

## АНАЛІЗ ВМІСТУ ІМУННИХ КОМПЛЕКСІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ХВОРИХ НА РОЗСІЯНИЙ СКЛЕРОЗ З УРАХУВАННЯМ ПАТОГЕНЕТИЧНОЇ І ХВОРОБОМОДИФІКУЮЧОЇ ТЕРАПІЇ

**М. О. Бойчук, Р. О. Білий, Т. І. Негрич**

*Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького  
кафедра неврології; м. Львів, вул. Некрасова, 6, Україна;  
тел. 0979002210; e-mail: mboichuk11@gmail.com;*

*Для визначення активності розсіяного склерозу (РС), зокрема для об'єктивного підтвердження загострення хвороби, пропонується проводити тест із аналізом вмісту антитіл до основного білка мієліну (ОБМ) та по визначенню антитіл до компонентів вторинно-некротичних клітин (SNEC).*

**Ключові слова:** *розсіяний склероз, імуноглобуліни, антитіла до основного білка мієліну, антитіла до компонентів вторинно-некротичних клітин.*

**Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень.** Розсіяний склероз (РС) – це хронічне аутоімунне захворювання центральної нервової системи, що характеризується множинними вогнищами демієлінізації в білій речовині головного і спинного мозку і загибеллю аксонів. Патогенез РС, незважаючи на значні досягнення його вивчення, залишається до кінця не з'ясованим. Вважається, що важливу роль відіграють вірусна інфекція і аутоімунні процеси. Не менш складну діагностичну проблему становить клінічно ізольований синдром РС (КІС), оскільки він може бути не тільки маніфестним проявом РС, але й трапляється при деяких системних ревматологічних захворюваннях: антифосфоліпідному синдромі, системному червоному вовчакові (СЧВ), хворобі Бехчета, синдромі Шегрена. Імунологічна природа цих захворювань, рецидивуючий або ремітуючий перебіг, неврологічні прояви та множинні вогнища у білій речовині при МРТ дослідженні утруднюють їхню діагностику.

Людський імуноглобулін IgG містить глікани, що є в основному глікозилітованими олігосахаридними ланцюгами, приєднаними до кожного з аспарагінів 297 (Asn297) CH2 домену молекули. Зважаючи на величезну кількість глікоформ та їх нерівномірний розподіл, а також той факт, що молекули антитіл є гетерогенними (субтипіімуноглобулінів IgG1 – IgG4), дослідження окремих форм часто вимагає складних технічних підходів і не дає чітких відповідей щодо характеру змін глікозилювання при певній патології та можливості його використання з діаг-

ностичному чи терапевтичною метою [10]. Одним із механізмів, що призводять до запальних аутоімунних захворювань, опосередкованих імуноглобулінами IgG, є порушення усунення клітинних решток. Це призводить до розпаду останніх; утворення модифікованих клітинних компонентів, що провокують утворення антитіл до власних компонентів – аутоантитіл та ініціюють аутоімунні реакції [4]. В-клітини виявляють свою прозапальну дію шляхом утворення патогенних аутоантитіл класу IgG (аАТ). При СЧВ аАТ взаємодіють з двоспиральною ДНК та ДНК-РНК-асоційованими білками [4], при РА патогенні аАТ розпізнають циркулюючі епітопи. При РС аАТ атакують компоненти нервової системи, зокрема нервові шляхи, що вкриті мієліновою оболонкою [8].

Глікозилювання аутоантитіл також суттєво впливає на їхню патогенність [4]. Показано, що при деяких аутоімунних захворюваннях, зокрема РА, СЧВ, міастенічному синдромі Ламберта-Ітона та синдромі Гієна-Барре відбуваються зміни гліканового складу молекул імуноглобуліну G, які обумовлені важкістю захворювання або проведеною терапією [8; 9].

Незважаючи на значний прогрес у цій галузі, досі достеменно не відомо, чим контролюється утворення складної сукупності імуноглобулінів і як досягається специфічне глікозилювання кожної форми чи субкласу антитіл [2]. Патогенні аАТ (імуноглобуліни IgG) схильні утворювати імунні комплекси із розпізнаним аутоантигеном. В-клітини виявляються у підвищених кількостях у тканинах ЦНС хворих на РС, а їх кількість є достовірно підвищеною у цереброспінальній рідині хворих. Більш того, у хворих на РС IgG також синтезується інтратекально, а сам IgG та комплемент є характерними ознаками типу 2 та активних ушкоджень (lesions) при РС [3].

