

УДК 612.017.1:616-009.1

Т. В. Мироненко, д-р мед. наук, проф., зав каф. неврологии и нейрохирургии, Л. Н. Кузьмина, клин. ординатор  
Луганский государственный медицинский университет (г. Луганск)

## СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ МИАСТЕНИЕЙ

Миастению относят к хорошо изученным аутоиммунным заболеваниям. Доказано участие в иммунологических изменениях в организме при миастении вилочковой железы, тимусзависимых гормонов, клеточного и гуморального звеньев иммунитета [3, 4, 6, 8, 10, 13]. Описаны своеобразные аутоиммунные маркеры миастении в виде антител к ацетилхолиновым рецепторам и их субъединицам [1, 5, 7, 9].

Вместе с тем, несмотря на давность изучаемой проблемы, отдельные вопросы, такие как взаимосвязь, между морфологическими изменениями в вилочковой железе и характером иммунных сдвигов в организме, а также влиянием отдельных клинических форм миастении и степенью изменения иммунологических показателей изучены недостаточно глубоко и диктуют необходимость проведения дальнейших исследований в данном направлении.

Целью настоящего исследования явилось определение характера изменений показателей клеточного и гуморального иммунитета у больных миастенией в зависимости от клинической формы заболевания и морфологических изменений вилочковой железы.

В связи с этим было проведено клиническое наблюдение за 93 больными с миастенией. В зависимости от преобладающей клинической формы заболевания, они были распределены в 3 группы. В I группу исследования вошли 70 пациентов с генерализованной формой миастении, во II группу — 15 больных с локальной формой (краниальной) и в состав III группы вошли 8 человек с миастеническим синдромом. Средний возраст обследуемых в I группе составил 34,5 года, во II группе — 38,2 года, в III — 35,1 года. Контрольную группу составили 18 практически здоровых лиц, аналогичных по возрасту и полу.

С целью изучения соотношений клеточного иммунитета у больных миастенией проводилось исследование содержания Т-лимфоцитов (CD3), Т-хелперов (CD4), Т-супрессоров (CD8), соотношения Тх/Тс, Ек — естественных киллеров (NK-CD16).

С целью изучения состояния гуморального иммунитета мы определяли концентрации в крови JgA, JgM, JgG, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) больших, средних, малых.

Характерным для всех больных миастенией явилось достоверное снижение уровня Т-лимфоцитов и их популяций (рис. 1). Если в контрольной группе эти показатели составили: Тл —  $68,0 \pm 1,6$  %, Тх —  $37,8 \pm 1,7$  %, Тс —  $31,8 \pm 1,1$  %, то у больных с генерализованной миастенией соответственно: Тл —  $58,0 \pm 1,8$  %, Тх —  $28,0 \pm 1,0$  %, Тс —  $24,1 \pm 1,5$  %, и у больных с локальной формой миастении: Тл —  $62,0 \pm 1,0$  %, Тх —  $30,0 \pm 1,6$  %, Тс —  $24,1 \pm 1,2$  %, а у больных с симптоматической миастенией —  $56,2 \pm 1,1$  %,  $27,9 \pm 0,7$  %,  $19,1 \pm 1,0$  % соответственно. Причем это угнетение клеточного иммунитета было более выраженным у пациентов с генерализованной формой миастении и в группе с симптоматической миастенией.

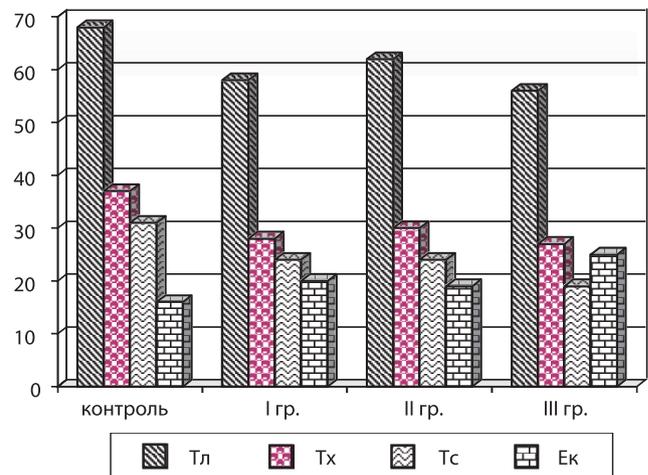


Рис. 1. Состояние клеточного иммунитета у больных миастенией в зависимости от клинической формы заболевания

