і антигістон-Н1-антитіл. На рис. 1 наведено дані ІЕА 36 із 55 зразків сироватки щодо спорідненості гістону-Н1 людини та ОБМ бика. За контроль було взято середній уміст цих антитіл у сироватці крові 20 клінічно здорових донорів.

Як видно на рис. 1, у сироватці крові хворих на РС були присутні IgG-антитіла, здатні зв'язуватися з гістоном-Н1, а також із ОБМ. Отримані дані дають підставу припускати, що в сироватці крові хворих на РС окрім анти-ОБМ-IgG-антитіл є і антигістон-Н1-АТ. Відомо, що анти-ОБМ-антитіла мають високу специфічність щодо зв'язування з ОБМ [10, 11]. На основі цих даних можна припустити, що в сироватці крові хворих на РС окрім вузькоспецифічних анти-ОБМ-АТ також можуть бути присутні й АТ, вузькоспецифічні

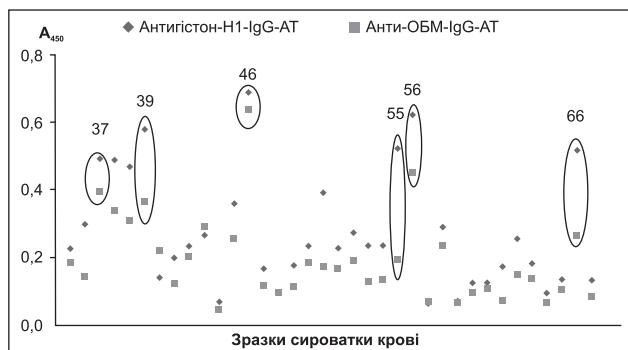


Рисунок 1. Визначення імунореактивності IgG-антитіл сироватки крові хворих на РС щодо білка мієліну бика і гістону-Н1 людини методом ІЕА. Цифрами вказані зразки сироватки крові хворих на РС із найбільшою різницею між показниками

щодо гістону-Н1. Оскільки кінетичні параметри спорідненості антитіл щодо гістону-Н1 на сьогодні не визначені, не виключено, що в сироватці крові хворих на РС окрім високоспецифічних анти-ОБМ-АТ також наявні IgG-автоантитіла із перехресною реактивністю як щодо гістону-Н1, так і до ОБМ. Аналіз амінокислотних послідовностей цих двох білків за допомогою комп'ютерного інтернет-ресурсу BLAST не виявив поліпептидних ділянок, здатних слугувати спільними епітопами для гістону-Н1 і ОБМ. З іншого боку, не можна виключити те, що зв'язування АТ із цими білками зумовлене їхньою третинною структурою, яка може формувати «просторові» епітопи, спільні для цих двох білків. На сьогодні питання поліреактивності антигістон-Н1-АТ залишається нез'ясованим і потребує детального вивчення.

Вивчали показники оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ, які визначали в умовних одиницях (табл. 2).

Виявили статистично вірогідну різницю між середнім значенням оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ хворих на РС та контрольною групою ($p < 0,01$). При цьому спорідненість автоантитіл до гістону-Н1 (середнє значення оптичної щільності) у більшості зразків сироватки крові була значно вищою порівняно зі спорідненістю цих же зразків щодо ОБМ як у контрольній групі, так і в сироватках крові хворих на РС ($p < 0,05$).

Також визначали залежність показників оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ у сироватці крові пацієнтів від клінічних характеристик цього захворювання, зокрема від віку, статі, тривалості, перебігу, швидкості прогресування хвороби та ступеня інвалідації хворих на РС.

У табл. 3 наведено результати середніх значень показників оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ залежно від віку хворих на РС. Усіх обстежених ми розподілили на чотири групи за віком: до 29 років, 30–39 років, 40–49 років та старші за 50 років.