Зважаючи на важливу роль, яку патогенні антитіла відіграють у розвитку РС, можливість потенційно змінювати глікозилювання мала б великий терапевтичний потенціал, а за наявності характерних змін, притаманних даному захворюванню – діагностичний потенціал. Очевидно, що запальні процеси при РС призводять до зміни глікозильного складу імуноглобулінів, та для розуміння причини виявлених змін потрібні додаткові дослідження, які б виявляли як гліко-конформацію молекул, так і ділянку приєднання N-глікану.

**Мета дослідження.** Дослідити глікозилювання імуноглобулінів Ig G у сироватці крові хворих на РС з виявленням нативних глікоформ – як потенційного діагностичного чи терапевтичного маркера захворювання.

**Матеріал і методи дослідження.** Обстежено 66 хворих на РС. Серед них – неліковані (первинні) пацієнти; особи після пульс-терапії метилпреднізолоном та патогенетичної терапії. Використано клінічні (дані неврологічного статусу) та лабораторні (визначення загального вмісту імуноглобулінів Ig G та асоційованих імунних комплексів, лектин-

імуноферментний аналіз для визначення глікозилування імуноглобулінів) методи дослідження.

**Результати дослідження та обговорення.** Для всіх пацієнтів у досліджуваних групах було здійснено аналіз вмісту антитіл до основного білка мієліну, зокрема антитіл класу IgG та антитіл класу IgM. Рівень IgG-анти-ОБМ антитіл (який відображає довготермінову імунну відповідь) був підвищений у нелікованих пацієнтів, у порівнянні із групою здорових донорів. Водночас, рівень IgM-анти-ОБМ антитіл був значно підвищений у групі нелікованих пацієнтів і тих, що зазнавали терапії моноклональними антитілами (в обох випадках, різниця була достовірно відмінною,  $p < 0.01$ ). В інших досліджуваних груп, окрім групи, яка приймала інтерферони, також спостерігалось (хоч і не достовірне) зростання рівня зазначених антитіл. Таким чином, у більшості пацієнтів спостерігалась сильна імунна відповідь до компонентів імунної системи (основного білка мієліну), яка була добре виявлена у підвищених рівнях IgM. Даний тип імуноглобулінів утворюється під час швидкої фази імунної відповіді та схильний утворювати імунні комплекси.

Таблиця 1. Основні клінічні показники в досліджуваних групах пацієнтів

	Неліковані			Інтерферони			Метил-преднізолон			Моноклональні антитіла			Терифлуномід		
Кількість пацієнтів	17			15			12			12			10		
Анти-ОМ IgG Ab, % від ЗД	105,9	38,1	109,8	96,8	38,5	108	91,85	56,1	284,8	90,9	35	99,8	103,6	49,9	176,6
Анти-ОМ Ig M Ab, % від ЗД	156,7	52,7	238,3	98,5	55,7	130,8	139,55	82	157,8	185,3	106,5	278,2	156	105,9	156,2

Ураження компонентів ЦНС є одним з ключових діагностичних ознак системного червоного вовчак – комплексу системних аутоімунних захворювань, що супроводжуються утворенням антитіл до компонентів сполучної тканини. Багато інших захворювань часто є вторинними до СЧВ і виникають на його фоні. У такому випадку антитіла проти компонентів ЦНС можуть мати системне походження (тобто атакувати компоненти ЦНС тому, що вони містять окремі компоненти сполучної тканини, проти яких направлені антитіла). Оскільки раніше було описано, що глікозилування антитіл є тісно пов'язане з СЧВ [1; 8; 9], у всіх досліджуваних зразках була проведена перевірка наявності антитіл до компонентів вторинно-некротичних клітин (SNEC) – причини виникнення СЧВ за допомогою нещодавно розробленого високочутливого тесту [8]. Аналіз вмісту антитіл до SNEC показав їх підвищений рівень в

1 здорового добровольця, 5 нелікованих пацієнтів; 1 пацієнта в групі, що приймали інтерферон; 2 – на терапії метилпреднізолоном та 1 в групі з лікуванням терифлуномідом. Позитивний рівень антитіл виявлений у 1 нелікованого пацієнта та 2 пацієнтів, що проходили терапію моноклональними антитілами. Отже, досліджувана група пацієнтів складалась лише із 3 зразків, у яких ураження ЦНС можуть мати вторинну етіологію, як наслідок/ускладнення системного аутоімунного захворювання.

