

УДК 616.8—092:612.017:57.083.3

Л. Т. Бойко, канд. мед. наук

Харьковская медицинская академия последипломного образования
(г. Харьков)

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ АУТОИММУННЫХ ДЕМИЕЛИНИЗИРУЮЩИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

В статье рассмотрены изменения в иммунном статусе больных с аутоиммунными демиелинизирующими заболеваниями нервной системы — рассеянным склерозом (РС), миастенией и рассеянным энцефаломиелитом (острым). Приведен перечень и дана оценка наиболее важных современных иммунологических методов, помогающих в диагностике этих заболеваний.

При РС информативно определение содержания олигоклональных иммуноглобулинов (Ig) и свободных легких цепей Ig в цереброспинальной жидкости. Для миастении рекомендовано определение в крови антител против ацетилхолиновых рецепторов постсинаптической мембраны и против белка титина (при наличии тимомы).

Иммунологические реакции при рассеянном энцефаломиелите проводят с различными антигенами.

Ключевые слова: аутоиммунные демиелинизирующие заболевания, иммунный статус, нервная система, рассеянный склероз, миастения, рассеянный энцефаломиелит

Существует определенный спектр проявления аутоиммунной патологии, в котором определенное место занимают заболевания нервной системы, связанные с образованием органоспецифических аутоантител. Это — рассеянный склероз (РС), миастения и энцефаломиелит острый (первичный) рассеянный. Антигены, ответственные за развитие аутоиммунных поражений центральной нервной системы, являются органоспецифическими, но не видоспецифическими. Очень часто аутоиммунную агрессию предполагают на основании исключительно клинических или не вполне проверенных данных. Она (аутоиммунная агрессия) лишь тогда становится очевидным фактом, если соответствует следующим критериям: 1 — прямое доказательство наличия (циркулирующих или связанных) аутоантител или сенсibilизированных лимфоцитов, направленных против антигена, ассоциированного с данным заболеванием; 2 — идентификация аутоантигена, против которого направлен иммунный ответ; 3 — перенос аутоиммунного процесса с помощью сыворотки, содержащей антитела, или лимфоцитов; 4 — возможность создания экспериментальной модели заболевания с соответствующими морфологическими нарушениями путем переноса сыворотки и/или лимфоцитов.

До сих пор не было описано ни одного заболевания, которое соответствовало бы всем этим критериям, кроме того, 3-й критерий полностью исключается для использования в клинике [1].

При аутоиммунных заболеваниях нервной системы подтверждено первичное либо вторичное участие иммунной системы в их патогенезе. Что касается РС, это заболевание нельзя считать полностью первичным аутоиммунным заболеванием. У больных РС проницаемость гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) увеличивается, происходит миграция активированных Т-лимфоцитов в паренхиму мозга, повышается уровень провоспалительных цитокинов; активируются В-лимфоциты и плазмочиты, которые начинают синтезировать противомиелиновые антитела и таким образом формируется очаг воспалительной демиелинизации. Т. е., при РС по мере прогрессирования заболевания в мягкой мозговой оболочке формируются и персистируют В-клеточные фолликулы

с герминальными центрами. Они представляют собой своеобразные третичные лимфоидные органы, где происходит пролиферация и дифференцировка В-лимфоцитов, в том числе созревают субпопуляции плазматических клеток, продуцирующих иммуноглобулины (Ig) [2]. Аутоиммунные реакции направлены исключительно против белков миелина.

Наиболее информативно в плане иммунологической диагностики РС определение содержания олигоклональных Ig и содержания свободных легких цепей (СЛЦ) Ig в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ). В 1959 и 1967 гг. был описан и подтвержден феномен олигоклонального гуморального ответа в пределах центральной нервной системы, т. е. интратекально при РС — олигоклональные полосы Ig в ЦСЖ [11, 15]. Олигоклональные антитела — это отдельные фракции Ig со сниженной электрофоретической лабильностью, выявляемой при иммуноэлектрофорезе. В 1972 г. предложена первая формула количественной оценки этого ответа — индекс Ig G [9]. В 1975 г. впервые показано повышенное содержание свободных легких цепей Ig и белков Бенс-Джонса (димеров СЛЦ) в моче и ЦСЖ при РС, миеломе, подостром склерозирующем панэнцефалите [3, 7]. В дальнейшем определение олигоклональных полос Ig G стало «золотым стандартом» лабораторной диагностики РС. Определяются олигоклональные Ig G наиболее чувствительным методом — изоэлектрофокусирующим электрофорезом с иммуноблоттингом [10]. Значимость показателей повышенного интратекального синтеза СЛЦ Ig подтверждается консенсусом экспертов, изложенным в публикации по стандартам исследования ЦСЖ [10]. Хорошие аналитические параметры этого теста делают его наиболее удобным и надежным методом диагностики демиелинизирующих заболеваний.

