

**НЕЙРОАУТОІМУННІ РЕАКЦІЇ У ХВОРИХ З НЕ НЕЙРОПАТИЧНОЮ ФОРМОЮ
ЛІЗОСОМНИХ ХВОРОБ НАКОПИЧЕННЯ**

Центр орфанних захворювань НДСЛ «Охматдит» МОЗ України (м. Київ)

nata.pichkur@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота виконана в рамках НДР «Визначення генетичних основ ризику розвитку патологічних станів на різних етапах онтогенезу» за № державної реєстрації 0114U002215 (2014-2018 рр.).

Вступ. Імунна система відіграє величезну роль у виникненні і патогенезі захворювань ЦНС. Зміни в імунній системі є не тільки супутніми, які характеризують перебіг захворювання, але і у великій мірі визначають його [6,11]. При ряді захворювань ЦНС надзвичайно важливу роль відіграють аутоімунні реакції на антигени мозкової тканини, які приводять до ураження клітинних елементів мозку, затримки або демієлінізації нервових волокон [14]. Головну роль у розвитку цих реакцій відіграють аутоантитіла, які продукують CD5 лімфоцити.

Аутореактивні лімфоцити і аутоантитіла (ААТ) характеризують індивідуальність організму і є системою регуляції гомеостазу на молекулярному рівні, яка координує різні процеси, взаємодіючи з різними антигенними мішенями [1]. Синтез ААТ в ранньому онтогенезі співпадає по часу з найбільш важливими етапами морфогенезу і починається раніше, ніж синтез антитіл до чужорідних антигенів. До останнього часу домінувала уява, що присутність ААТ до власних антигенів засвідчує про наявність патологічного аутоімунного процесу [4]. Однак, останні дані засвідчують про те, що в нормі концентрація ААТ в крові, в тому числі і до нейроантигенів, підтримується в певних фізіологічних межах. Зміщення їх кількості вище, або нижче фізіологічних компенсаторних меж небезпечно наслідками для організму, аж до розвитку патологічних деструктивних аутоімунних захворювань [5,15]. Наявність ААТ сама по собі ще не засвідчує наявність захворювання. Не високі титри антитіл постійно виявляються в сироватці крові здорових людей і приймають участь у інактивації відповідних нейроантигенів, підтримуючи гомеостаз, забезпечуючи виведення продуктів метаболізму, апоптозу клітин та інших фізіологічних процесів. Вони забезпечують саногенез у головному мозку.

Вільно циркулюючі антитіла до одного або кількох аутоантигенів (основного білка мієліна, протеоліпідного білка, нейронспецифічної енолази та ін.) виявляють як у здорових, так і новонароджених у певних фізіологічних межах. Збільшення кількості цих антитіл може засвідчувати безсимптомний перебіг або розвиток захворювання ЦНС.

Антитіла до нейроспецифічних білків (НСБ), нейротрансмітерів та їх рецепторів з постійністю ви-

являються при багатьох неврологічних захворюваннях. Відрізняючись етіологічними чинниками і патогенезом, ці захворювання мають і загальні риси, сукупність яких зумовлює можливість індукції синтезу аутоантитіл. Для цих захворювань характерні деструктивні процеси в тканині мозку в тому числі і метаболічного генезу; порушення стану нейротрансмітерних систем; порушення функції гемато-енцефалічного бар'єру (ГЕБ). В цих умовах у клітинних елементів мозку, по відношенню до яких порушується природна імунологічна толерантність з причин забар'єрності мозку, виникає можливість контакту з імунокомпетентними клітинами з наступною індукцією утворення антитіл [2,10].