В то же время определялось повышение коэффициента Тх/Тс за счет снижения Т-супрессоров, что также оказалось более выраженным у пациентов I ( $1,4 \pm 0,2$ ) и III ( $1,6 \pm 0,1$ ) групп в сравнении с контролем ( $1,1 \pm 0,2$ ,  $p < 0,05$ ). Повышение уровня естественных киллеров отмечено у больных с генерализованной миастенией ( $21,2 \pm 0,85$ ) и у больных с симптоматической миастенией ( $22,2 \pm 0,8$  %), тогда как у пациентов с краниальной формой миастении эти показатели незначительно отличались от контрольной группы ( $19,5 \pm 0,8$  %).

Таким образом, генерализованная форма миастении характеризовалась более выраженными нарушениями клеточного иммунитета, чем краниальная форма.

При симптоматической миастении эти нарушения усугублялись, что, вероятно, было связано с сопутствующими заболеваниями (коллагенозы, аутоиммунный тиреоидит).

При исследовании состояния гуморального иммунитета (рис. 2) у этих больных также отмечены выраженные изменения концентрации всех классов иммуноглобулинов. При генерализованной форме и при сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями наблюдалось увеличение концентрации JgM ( $1,9 \pm 0,25$  мкмоль/л;  $1,6 \pm 1,14$  мкмоль/л соответственно) и JgG ( $11,5 \pm 0,81$  мкмоль/л;  $13,5 \pm 0,98$  мкмоль/л соответственно) при снижении JgA ( $1,71 \pm 0,14$  мкмоль/л;  $1,55 \pm 1,12$  мкмоль/л соответственно), но наиболее выраженное снижение уровня JgA наблюдалось у больных с локальной формой миастении ( $1,43 \pm 0,11$  мкмоль/л) относительно контрольной группы ( $p < 0,05$ ).

Количество В-лимфоцитов у больных с генерализованной миастенией и при сочетании миастении с аутоиммунными заболеваниями значительно повышено ( $28,7 \pm 1,2$  % и  $26,0 \pm 1,2$  % соответственно) по сравнению с группой больных с краниальной формой миастении ( $18,1 \pm 1,1$ ,  $p < 0,05$ ).

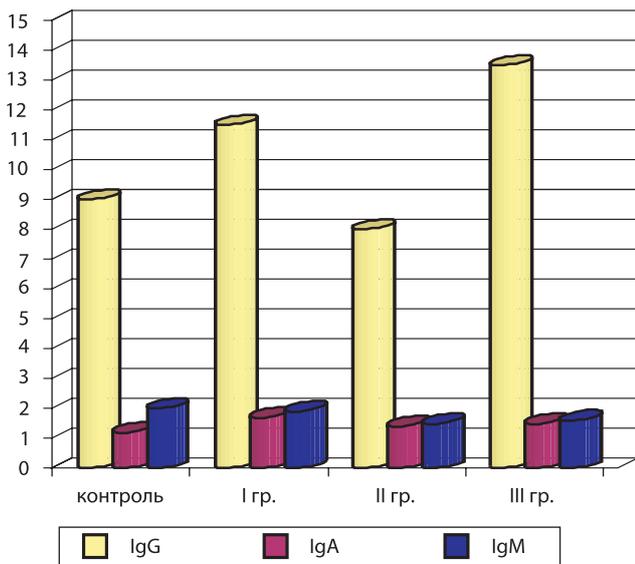


Рис. 2. Состояние гуморального иммунитета у больных миастенией в зависимости от клинической формы заболевания

Особое внимание обращал на себя уровень циркулирующих иммунных комплексов. При исследовании отмечено достоверное снижение уровня больших ЦИК, незначительное — средних и выраженное — малых в I и II группах, в то же время в III группе отмечается повышение уровня ЦИК всех типов ( $2,27 \pm 0,04$  мк/мл,  $1,23 \pm 0,10$  мк/мл,  $3,49 \pm 0,08$  мк/мл) по сравнению с контролем ( $1,46 \pm 0,19$  мк/мл,  $0,89 \pm 0,03$  мк/мл,  $1,39 \pm 0,10$  мк/мл;  $p < 0,05$ ;  $p < 0,05$  и  $p < 0,05$ ) (рис. 3).