При миастении нарушение функции иммунной системы организма ведет к образованию антител против собственных клеток — ацетилхолиновых рецепторов (АХР) постсинаптической мембраны нервно-мышечных соединений (синапсов). Эти антитела впервые были выделены Strauss в 1960 г. [2]. Блокада значительной части АХР ведет к тому, что выделяющийся ацетилхолин (АХ) не вступает в связь с рецепторами постсинаптической мембраны и, следовательно, не происходит генерации

потенциала действия, т. е. развивается блокада нервно-мышечной передачи. Миастения подразделяется на 2 группы: 1 группа — Серопозитивная миастения (*myasthenia gravis*) с регистрацией Ig G-антител АХР. 2 группа — Серонегативная миастения, при которой гистологически определяется типичная атрофия тимуса [5, 20]. Вместе с тем, в последние годы получен целый ряд доказательств вовлечения в патологический процесс и пресинаптических структур, в первую очередь, это относится к выявлению аутоантител, приводящих к изменению функционального состояния ионных каналов [21].

Важным критерием диагностики является определение в сыворотке крови антител против АХР постсинаптической мембраны у больных миастенией и антител против белка титина у больных миастенией с наличием тимомы.

Для определения антител против АХР постсинаптической мембраны используют меченый радиоактивным йодом (^{125}J) альфа-бунгаротоксин (яд змеи). Антитела определяются в сыворотке крови пациента с использованием определенных иммунологических наборов. В сыворотке крови здоровых пациентов концентрация антител к АХР не превышает 0,15 nmol/L. У пациентов с различными аутоиммунными заболеваниями (аутоиммунный тиреоидит, болезнь Хашимото, ревматоидный артрит) и другими нервно-мышечными заболеваниями, концентрация антител не превышает 0,25 nmol/L. Доказательством наличия миастении (генерализованной или глазной формы) является концентрация антител к АХР более 0,50 nmol/L [8].

У большинства больных миастенией с наличием тимомы появляются аутоантитела против титина — белка поперечно-полосатой мускулатуры с высокой молекулярной массой. Выявление антител к титину является дифференциально-диагностическим критерием отличия тимомы от гиперплазии тимуса. Антитела определяются в сыворотке крови пациента с использованием иммунологических наборов (фирмы DLG, Германия). Значением, характеризующим высокую вероятность наличия тимомы, является уровень антител более 1,0 условной единицы [8, 18].

Острый рассеянный энцефаломиелит также относится к аутоиммунным демиелинизирующим заболеваниям нервной системы. Точного возбудителя идентифицировать пока не удалось. Однако в патогенезе болезни ведущую роль играют аллергические реакции, приводящие к демиелинизирующему процессу в головном и спинном мозге. Основу патоморфологического процесса составляют периваскулярные множественные очаги демиелинизации с участием микроглии. Локализация процесса различна: белое вещество больших полушарий мозга, ствол мозга, спинной мозг. Периаксиальный демиелинизирующий процесс обнаруживается в спинномозговых корешках и нервах конечностей.

Мишенью заболевания является миелин-изолирующий слой проводящих путей нервной системы. Агрессивные иммунные факторы (антитела, Т-лимфоциты, цитокины) распознают белки миелина как чужеродные и разрушают их, образуя очаги воспаления в веществе головного и спинного мозга (очаги демиелинизации).

Однако, всю проблему патогенеза демиелинизирующих энцефаломиелитов нельзя свести только к иммуно-аллергической реакции нервной системы на инфекционный (вирусный, бактериальный) токсический агент или продукт промежуточного метаболизма. Острый или хронический диффузный демиелинизирующий процесс в головном и спинном мозге может первично вызываться и вирусными агентами.