Як видно з табл. 3, було виявлено вірогідну різницю між середніми значеннями рівня оптичної щільності

Таблиця 2. Зміни показників оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ у сироватці хворих на РС

Досліджуваний показник	Середні значення досліджуваного показника та їх стандартні похибки (M ± m), ум.од.		
	Контрольна група	Хворі на РС	Вірогідність різниці між досліджуваними показниками (p)
Оптична щільність анти-ОБМ-АТ	0,04 ± 0,01	0,26 ± 0,02	< 0,01*
Оптична щільність антигістон-Н1-АТ	0,07 ± 0,01	0,32 ± 0,02	< 0,01*
Вірогідність різниці між показниками оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ (p)	< 0,05**	< 0,05**	

Примітки: * – вірогідність відмінності показників між досліджуваною і контрольною групами, $p < 0,01$; ** – вірогідність відмінності між показниками оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ, $p < 0,05$.

Таблиця 3. Зміни показників оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ у сироватці хворих на РС залежно від віку та порівняно з контрольною групою

Досліджувані показники	Середні значення досліджуваного показника та їх стандартні похибки (M ± m), ум.од.					Вірогідність різниці між досліджуваними показниками різних груп (p)									
	1-ша група	2-га група	3-тя група	4-та група	5-та група	1-ю та 2-ю	1-ю та 3-ю	1-ю та 4-ю	1-ю та 5-ю	2-ю та 3-ю	2-ю та 4-ю	2-ю та 5-ю	3-ю та 4-ю	3-ю та 5-ю	4-ю та 5-ю
Оптична щільність антигістон-Н1-АТ	0,07 ± 0,01	0,3 ± 0,05	0,35 ± 0,04	0,35 ± 0,04	0,28 ± 0,05	< 0,01*	< 0,01*	< 0,01*	< 0,01*	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Оптична щільність анти-ОБМ-АТ	0,04 ± 0,01	0,25 ± 0,04	0,28 ± 0,04	0,27 ± 0,03	0,22 ± 0,05	< 0,01*	< 0,01*	< 0,01*	< 0,01*	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Примітка: * — вірогідність відмінності показників між досліджуваними і контрольною групами, p < 0,01.

Таблиця 5. Зміни показників оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ у сироватці хворих на РС залежно від тривалості захворювання та порівняно з контрольною групою

Досліджувані показники	Середні значення досліджуваного показника та їх стандартні похибки (M ± m), ум.од.					Вірогідність різниці між досліджуваними показниками різних груп (p)									
	1-ша група	2-га група	3-тя група	4-та група	5-та група	1-ю та 2-ю	1-ю та 3-ю	1-ю та 4-ю	1-ю та 5-ю	2-ю та 3-ю	2-ю та 4-ю	2-ю та 5-ю	3-ю та 4-ю	3-ю та 5-ю	4-ю та 5-ю
Оптична щільність антигістон-Н1-АТ	0,07 ± 0,01	0,3 ± 0,05	0,35 ± 0,04	0,35 ± 0,04	0,28 ± 0,05	< 0,01*	< 0,01*	< 0,01*	< 0,01*	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Оптична щільність анти-ОБМ-АТ	0,04 ± 0,01	0,25 ± 0,04	0,28 ± 0,04	0,27 ± 0,03	0,22 ± 0,05	< 0,01*	< 0,01*	< 0,01*	< 0,01*	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Примітки: * — вірогідність відмінності показників між досліджуваними і контрольною групами, p < 0,01; ** — вірогідність відмінності показників між групами 6–10 років і понад 10 років, p < 0,05.