**Висновки.** Отримані дані дозволяють рекомендувати аналіз вмісту антитіл до основного білка мієліну та перевірку наявності антитіл до компонентів вторинно-некротичних клітин (SNEC) як чутливі та специфічні маркери для дискримінації РС. Це у поєднанні з клінічними даними та іншими незалежними показниками може суттєво покращити діагностику РС.

**Перспективи подальших досліджень у даному напрямку.** Хоча визначення імунних комплексів широко описане при низці системних захворювань, досі мало відомо про їхню специфіку у хворих на РС. Поява таких імуноглобулінів при РС може бути біомаркером активності РС, що пояснюється посиленням протизапальних властивостей антитіл внаслідок їх інтенсивнішого глікозилювання.

### *Література*

1. Biermann MHC, Griffante G, Podolska MJ, et al. Sweet but dangerous – the role of immunoglobulin G glycosylation in autoimmunity and inflammation. *Lupus*. 2016;25:934–942.
2. Blauth K, Owens GP, Bennett JL. The Ins and Outs of B Cells in Multiple Sclerosis. *Front. Immunol.* 2015;6.
2. Breij ECW, Brink BP, Veerhuis R, et al. Homogeneity of active demyelinating lesions in established multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 2008;63:16–25.
3. Kao D, Lux A, Schaffert A, et al. IgG subclass and vaccination stimulus determine changes in antigen specific antibody glycosylation in mice. *Eur. J. Immunol.* 2017.
4. Lin C-W, Tsai M-H, Li S-T, et al. A common glycan structure on immunoglobulin G for enhancement of effector functions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2015;112:10611–10616.
5. Munoz LE, Lauber K, Schiller M, et al. The role of defective clearance of apoptotic cells in systemic autoimmunity. *Nat Rev Rheumatol.* 2010/05/01. 2010;6:280–289.
6. Reusch D, Habegger M, Falck D, et al. Comparison of methods for the analysis of therapeutic immunoglobulin G Fc-glycosylation profiles-Part 2: Mass spectrometric methods. *MAbs.* 2015;7:732–742.
7. Stümer J, Biermann MHC, Knopf J, et al. Altered glycan accessibility on native immunoglobulin G complexes in early rheumatoid arthritis and its changes during therapy. *Clin. Exp. Immunol.* 2017;189:372–382.

8. Sjöwall C, Zapf J, von Löhneysen S, et al. Altered glycosylation of complexed native IgG molecules is associated with disease activity of systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2015;24:569–581.
9. Trbojević-Akmačić I, Vilaj M, Lauc G. High-throughput analysis of immunoglobulin G glycosylation. *Expert Rev. Proteomics*. 2016;13:523–534.

*Стаття надійшла до редакційної колегії 21.02.2019 р.  
Рекомендовано до друку д.м.н., професором Глушком Л.В.,  
д.м.н., професором Білобрюком Р.І. (м. Київ)*

### **ANALYSIS OF THE CONTENT OF IMMUNE COMPLEXES IN BLOOD MILK IN PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS WITH PATHOGENETIC AND DISEASE CHARACTERISTIC THERAPY**

**M. O. Boychuk, R. O. Bilyy, T. I. Nehrych**

*Lviv National Medical University named after Danylo Halytskyi;  
department of Neurology; Lviv, st. Nekrasova, 6, Ukraine;  
e-mail: mboichuk11@gmail.com; 0979002210 Maryana O. Boychuk*

*In order to determine the activity of multiple sclerosis (MS), in particular for the objective confirmation of exacerbation of the disease, it is proposed to conduct a test for analyzing the antibody to the main myelin protein (OBM) and determining the antibodies to the components of the secondary non-necrotic cells (SNEC).*

**Key words:** *multiple sclerosis; immunoglobulins; antibodies to the main protein of myelin; antibodies to components of secondary-necrotic cells.*