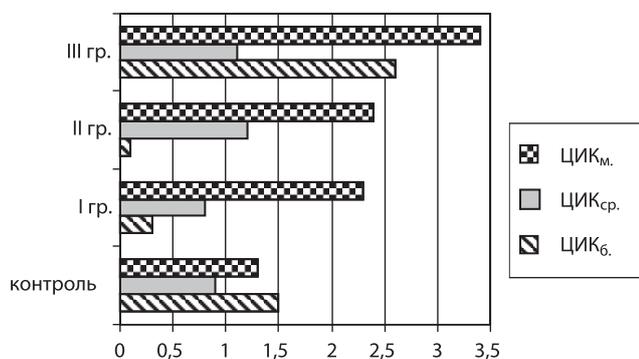


Рис. 3. Показатели ЦИК у больных миастенией в зависимости от клинической формы заболевания

Следует также отметить, что в группе генерализованной миастении по иммунологическим показателям можно выделить подгруппу (8 человек), которая характеризуется нормальными показателями Т-лимфоцитов ( $69,5 \pm 1,6$  %), Тх — ( $38,9 \pm 1,72$  %), естественные киллеры при этом незначительно повышены ( $18,1 \pm 0,78$  %), но резко снижены Тс ( $12,9 \pm 1,0$  %) и резко повышены также В-лимфоциты ( $31,0 \pm 1,3$  %), коэффициент Тх/Тс ( $3,3 \pm 0,2$ ) уровень JgG ( $15,8 \pm 0,66$  мкмоль/л), уровень всех типов ЦИК также отмечается повышенным (ЦИК<sub>б.</sub> —  $1,8 \pm 0,2$ ; ЦИК<sub>ср.</sub> —  $1,68 \pm 0,19$  и ЦИК<sub>м.</sub> —  $2,6 \pm 0,15$  мк/мл). При клиническом анализе

этой группы обследуемых отмечено злокачественное течение миастении с частыми миастеническими кризами. Полученные результаты могут свидетельствовать о разной иммунологической реактивности в разные периоды развития заболевания. Так, в начале миастении активируется гуморальное звено иммунитета, что проявляется в повышении содержания всех типов ЦИК, В-лимфоцитов, JgG, тогда как клеточный иммунитет находится в стадии компенсации и выраженного иммунодефицита не наблюдается. В последующем наблюдается снижение Т-клеток на фоне относительного повышения Т-супрессоров (возможно под воздействием проводимой терапии). Иммунные комплексы фиксируются на органах-мишенях или элиминируются системой макрофагов и в сыворотке крови их концентрация оказывается пониженной.

Поскольку вилочковая железа является ответственным иммунокомпетентным органом, поддерживающим и усугубляющим иммунные сдвиги при миастении [11, 14], представляется целесообразным проведение анализа изменения показателей периферического и центрального звеньев иммунитета с учетом морфологических изменений в вилочковой железе.

Всем пациентам с генерализованной миастенией была произведена тимэктомия. В зависимости от морфологических изменений в вилочковой железе, полученной после тимэктомии, согласно предложенной Ветшевым П. С. и соавт. [4] классификации больные распределялись следующим образом: гиперплазия или нормальные объемы вилочковой железы (I тип) — 53 больных; атрофия ткани вилочковой железы с жировым перерождением (II тип) — 6 человек, тимомы (III тип) — 23 больных.

Иммунологические исследования проводились до операции (табл. 1).

Таблица 1

Показатели клеточного иммунитета у больных миастенией в зависимости от морфологических изменений в вилочковой железе ( $M \pm m$ )

Исследуемые показатели	Контроль <i>n</i> =20	Прооперированные больные		
		I тип <i>n</i> =53	II тип <i>n</i> =6	III тип <i>n</i> =23
Тл (%)	$68 \pm 1,6$	$60,1 \pm 1,7^*$	$62,3 \pm 1,8$	$59,1 \pm 1,0^*$
Тх (%)	$37,8 \pm 1,7$	$30,1 \pm 1,2^*$	$35,3 \pm 1,3$	$28,9 \pm 0,8^*$
Тс (%)	$31,8 \pm 1,1$	$24,1 \pm 1,5^*$	$29,1 \pm 1,6$	$24,2 \pm 1,5^*$
Ек (%)	$15,2 \pm 0,8$	$20,3 \pm 0,8^*$	$19,0 \pm 0,8^*$	$27,5 \pm 1,4^*$
Тх/Тс	$1,1 \pm 0,2$	$1,48 \pm 0,2$	$1,3 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,4$

Примечание: \* — достоверность различий между показателями опытной и контрольной групп

Из данных, представленных в табл. 1, обращают на себя внимание общие изменения показателей клеточного иммунитета во всех группах пациентов с миастенией, проявляющиеся в достоверном снижении уровней Т-лимфоцитов и их субпопуляций, повышении уровня естественных киллеров и коэффициентов Тх/Тс, но разной степени их выраженности.