Таблиця 4. Зміни показників оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ у сироватці хворих на РС залежно від їх статі та порівняно з контрольною групою

Досліджуваний показник	Середні значення досліджуваного показника та їх стандартні похибки ($M \pm m$), ум.од.					
	1-ша група	2-га група	3-тя група	Вірогідність різниці між досліджуваними показниками різних груп (p)		
	Контрольна група ($n = 20$)	Чоловіки ($n = 21$)	Жінки ($n = 44$)	1-ю та 2-ю	1-ю та 3-ю	2-ю та 3-ю
Оптична щільність антигістон-Н1-АТ	$0,07 \pm 0,01$	$0,32 \pm 0,04$	$0,32 \pm 0,03$	$< 0,01^*$	$< 0,01^*$	$> 0,05$
Оптична щільність анти-ОБМ-АТ	$0,04 \pm 0,01$	$0,25 \pm 0,04$	$0,26 \pm 0,02$	$< 0,01^*$	$< 0,01^*$	$> 0,05$

Примітка: * — вірогідність відмінності показників між досліджуваними і контрольною групами, $p < 0,01$.

антигістон-Н1- та анти-ОБМ-АТ у сироватці хворих на РС різних вікових груп порівняно з контрольною групою ($p < 0,01$).

У табл. 4 наведені дані про вплив статевої приналежності пацієнтів із РС на рівень анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ.

Як видно з табл. 4, у групі хворих на РС чоловіків і жінок значення досліджуваних показників виявилися вірогідно вищими порівняно з контрольною групою ($p < 0,01$). Водночас не було виявлено вірогідно відмінних показників середніх значень оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ між чоловіками і жінками з РС.

У табл. 5 наведено результати рівня анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ у сироватці крові хворих на РС залежно від тривалості патологічного процесу при цьому захворюванні. За тривалістю РС виділили 4 групи пацієнтів: до 1-го року, 1–5 років, 6–10 та понад 10 років.

Як видно з табл. 5, середні значення оптичної щільності антигістон-Н1- та анти-ОБМ-АТ у сироватці крові хворих на РС із різною тривалістю захворювання виявилися вірогідно вищими порівняно з контрольною групою ($p < 0,01$). Навіть при тривалості хвороби до 1 року показники вірогідно відрізнялися від таких у контрольній групі. Виявлено, що у хворих на РС із тривалістю РС 6–10 років середній показник оптичної щільності антигістон-Н1-АТ найвищий і вірогідно відрізняється від групи пацієнтів із тривалістю захворювання понад 10 років ($0,39 \pm 0,04$ ум.од. проти $0,28 \pm 0,04$ ум.од., при $p < 0,05$).

У табл. 6 наведено результати залежності середніх значень показників оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ у сироватці хворих на РС від ступеня інвалідизації за шкалою EDSS. Усіх пацієнтів розподілили на групи залежно від ступеня інвалідизації. З легким ступенем інвалідизації за шкалою EDSS вважали хворих із 0–3,5 бала, із середнім — 4,0–5,5 бала, а з тяжким ступенем — із 6–9 балами.

Значення показників виявилися вірогідно вищими у хворих із різними ступенями інвалідизації порівняно з

контрольною групою ($p < 0,01$). Виявлено, що показник середніх значень рівня оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ залежить від ступеня інвалідизації пацієнтів. Статистично вірогідну різницю між середніми значеннями оптичної щільності антигістон-Н1-АТ отримали у хворих при тяжкому ступені інвалідизації порівняно з пацієнтами з легким ступенем РС ($0,4 \pm 0,05$ ум.од. при тяжкій інвалідизації проти $0,27 \pm 0,03$ ум.од. при легкій) ($p < 0,05$).

Вивчали також залежність показників анти-АТ від темпу прогресування хвороби. М'який темп прогресування РС характеризували наявністю легкого рівня інвалідизації (за шкалою EDSS не більше 3 балів) при тривалості хвороби 10 років та більше. Швидкий темп прогресування РС — це перебіг хвороби, при якому протягом 3 років хвороби ступінь інвалідизації за шкалою EDSS наростає до 6 балів або більше.

У табл. 7 наведена характеристика показників оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ залежно від темпу прогресування хвороби.