Синтез антитіл до тканинних нейроантигенів і нейромедіаторів у невеликих титрах в нормі спостерігається у практично здорових людей, посилюючись з віком. Однак, тільки при патології ЦНС і порушенні проникності ГЕБ аутоантитіла проникають в патологічне вогнище, взаємодіють із своїми мішенями і можуть змінювати стан відповідних нейрональних структур. Вважається, що в умовах патології ЦНС локальна імунна система мозку втрачає природню, характерну для норми імунологічну толерантність і сприяє розвитку імунної відповіді [10]. Окрім цього, необхідно враховувати можливість появи у вогнищі патологічно посиленого збудження нових антигенних детермінант і звільнення в таких вогнищах прихованих (інтранейрональних) антигенів, по відношенню до яких толерантність може бути відсутня [6]. Наявність вільних аутоантитіл в крові знаходиться в зворотній залежності від кількості зв'язаних антитіл з антигеном, які утворили циркулюючі імунні комплекси (ЦІК), а також вираженості патологічного процесу у ЦНС. По рівню вільних аутоантитіл можна судити про інтенсивність нейроімунної відповіді і ролі нейроімунних процесів у патології мозку. Для оцінки реального рівня антитіл певної специфічності необхідно враховувати цілий ряд факторів: вік хворого, вираженість патологічного процесу з урахуванням анамнезу, даних допоміжних методів обстеження (МРТ головного мозку, визначення рівня певних метаболітів, нейромедіаторів в крові або лікворі та ін.). При цьому необхідно враховувати кількість ЦІК, які складаються із сполуки антиген-антитіло. Комплексний підхід до визначення рівня НСБ в крові дозволить зрозуміти ступінь вираженості деструктивних процесів у ЦНС [2].

Виходячи з важливості факторів гуморального імунітету в запуску імунних реакцій у мозку, ми вивчали склад популяції імунокомпетентних клітин в периферичній крові, їх функціональну активність і

розвиток нейроаутоімунних реакцій у хворих з лізосомними хворобами накопичення (ЛХН). Це велика група спадкових гетерогенних порушень обміну речовин [12]. Успадковуються вони переважно за аутосомно-рецесивним типом. Мутація в кодуєму гені відповідного фермента приводить до зниження активності лізосомних ферментів і супроводжується інтралізосомним накопиченням у різних клітинах та типах тканин відповідних недорозщеплених субстратів, або продуктів їх неправильної деградації ліпідного, білкового і сахарозного походження [15]. Накопичення цих субстратів у лізосомах приводить до активації лімфоцитів, підвищення проникності ГЕБ, активації мікроглії і астроцитів, які починають продукувати прозапальні цитокіни, що сприяє розвитку запального процесу і загибелі клітин ЦНС. Вираженість цих патологічних процесів, ступінь ушкодження структурних елементів ЦНС, розтягнутість у часі визначають тяжкість клінічних проявів захворювання [13]. У зв'язку з цим є очевидним важливість пошуку і впровадження ранніх дешевих специфічних або не специфічних методів обстеження, які можна було б застосовувати для постановки діагнозу ще до маніфестації клінічних проявів. На нашу думку, запально-дегенеративні процеси ЦНС при цих захворюваннях приводять до апоптозу, загибелі клітинних елементів і супроводжуються змінами з боку нейроспецифічних білків. Всі ЛХН поділяють на нейропатичні та не нейропатичні. При нейропатичних формах спостерігається ураження структурних елементів ЦНС, що супроводжується відповідними неврологічними проявами. У крові цих хворих нами виявлено статистично значуще підвищення титру нейроаутоантител до НСБ. При не нейропатичній формі морфологічні зміни спостерігаються з боку інших систем організму. Вважається, що ЦНС при цій формі вражається в значно меншій мірі. Однак, у переважної більшості таких хворих нами виявлено неврологічна симптоматика, яка засвідчує зворотне. У зв'язку з цим, визначення рівня ААТ у крові цих хворих може бути надзвичайно важливим раннім діагностичним критерієм, що і стало предметом нашого дослідження.