Ввиду того, что острые, подострые и хронические энцефаломиелиты вызываются самыми разнообразными вирусными, бактериальными, спирохетозными, риккетсиозными и другими патогенными живыми агентами, для этиологической диагностики используют и многочисленные методы исследования. В первые 5—7 дней острой фазы болезни возбудитель может быть выделен из крови, СМЖ, фекалий. Помимо этого, с сывороткой крови, а иногда с СМЖ, проводят иммунологические реакции с одним или несколькими антигенами: реакцию связывания комплемента [4, 6] (РСК), реакцию нейтрализации (РН), различные реакции агглютинации (РПГА и др.), реакцию иммунофлюоресценции, а также внутрикожную аллергическую пробу. Для ранней диагностики наибольшее значение имеет РСК, которая становится положительной со 2-й недели болезни и сохраняется несколько месяцев. Появление вируснейтрализующих антител происходит раньше, но они сохраняются в организме годами, что снижает их диагностическую ценность. Гемагглютинирующие антитела занимают в этих сроках промежуточное положение. Серологические исследования следует проводить с парными сыворотками, взятыми в начале и конце заболевания. Диагностическим тестом считается нарастание титра антител в 2—4 раза. Таким образом, если РСК используется как метод лабораторной диагностики в начале заболевания, то РН чаще используется для ретроспективной диагностики. Кроме вышеуказанных исследований, для диагностики энцефаломиелита, обусловленного вирусом энцефаломиелита человека (ОЭМЧ), используется внутрикожная проба с вакциной Маргулиса — Шубладзе: при положительной активной реакции образуется папула диаметром свыше 1 см.

Типичными для изменений в ликворе являются мононуклеарный (лимфоцитарный) плеоцитоз, увеличение содержания белка, нормальный уровень глюкозы, достаточно редкое выявление интратекальных олигоклональных антител [10].

Учитывая ведущую роль иммунологических реакций в патогенезе аутоиммунных демиелинизирующих заболеваний нервной системы, особое значение для наблюдения за активностью и развитием патологического процесса при данных заболеваниях приобретает регулярное проведение у больных иммунологического анализа крови (иммунологический мониторинг). На основании исследований иммунитета у больных с РС, миастенией и острым рассеянным энцефаломиелитом можно констатировать, что во-первых, иммунологические изменения опережают клинические; во-вторых, иммунопатологический процесс динамичен, в ходе развития болезни изменяется и реакция иммунной системы на болезнь, происходит истощение ряда компенсаторных и параллельно развивается ряд новых защитных реакций.

Список літератури

1. Йегер Л. Клиническая иммунология и аллергология / Л. Йегер ; пер. с нем. — М.: Медицина, 1990. — С. 288.
2. Интраккальный синтез иммуноглобулинов в диагностике и дифференциальной диагностике рассеянного склероза / [Н. А. Тотолян, А. А. Готовчиков, С. В. Лапин и др.] // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. — 2012. — № 9. — Вып. 2 : Рассеянный склероз. — С. 73—86.
3. Содержание свободных легких цепей иммуноглобулинов в ликворе и значение его определения для дифференциальной диагностики рассеянного склероза / [Н. А. Тотолян, И. В. Грязева, В. Б. Климович, А. А. Скоромец] // Там же. — 1994. — № 2. — Вып. 94, № 2 — С. 49—53.
4. Хайер Д. Неврология / Д. Хайер ; пер. с англ. ; под ред. М. Самуэльса. — М.: Практика, 1997. — 640 с.
5. Шутов А. Д. Антитела к ацетилхолину в крови больных миастенией и их диагностическое значение / А. Д. Шутов, А. Д. Быкова, Е. Ф. Ольховская // Неврологический журнал. — 1999. — № 1. — С. 31—34.
6. Яхно Н. Н. Болезни нервной системы : руководство для врачей / Н. Н. Яхно, Д. Р. Стульман — М.: Медицина. — 2001.
7. Bollengier F. Bound and free light chains in subacute sclerosing panencephalitis and MS serum and CSF / F. Bollengier, A. Lowenthal, W. Henrotin // Journal: Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. — 1975. — Vol. 13, № 7. — P. 305—310.
8. The significance of titin antibodies in myasthenia gravis — correlation with thymoma and severity of myasthenia gravis / [X. J. Chen, J. Qiao, B. G. Xiao et al.] // J. Neurol. — 2004. — Vol. 251(8). — P. 1006—1011.
9. Delpech B. Etude quantitative des immunoglobulines G et de l'albumine du liquide céphalo-rachidien / B. Delpech, E. Zichtblau // Clin Chim Acta. — 1972. — Vol. 37. — P. 15—23.
10. Recommended standard of cerebrospinal fluid analysis in the diagnosis of multiple sclerosis / [M. S. Freedman, E. J. Thompson, F. Deisenhammer et al.] // Arch Neurol. — 2005. — Vol. 62. — P. 865—870.
11. Frich E. Immunophoretische Untersuchungen am Liquor cerebrospinalis / E. Frich // Klin Wochenschr. — 1959. — Vol. 37. — P. 645—651.
12. Garg R. K. Acute disseminated encephalomyelitis / R. K. Garg // Postgrad. Med. J. — 2003 — Vol. 79(927). — P. 11—17.
13. Juel V. C. Myasthenia Gravis / V. C. Juel, J. M. Wassey // Orphanet J. Rare Dis. — 2007 Nov 6. — № 2. — P. 44.
14. Lang B. Autoantibodies to ion channels at the neuromuscular junction / B. Lang, A. Vincent // Autoimmun Rev. — 2003 Mar, 2 (2). — P. 94—100.
15. Link H. Immunoglobulin G and low molecular weight proteins in human cerebrospinal fluid: chemical and immunological characterisation with special reference to multiple sclerosis / H. Link // Acta Neurol Scand. — 1967. — Vol. 43 (Suppl 28). — P. 1—136.
16. Mahadeva B. Autoimmune disorders of neuromuscular transmission / Mahadeva B., Phillips L. H. 2nd, Juel V. C. // Semin Neurol. — 2008 Apr. — Vol. 28. — № 2. — P. 212—270.
17. Meningeal B-cell follicles in secondary progressive multiple sclerosis associate with early onset of disease and severe cortical pathology / [R. Magliozzi, O. Havell, A. Vora et al.] // Brain. — 2007. — Vol. 130. — P. 1089—1104.
18. Sanders D. B. The diagnostic utility of anti-striational antibodies in myasthenia gravis (abstract) / D. B. Sanders, J. M. Massey // Neurology 2002, 58: A229.
19. Detection of ectopic B-cell follicles with germinal centers in the meninges of patients with secondary progressive multiple