Як видно з табл. 7, в усіх хворих на РС при різноманітних темпах прогресування хвороби показники автоантитіл вірогідно вищі, ніж у контрольній групі.

У табл. 8 наведено результати середніх значень показників оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ у сироватці крові обстежених нами хворих на РС залежно від типу перебігу хвороби. Виділили 4 типи перебігу РС: рецидивуючо-ремітуючий (РР), первинно-прогресуючий (ПП), вторинно-прогресуючий перебіг (ВП) та дебют (Д).

Як видно з табл. 8, значення оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ у сироватці крові хворих на РС виявилися вірогідно вищими при рецидивуючо-ремітуючому, вторинно-прогресуючому та первинно-прогресуючому типах перебігу хвороби порівняно з контрольною групою ($p < 0,01$). У випадку дебюту хвороби спостерігали вірогідно вищий рівень оптичної щільності анти-ОБМ-АТ порівняно з практично здоровими особами ($0,19 \pm 0,07$ ум.од.

Таблиця 6. Зміни показників оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ у сироватці хворих на РС залежно від ступеня інвалідизації та порівняно з контрольною групою

Досліджувані показники	Середні значення досліджуваного показника та їх стандартні похибки (M ± m), ум.од.							Вірогідність різниці між досліджуваними показниками різних груп (p)			
	1-ша група	2-га група	3-тя група	4-та група	1-ю та 2-ю	1-ю та 3-ю	1-ю та 4-ю	2-ю та 3-ю	2-ю та 4-ю	3-ю та 4-ю	
Контрольна група (n = 20)	0-3,5 бала (n = 16)	4-5,5 бала (n = 28)	6-9,5 бала (n = 11)								
Оптична щільність анти-гістон-Н1-АТ	0,07 ± 0,01	0,27 ± 0,03	0,34 ± 0,03	0,40 ± 0,05	< 0,01*	< 0,01*	< 0,01*	> 0,05	< 0,05**	> 0,05	
Оптична щільність анти-ОБМ-АТ	0,04 ± 0,01	0,21 ± 0,03	0,28 ± 0,03	0,29 ± 0,04	< 0,01*	< 0,01*	< 0,01*	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Примітки: * — вірогідність відмінності показників між досліджуваними і контрольною групами, p < 0,01; ** — вірогідність відмінності показників між групами з тяжким та легким ступенями інвалідизації, p < 0,05.

Таблиця 7. Зміни показників оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ у сироватці хворих на РС залежно від темпу прогресування РС та порівняно з контрольною групою

Досліджувані показники	Середні значення досліджуваного показника та їх стандартні похибки (M ± m), ум.од.							Вірогідність різниці між досліджуваними показниками різних груп (p)			
	1-ша група	2-га група	3-тя група	4-та група	1-ю та 2-ю	1-ю та 3-ю	1-ю та 4-ю	2-ю та 3-ю	2-ю та 4-ю	3-ю та 4-ю	
Контрольна група (n = 20)	Швидкий тип прогресування (n = 3)	М'який тип прогресування (n = 7)	Помірний тип прогресування (n = 45)								
Оптична щільність анти-гістон-Н1-АТ	0,07 ± 0,01	0,39 ± 0,05	0,28 ± 0,05	0,33 ± 0,02	< 0,01*	< 0,01*	< 0,01*	> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Оптична щільність анти-ОБМ-АТ	0,04 ± 0,01	0,28 ± 0,07	0,2 ± 0,05	0,26 ± 0,02	< 0,01*	< 0,01*	< 0,01*	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Примітка: * — вірогідність відмінності показників між досліджуваними і контрольною групами, p < 0,01.