Мета роботи: дослідити функціональну активність В – лімфоцитів периферичної крові і розвиток гуморальних нейроаутоімунних реакцій хворих з не нейропатичною формою лізосомних хвороб накопичення.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження нейроаутоімунних реакцій (кількість і проліферативна активність В-лімфоцитів, вміст ААТ до НСБ) згідно методик, представлених в роботі [8], проведено у крові 7 пацієнтів з не нейропатичною формою ЛХН, віком 7-15 років (середній вік $13,4 \pm 0,34$). Клінічний стан цих хворих визначався переважанням фенотипових змін, симптоматики ураження вісцеральних органів, кістково-рухового апарату, на фоні мінімально виражених неврологічних розладів, які, як правило, носили вторинний характер (тунельні нейропатії, затримка розвитку психо-мовної сфери та інше).

Групу порівняння № 1 склали 7 здорових дітей віком 7-15 років, групу порівняння № 2 – 7 хворих на

дитячий церебральний параліч (ДЦП) у формі спастичного тетрапарезу тієї ж вікової групи без виражених інтроскопічних змін головного мозку. В анамнезі дітей, хворих на ДЦП, мало місце пологове ішемічно-гіпоксичне ураження ЦНС.

Для статистичної обробки отриманих даних застосовували методи варіаційної статистики. Нормальність розподілу даних перевіряли за критерієм Шапіро-Уїлкі. Для множинного міжгрупового порівняння середніх значень використовували непараметричний ранговий дискримінантний аналіз Краскела-Уолліса з подальшим застосуванням попарних порівнянь груп у діалозі тесту Краскела-Уолліса в STATISTICA 6.1, що еквівалентно множинним порівнянням за допомогою критерію U-Манна-Уїтні [9].

Реалізація процедури Хольма-Бонферроні [3] виконана засобами MS Excel 2007.

Усереднені величини представляли у вигляді M (25%; 75%) (n), де M – медіана; (.) – інтерквартильний діапазон.

Статистичний аналіз і графічне представлення результатів виконували з використанням пакета програм STATISTICA 6.1 [7].

Результати дослідження та їх обговорення.

Для статистичного аналізу змін показників імунологічного статусу пацієнтів використовували ДА Краскела-Уолліса, згідно з яким для показника відсоткової кількості В – лімфоцитів в периферичній крові – Н (2, N = 21) = 14,2, $p = 0,0008$, і оскільки $p < 0,05$, групи дослідження статистично високозначуще різняться між собою (**рис. 1**).

При цьому за даними міжгрупового порівняльного аналізу, ураховуючи поправку Хольма-Бонферроні, спостерігається статистично значуще зростання цього показника відносно здорових дітей відповідного віку (група порівняння № 1) як у пацієнтів з не нейропатичною формою так і у дітей відповідного віку з ДЦП (група порівняння № 2) – з 9,86 (9,63;10,2)% в групі порівняння № 1 до 14,2 (12,4;18,3)%, тобто в 1,4 разу у пацієнтів з не нейропатичною формою (критерій U-Манна-Уїтні; $p=0,02$), і до 18,0 (15,0;20,0)% – у 1,8 разу у дітей з ДЦП (критерій U-Манна-Уїтні; $p=0,0009$). При цьому між самими групами порівняння № 1 і № 2 різниця була статистично незначущою.

Аналізуючи зміну показника проліферативної активності лімфоцитів, згідно з критерієм Краскела-Уолліса – Н (2, N = 21) = 12,07, $p = 0,002$, тобто, групи дослідження статистично значуще різняться між собою (**рис. 2**).

При цьому за даними міжгрупового порівняльного аналізу, спостерігається статистично високозначуще зростання цього показника у пацієнтів з не нейропатичною формою як відносно здорових дітей відповідного віку (група порівняння № 1), так і у дітей з ДЦП (група порівняння № 2) – відповідно з 31 (27; 38)% і 32 (29; 36)% в групах порівняння № 1 і № 2 до 46 (42; 59)% у пацієнтів з не нейропатичною формою, тобто в 1,4 та 1,5 разу (критерій U-Манна-Уїтні; $p=0,007$ та $p=0,009$). При цьому між самими групами порівняння № 1 і № 2, як і в попередньому випадку, різниця була статистично незначущою.