sclerosis / [B. Serafini, B. Rosicarelli, R. Magliozzi et al.] // Brain Pathol. — 2004. — Vol. 14. — P. 164—174.

20. Vincent A. Disorders of neuromuscular transmission / A. Vincent, J. Newsom-Davis In: Cecil Medicine / Goldman L., Ausiello D., eds. 23 rd ed. — Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier, 2007. — Chap. 448.

21. Autoantibodies, neurotoxins and nervous system / [A. Vincent, M. Roberts, H. Willison et al.] // J. Physiol. Paris. — 1995. — Vol. 89(3). — P. 129—136.

Надійшла до редакції 23.01.2013 р.

Л. Т. Бойко

*Харківська медична академія післядипломної освіти
(м. Харків)*

Імунологічні дослідження при аутоімунних демієлінізуючих захворюваннях нервової системи

У статті розглянуто зміни в імунному статусі хворих на аутоімунні демієлінізуючі захворювання нервової системи — розсіяний склероз (РС), міастенію та розсіяний енцефаломієліт (гострий). Наведено перелік та дана оцінка найбільш важливих сучасних імунологічних методів, що допомагають у діагностиці цих захворювань.

При РС інформативним є визначення вмісту олігоклональних імуноглобулінів (Ig) та вільних легких ланцюгів Ig у цереброспинальній рідині. Для міастенії рекомендовано визначення у крові антитіл проти ацетилхолинових рецепторів післясинаптичної мембрани і проти білка титина (при наявності тимоми). Імунологічні реакції при розсіяному енцефаломієліті виконують з різними антигенами.

Ключові слова: аутоімунні демієлінізуючі захворювання, імунний статус, нервова система, розсіяний склероз, міастенія, розсіяний енцефаломієліт.

L. T. Boyko

*Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education
(Kharkiv)*

Immunologic investigations on autoimmune demyelinating neurological disorders

In the article are considered the changes in immune condition of patients by autoimmune demyelinating neurological disorders — multiple sclerosis, myasthenia gravis, encephalomyelitis disseminata. Is cited the list and given a value the most important and modern immunologic methods, which help in diagnostic of this diseases.

Determining of contain oligoclonal Ig and free light chains Ig in CSF is informationally on multiple sclerosis. It's recommend a determining of specific acetylcholine receptor autoantibodies (ACHRAB) against postsynaptic membrane and antibodies against protein titin in the blood (in the case of thymoma) for myasthenia gravis.

Immunologic investigations on encephalomyelitis disseminata are fulfilled with different antigens.

Key words: autoimmune demyelinating disorders, immune condition, neurological disorders, multiple sclerosis, myasthenia gravis, encephalomyelitis disseminata.