Таблиця 8. Зміни показників оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ у сироватці хворих на РС залежно від типу перебігу РС та порівняно з контрольною групою

Досліджувані показники	Середні значення досліджуваного показника та їх стандартні похибки (M ± m), ум.од.						Вірогідність різниці між досліджуваними показниками різних груп (p)								
	1-ша група	2-га група	3-тя група	4-та група	5-та група		1-ю та 2-ю	1-ю та 3-ю	1-ю та 4-ю	1-ю та 5-ю	2-ю та 4-ю	2-ю та 5-ю	3-ю та 4-ю	3-ю та 5-ю	4-ю та 5-ю
Оптична щільність анти-ОБМ-АТ	0,07 ± 0,01	0,34 ± 0,03	0,3 ± 0,04	0,41 ± 0,08	0,23 ± 0,08	ДРС (n = 5)	< 0,01*	< 0,01*	< 0,01*	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Оптична щільність анти-ОБМ-АТ	0,04 ± 0,01	0,28 ± 0,03	0,22 ± 0,04	0,29 ± 0,05	0,19 ± 0,07	ПП РС (n = 4)	< 0,01*	< 0,01*	< 0,01*	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Примітки: * — вірогідність відмінності показників між групами хворих із РР РС, ВП РС, ПП РС і контрольною, p < 0,01; ** — вірогідність відмінності показника оптичної щільності анти-ОБМ-АТ між хворими на РС у дебюті та контрольною групою, p < 0,05.

проти 0,04 ± 0,01 ум.од.) (p < 0,05), при цьому показник оптичної щільності антигістон-Н1-АТ вірогідно не відрізнявся від контрольної групи.

Висновки

Таким чином, нами було встановлено, що в сироватці крові хворих на РС присутні антитіла класу IgG із спорідненістю щодо гістону-Н1 та ОБМ (антигістон-Н1- та анти-ОБМ-АТ). Встановлено, що спорідненість автоантитіл до гістону-Н1 є значно вищою порівняно зі спорідненістю цих же зразків щодо ОБМ. Виявлено, що рівень середніх значень показників оптичної щільності анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ визначав клінічні характеристики РС. При тривалості патологічного процесу 6–10 років показник антигістон-Н1-АТ виявився найвищим порівняно з тривалістю понад 10 років. У хворих на РС із тяжкою інвалідизацією (6–9,5 бала за шкалою EDSS) рівень антигістон-Н1-АТ виявився найвищим порівняно з хворими із легким ступенем тяжкості. Водночас у дебюті цього захворювання показник оптичної щільності антигістон-Н1-АТ вірогідно не відрізнявся від показників норми на відміну від анти-ОБМ-АТ.

Отже, анти-ОБМ- та антигістон-Н1-АТ відіграють важливу роль у патогенезі РС та можуть слугувати діагностичними маркерами тяжкості патологічного процесу при цьому захворюванні.

Список літератури

- Бойко А.Н., Фаворова О.О. Рассеянный склероз: молекулярные и клеточные механизмы // Мол. биология. — 1995. — Т. 4. — С. 727-749.
- Лисяний Н.И. Иммунология и иммунотерапия рассеянного склероза // Серия «Нейроиммунология». — К., 2003. — Т. 4. — С. 251.
- Boltons J., Perry V.H. Histone H1; a neuronal protein that binds bacterial lipopolysaccharide // J. Neurocytol. — 1997. — Vol. 26. — P. 823-831.
- Bolton S.J., Russelakis-Carneiro M., Betmouni S., Perry V.H. Non-nuclear histone H1 is upregulated in neurones and astrocytes in prion and Alzheimer's diseases but not in acute neurodegeneration // Neuropatol. Appl. Neurobiol. — 1999. — Vol. 25. — P. 425-432.
- Bouras C., Riederer B.M., Kuyari E., Hof P.R., Giannakopoulos P. Humoral immunity in brain aging and Alzheimer's disease // Brain. Res. Rev. — 2005. — Vol. 48. — P. 477-487.
- Chamczuk A.J., Ursell M., O'Connor P., Jackowski G., Moscarello M.A. A rapid ELISA-based serum assay for myelin basic protein in multiple sclerosis // J. Immunol. Methods. — 2002. — Vol. 262, № 1–2. — P. 21-27.
- Emlen W., Holers V.M., Arend W.P., Kotzin B. Regulation of nuclear antigen expression on the cell surface of human monocytes // J. Immunol. — 1992. — Vol. 148. — P. 3042-3048.
- Kaiser R., Obert M., Kaufmann R., Czygan M. IgG-antibodies to CNS proteins in patients with multiple sclerosis // Eur. J. Med. Res. — 1997. — Vol. 21, № 2. — P. 169-172.