Так, у пациентов с тимомой вилочковой железы наблюдается более выраженный Т-иммунодефицит (Тл —  $59,1 \pm 1,0$  %; Тх —  $28,9 \pm 0,8$  %; Тс —  $24,2 \pm 1,5$  %) в сравнении с контролем (Тл —  $68,0 \pm 1,6$  %; Тх —  $37,8 \pm 1,7$  %; Тс —  $31,8 \pm 1,1$  %) ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,05$  и  $p < 0,05$ )

и остальными группами больных, равно как и наибольшее повышение естественных киллеров определяется в этой же группе ( $27,5 \pm 1,4$  %) относительно контроля ( $15,2 \pm 0,8$  %,  $p < 0,05$ ).

Гиперплазия вилочковой железы сопровождается аналогичными изменениями показателей клеточного иммунитета, как в группе с опухолевым поражением тимуса, но степень их выраженности была несколько

ниже. При исследовании показателей гуморального иммунитета у больных с тимомой и атрофией вилочковой железы отмечаются нормальные и несколько сниженные показатели В-лимфоцитов ( $15,9 \pm 1,1$  %;  $16,5 \pm 1,2$  % соответственно), в то время как при гиперплазии вилочковой железы эти показатели были достоверно повышены ( $22,2 \pm 1,4$  %) относительно контроля ( $17,0 \pm 1,2$  %,  $p < 0,05$ ) и двух других групп (табл. 2).

Таблица 2

Показатели гуморального иммунитета у больных миастенией в зависимости от морфологических изменений вилочковой железы ( $M \pm m$ )

Исследуемые показатели	Прооперированные больные			
	контроль	I тип (n = 50)	II тип (n = 6)	III тип (n = 23)
JgA, мкмоль/л	$2,3 \pm 0,5$	$1,6 \pm 0,21$	$1,9 \pm 0,4$	$1,6 \pm 0,13$
JgM, мкмоль/л	$1,0 \pm 0,3$	$1,7 \pm 0,49$	$1,6 \pm 0,25$	$1,1 \pm 0,7$
JgG, мкмоль/л	$9,8 \pm 0,01$	$11,9 \pm 0,24^*$	$10,1 \pm 0,11^*$	$10,5 \pm 0,20^*$
ЦИК, мг/мл	большие	$0,34 \pm 0,05^*$	$0,54 \pm 0,07^*$	$0,39 \pm 0,05^*$
	средние	$0,89 \pm 0,09$	$0,64 \pm 0,07$	$1,58 \pm 0,08^*$
	малые	$1,39 \pm 0,10$	$2,24 \pm 0,04^*$	$2,71 \pm 0,06^*$
В-лимфоциты, %	$17,0 \pm 1,24$	$22,2 \pm 1,4^*$	$16,5 \pm 1,21$	$15,9 \pm 1,1^*$

Примечание: \* — достоверность различий в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ )

Уровни JgA в сыворотке крови во всех группах больных, независимо от морфологических изменений вилочковой железы, определялись пониженными ( $1,62 \pm 0,21$ ;  $1,89 \pm 0,38$ ;  $1,59 \pm 0,13$  мкмоль/л) относительно контроля ( $2,31 \pm 0,5$  мкмоль/л при  $p < 0,05$ ), а уровни JgM и JgG имели тенденцию к повышению. Большие и средние иммунные комплексы были достоверно снижены в группах с гиперплазией и атрофией вилочковой железы, но содержание малых иммунных комплексов определялось повышенным. У больных с тимомой выявлено повышенное количество средних и малых иммунных комплексов относительно контроля ( $p < 0,05$ ).

Полученные результаты позволяют углубить представление об иммунодефицитном состоянии при различных формах миастении и предположить, что иммунные расстройства являются отражением общего механизма заболевания. Локальную форму при этом можно считать переходной. Иммунологические расстройства при миастении являются отражением поражения вилочковой железы. Так, незначительной её дисфункции при локальной форме миастении соответствуют менее выраженные иммунологические изменения. И наоборот, прослеживается явная взаимосвязь изменений в тимусе и иммунологических показателей при генерализованной форме миастении. Поражение вилочковой железы опухолевым процессом обуславливает угнетение иммунной системы. Натуральные киллеры в настоящее время рассматриваются как главные клетки, осуществляющие противоопухолевую защиту [2]. Поэтому значительное их повышение у больных с миастенией и тимомой можно рассматривать как защитную функцию, направленную на лизис опухолевых клеток [12].