Щодо показника імунологічного статусу пацієнтів – тканинного антигена, за критерієм Краскела-Уолліса групи дослідження також статистично значуще різняться між собою (відповідно $H(2, N = 21) = 9,27, p = 0,0097$) (рис. 3).

При цьому спостерігається значне статистично значуще зниження цього показника у пацієнтів з не нейропатичною формою відносно групи порівняння № 2 (дітей з ДЦП) – з 8,0 (4,0; 14,0) в групі порівняння № 2 до 1,8 (1,0; 3,0) у пацієнтів з не нейропатичною формою, тобто в 4,4 рази (критерій U-Манна-Уїтні; $p=0,012$). Щодо групи порівняння № 1, де цей показник становить 5,67 (3,55; 7,54), відносно пацієнтів з не нейропатичною формою спостерігалася тенденція до виявлення значущих відмінностей (критерій U-Манна-Уїтні; $p=0,07$), проте цей результат є статистично незначущим. При цьому між групами порівняння № 1 і № 2, як і в попередніх випадках, статистично значущих відмінностей виявлено не було.

Аналізуючи зміну показника ЦІК, згідно критерію Краскела-Уолліса – $H(2, N = 21) = 9,99, p = 0,007$, тобто, групи дослідження статистично значуще різняться між собою (рис. 4).

При цьому спостерігається статистично значуще зростання цього показника у пацієнтів з не нейропатичною формою відносно здорових дітей відповідного віку з 77 (71;81)% в групі порівняння № 1 до 100 (95; 115) (критерій U-Манна-Уїтні; $p=0,01$), тобто в 1,3 рази. Між іншими групами статистично значущої різниці не відмічено. Щодо групи порівняння № 2, наявна тенденція до виявлення значущих відмінностей відносно пацієнтів з не нейропатичною формою, де цей показник становить 95 (85; 110) (критерій U-Манна-Уїтні; $p=0,04$), проте, враховуючи поправку Хольма-Бонферроні, цей результат є статистично незначущим.

Стосовно показника рівня аутоантител до ОБМ (рис. 5), згідно з критерієм Краскела-Уолліса – $H(2, N = 21) = 7,23, p = 0,03$, групи дослідження відрізняються статистично значуще. При цьому відмічається тенденція до виявлення значущих відмінностей у пацієнтів з не нейропатичною формою відносно здорових дітей, де цей показник зростає з 19,28 (16,74; 24,69) у.о. до 33,4 (24,0; 41,8) у.о., тобто в 1,7 рази (критерій U-Манна-Уїтні; $p=0,03$), проте, враховуючи поправку Хольма-Бонферроні, ця різниця є статистично незначущою. Статистично значущої різниці між іншими групами дослідження для цього показника також відмічено не було.

Щодо показника рівня аутоантител до S-100 (рис. 6), згідно з критерієм Краскела-Уолліса – $H(2, N = 21) = 15,91, p = 0,0004$, спостерігається статистично високозначуща різниця між групами, що вивчаються.

При міжгруповому порівнянні відмічається статистично високозначуще зростання цього показни-

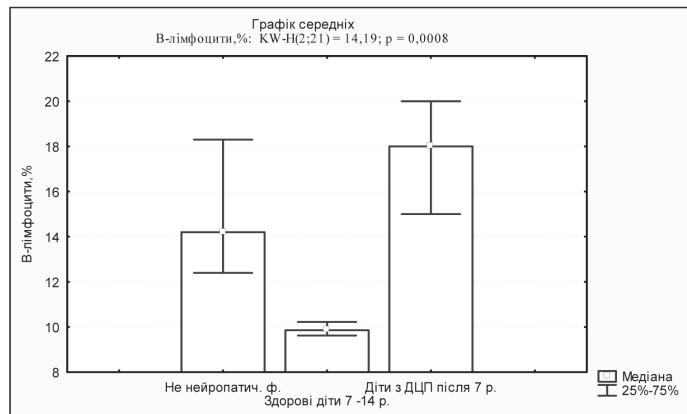


Рис. 1. Вміст В-лімфоцитів (%) у крові хворих з не нейропатичною формою ЛХН та дітей груп порівняння.