9. Kit Y.Y., Starykovich M.A., Richter V.A., Stoika R.S. *Detection and characterization of IgG- and sIgA-Abzymes capable of hydrolyzing histone H1* // *Biochemistry (Mosc)*. — 2008. — Vol. 73. — P. 950-956.

10. Lefranc D., Almeras L., Dubucquoi S., de Seze J., Vermersch P., Prin L. *Distortion of the self-reactive IgG antibody repertoire in multiple sclerosis as a new diag-*

nostic tool // *J. Immunol.* — 2004. — Vol. 172, № 1. — P. 669-678.

11. Vojdani A., Vojdani E., Cooper E. *Antibodies to myelin basic protein, myelin oligodendrocytes peptides, alpha-beta-crystallin, lymphocyte activation and cytokine production in patients with multiple sclerosis* // *J. Intern. Med.* — 2003. — Vol. 254, № 4. — P. 363-374.

Отримано 17.02.14 ■

Кирилюк С.Я.¹, Негрич Т.И.¹, Стойка Р.С.², Кит Ю.Я.²

¹ Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого

² Институт биологии клетки НАН Украины, г. Львов

АУТОАНТИТЕЛА КЛАССА IgG К ОСНОВНОМУ БЕЛКУ МИЕЛИНА И ГИСТОНУ-Н1 КАК НОВЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

Резюме. С целью поиска новых маркеров течения рассеянного склероза был проведен сравнительный анализ содержания в сыворотке крови больных рассеянным склерозом IgG-антител, специфичны к гистону-Н1 и основному белку миеллина (ОБМ). Для анализа были использованы 55 образцов сыворотки крови пациентов мужского и женского пола всех возрастов с разным течением заболевания. Для исследования содержания антигистон-Н1- и анти-ОБМ-IgG-антител использовали иммуноферментный анализ. Было установлено, что сыворотки крови больных рассеянным склерозом существенно отличаются по содержанию антигистон-Н1- и анти-ОБМ-антител и уровень этих IgG-антител зависит от клинических характеристик болезни.

Ключевые слова: рассеянный склероз, IgG, гистон-Н1, основной белок миеллина.

Kyryliuk S.Ya.¹, Negrych T.I.¹, Stoyka R.S.², Kit Yu.Ya.²

¹ Lviv National Medical University named after Danylo Galatsky

² Institute of Cell Biology of National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv, Ukraine

IgG CLASS AUTOANTIBODIES TO MYELIN BASIC PROTEIN AND HISTONE H1 AS A NEW BIOLOGICAL MARKERS OF MULTIPLE SCLEROSIS

Summary. In order to find new markers of the clinical course of multiple sclerosis we conducted a comparative analysis of the content in the blood serum of patients with multiple sclerosis of IgG-antibodies specific for histone H1 and myelin basic protein (MBP). For the analysis we used 55 serum samples of male and female patients of all ages, with different disease course. For the investigation of the antihistone H1 and anti-MBP-IgG-antibodies we used enzyme immunoassay. It was found that the serum of patients with multiple sclerosis significantly differ by content of antyhiston-H1- and anti-MBP-antibodies, and level of IgG-antibodies depends on the clinical characteristics of the disease.

Key words: multiple sclerosis, IgG, histone H1, myelin basic protein.