Киллерная активность НК-клеток стимулируется интерфероном, который в свою очередь активируется вирусной персистенцией в организме. Этим можно объяснить повышенный уровень НК-клеток у больных миастенией. Данное предположение согласуется с мнением ряда исследователей [15].

Выраженное снижение иммунных показателей в группе больных с тимомой говорит об иммунной недостаточности, обусловленной поражением вилочковой железы опухолевым процессом. Иммунологические изменения при гиперплазии и атрофии вилочковой железы, очевидно, связаны с нарушением дифференцировки иммунокомпетентных клеток в тимусе вследствие генерализованного аутоиммунного процесса.

Таким образом, характерным для больных миастенией является снижение уровня Т-лимфоцитов, повышение естественных киллеров, снижение концентрации JgA, повышение JgM и JgG, малых иммунных комплексов. Различия иммунологических расстройств при разной степени этих нарушений, в зависимости от морфологических изменений вилочковой железы, наиболее выражены у больных с генерализованной формой миастении и тимомой. Также имеется разница в уровнях В-лимфоцитов, которые значительно снижены при тимоме и генерализованной форме миастении, не изменены при атрофии тимуса и повышены при его гиперплазии.

#### Список литературы

1. Габибов А. П. Каталитическая активность нативных антител у мышей с аутоиммунными нарушениями // ДАН. — 2000. — Т. 375. — № 2. — С. 256—259.
2. Генералов И. И. Каталитические антитела: способы получения, механизмы действия, применение в биотехнологии и медицине // Иммунопатология, аллергология, инфектология. — 2002. — № 1. — С. 16—30.
3. Гехт Б. М., Евсеев В. А., Шагал Д. И. Иммунологические расстройства при миастении и миастенических синдромах // Иммунопатология нервных и психических заболеваний: Тез. докл. — М., 1983. — С. 34—36.
4. Кузин М. И., Гехт Б. М. Миастения. — М: Медицина, 1996. — 224 с.
5. Ланцова В. Б., Сепп Е. К., Цетлин В. И. Иммунобиохимические особенности JgG сыворотки крови при миастении // II Российская конф. «Нейроиммунопатология». — М., 2002. — С. 40.
6. Лайсек Р. П., Барчи Р. М. Миастения / Пер. с англ. — М: Медицина, 1984. — 272 с.

7. Санадзе А. Г., Сиднев Д. В., Давыдова Т. В. Иммунологический тест определения уровня антител к титину у больных миастенией и другими формами патологии нервно-мышечной передачи // II Российская конф. «Нейроиммунопатология». — М., 2002. — С. 66.
8. Aarli J., Skeie G., Mygland A. Muscle Striation antibodies in myasthenia gravis. Diagnostic and functional significance // Ann. N. Y. Acad./Sci. — 1998. — V. 841. — P. 505—515.
9. Balestra B., Moreti M., Longhi R. Antibodies against neuronal nicotinic receptor subtypes in neurological disorders // J. Neuroimmunol. — 2000. — V. 102 — № 1. — P. 89—97.
10. Eymard B., Beirih-Aknin S. Role of the thymus in the physiopathology of myasthenia // Rev. Neurol. (Paris). — 1995. — V. 151. — № 1. — P. 6—15.
11. Hohlfeld R., Wekerie H. The role of the thymus in myasthenia gravis // Adv. Neuroimmunol. — 1994. — V. 4, № 4. — P. 373—386.

12. Iwasa K., Komai K., Takamori M. Spontaneous thymoma rat as a model for myasthenic weakness caused by anti-ryanodine receptor antibodies // Muscle Nerve. — 1998. — V. 21. — № 12. — P. 1655—1660.
13. Lisak R. Myasthenia Gravis. In: Surgery of the thymus / Ed. I. — Berlin: Springer Vesting, 1990. — P. 165—181.
14. Lindstrom J. Acetylcholine receptors and myasthenia // Muscle Nerve. — 2000. — № 23. — P. 453—477.
15. Venkatesh N., Balaass M. Prevention of passively transferred experimental autoimmune myasthenia gravis by a phage library-derived cyclic peptide // Immunology. — 2000. — V. 97. — № 2. — P. 761—766.