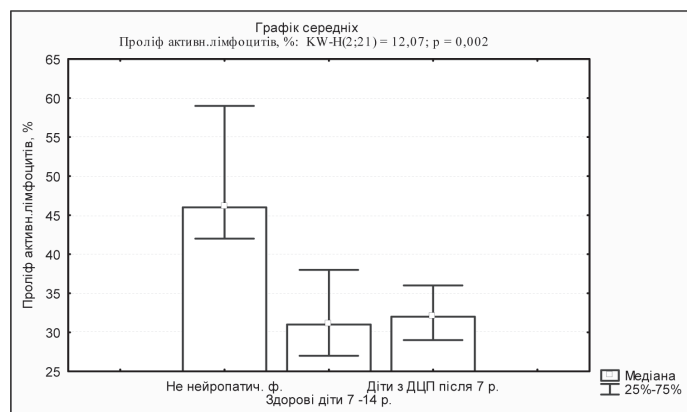


Рис. 2. Показники проліферативної активності лімфоцитів (%) у крові хворих з не нейропатичною формою ЛХН та дітей груп порівняння.

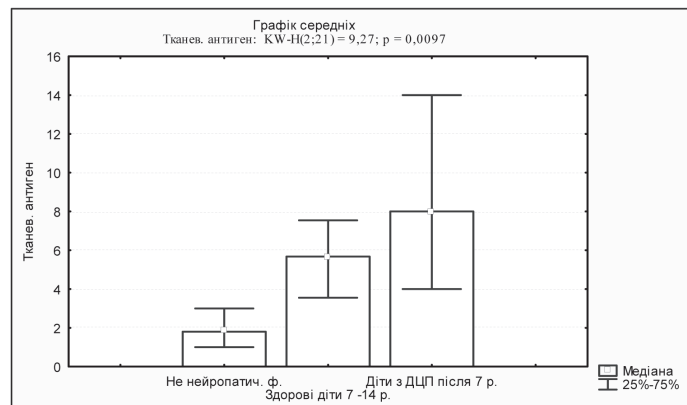


Рис. 3. Рівень тканинного антигена у крові хворих з не нейропатичною формою ЛХН та дітей груп порівняння.

ка у пацієнтів з не нейропатичною формою відносно здорових дітей з 3,89 (3,6; 5,48) у.о. до 9,8 (8,3; 12,9) у.о., тобто в 2,5 рази (критерій U-Манна-Уїтні; $p=0,0002$). При цьому у групи порівняння № 2 (діти з ДЦП) відносно пацієнтів з не нейропатичною формою спостерігалася тенденція до виявлення значущих відмінностей (критерій U-Манна-Уїтні; $p=0,05$), проте враховуючи поправку Хольма-Бонферроні, ці дані є статистично незначущими. Статистично зна-

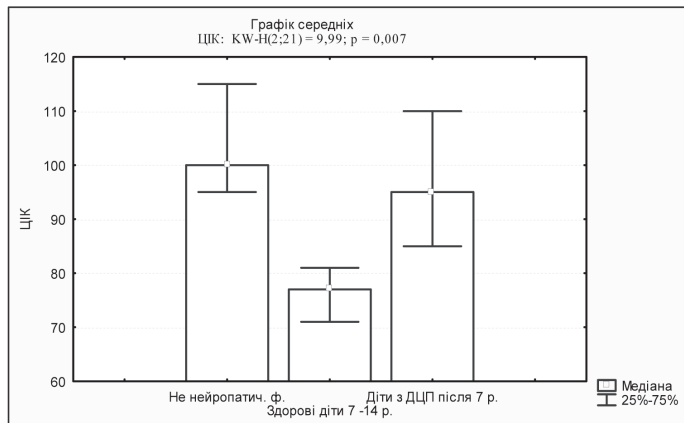


Рис. 4. Кількість циркулюючих імунних комплексів у крові хворих з не нейропатичною формою ЛХН та дітей груп порівняння.