Надійшла до редакції 12.03.2009 р.

*Т. В. Мироненко, Л. М. Кузьміна*

### Стан імунної системи у хворих на міастенію

*Луганський державний медичний університет  
(м. Луганськ)*

Було проведено комплексне обстеження 93 пацієнтів, хворих на міастенію, за допомогою загальноклінічних, неврологічних та імунологічних методів обстеження. Імунологічне дослідження містило вивчення показників клітинної і гуморальної ланок імунітету. Було встановлено, що міастенія супроводжується пригніченням Т-системи імунітету, значним зростанням рівня антитіл (В-лімфоцитів, Т-кіллерів, імуноглобулінів класів G і M, малих циркулюючих імунних комплексів. Встановлена пряма залежність міастенії і розгортанням імунологічних порушень. Більш важкі імунологічні зміни встановлено у хворих з генералізованою формою міастенії, поєднаною з тимомаю.

*T. V. Myronenko, L. N. Kuzmina*

### The state of the immune system at patients with the myasthenia gravis

*Luhans'k State medical University (Luhans'k)*

There were formed the complex investigation at 93 patients with myasthenia gravis with the help of clinical neurological and immunological methods. The immunological methods are including the investigation of the indexes the cellular and humeral immunological sides. There were marked that myasthenia gravis characterize the distribution of T-system and high increase of antibody lever (B-lymphocytes, T-killers, immunoglobulin's G and M, little circulate immune complexes. There were established the dependence between the degree movement disorders at myasthenia and immune disorders. More difficult immune's disorders are present at patients with thymoma myasthenia and general form of the myasthenia.

УДК 547.963.3, 577.322.4

*В. В. Соколик, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудн. лаборатории биохимии  
ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии АМН Украины»  
(г. Харьков)*

## СТРУКТУРНЫЕ ПРЕДПОСЫЛКИ АГРЕГАЦИИ $\beta$ -АМИЛОИДНОГО ПЕПТИДА

Агрегация пептидов и белков в нерастворимые фибриллы (амилоидоз) является причиной более 25 конформационных заболеваний *Homo sapiens*, включая такие наследственные патологии, как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, различные системные амилоидозы [1, 2]. Полагают, что агрегационные свойства белков, в частности  $\beta$ -амилоидного пептида, обусловлены их микроокружением, избыточной локальной концентрацией и наличием небольших амилоидогенных фрагментов аминокислотной последовательности в их составе [3]. Механизм образования токсичных олигомеров и более крупных инертных агрегатов этого пептида до сих пор остается непонятым. В связи с этим моделирование трехмерной структуры  $\beta$ -амилоидного пептида в нативной конформации, закодированной в детерминирующей его нуклеотидной последовательности, поиск структурных предпосылок его агрегации и анализ механизмов отдельных этапов этого процесса является актуальной задачей исследования.

Для моделирования трехмерной структуры  $\beta$ -амилоидного пептида 1-40 и его патогенной формы  $\beta$ -амилоидного пептида 1-42 были проанализированы фрагменты нуклеотидной последовательности для

белка предшественника амилоида (Y00264 — Human amyloid A4 precursor of Alzheimer's disease) из базы данных EMBL (табл. 1: A).

Наличие возможных элементов вторичной структуры в  $\beta$ -амилоидном пептиде 1-40(42) изучали, используя таблицу генетического кода пространственной организации белка (табл. 2). Эта таблица является авторским обобщением композиционного кода А. Ю. Кушелева [4] и топологического кода В. А. Карасёва [5].

Числа 1, 2, 3 и 4 соответствуют типичным вариантам угла поворота последующего аминокислотного остатка полипептидной цепи относительно предыдущего в таких элементах вторичной структуры белка, как виток  $\alpha$ -спирали (4/10 и 3/10),  $\beta$ -зигзаг  $\beta$ -складчатого слоя или  $\beta$ -поворот неупорядоченной части полипептида (табл. 3).

Визуализацию трёхмерной структуры белка осуществляли с помощью графического редактора GenEdit.exe. В алгоритм данной программы заложено соответствие между значениями композиционного кода и углами между смежными аминокислотными остатками (см. табл. 3), что позволяет по нуклеотидной последовательности декодировать вторичную и смоделировать трёхмерную структуру белка.