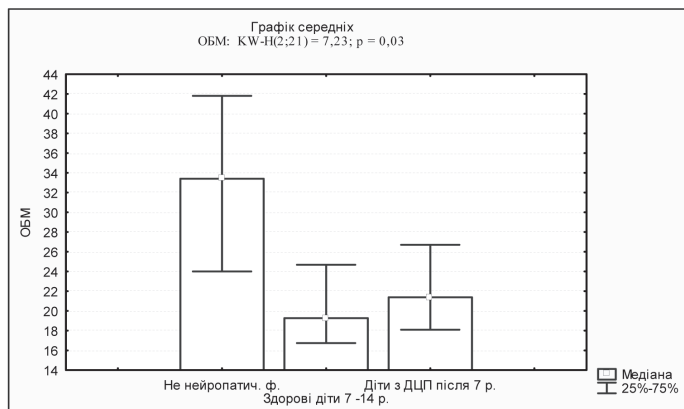


Рис. 5. Кількість ААТ (у.о.) до основного білку мієліну у крові хворих з не нейропатичною формою ЛХН та дітей груп порівняння.

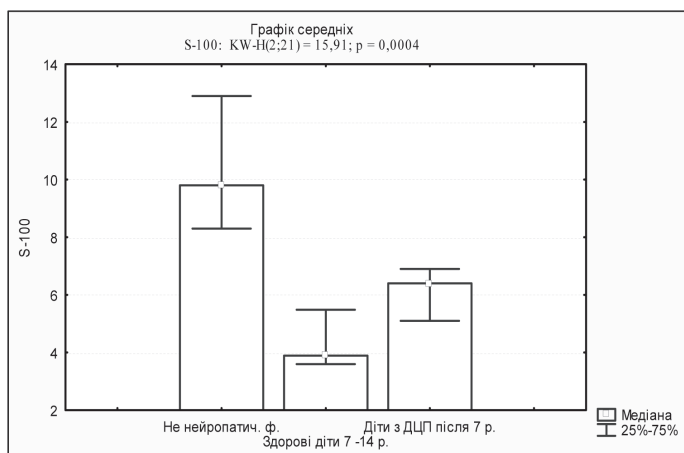


Рис. 6. Кількість ААТ (у.о.) до білка S-100 у крові хворих з не нейропатичною формою ЛХН та дітей груп порівняння.

чущої різниці між іншими групами порівняння також не спостерігалось.

Згідно критерію Краскела-Уолліса – $H(2, N = 21) = 15,38, p = 0,0005$, щодо показника рівня аутоантитіл до нейроспецифічної енолази (NSE) (рис. 7) також спостерігається статистично значуща різниця між групами, що вивчаються.

При міжгруповому порівнянні відмічається статистично значуще зростання цього показника у пацієнтів з не нейропатичною формою як відносно групи порівняння № 1 (здорових дітей) – з 10,0 (9,1; 11,78) у.о. до 25,8 (25,0; 30,7) у.о. тобто в 2,6 рази, так і відносно групи порівняння № 2 (дітей з ДЦП) – з 13,30 (10,4; 14,5) у.о. відповідно також до 25,8 (25,0; 30,7) у.о. При цьому у першому випадку різниця була статистично значущою (критерій U-Манна-Уїтні; $p=0,0003$), а у другому – була наявна тенденція до виявлення значущих відмінностей (критерій U-Манна-Уїтні; $p=0,04$), проте враховуючи поправку Хольма-Бонферроні, цей результат був статистично незначущим. При цьому між самими групами порівняння, як і для попередніх показників імунологічного статусу пацієнтів, значущих відмінностей виявлено не було.

Таким чином, за даними міжгрупового порівняльного аналізу із застосуванням парних порівнянь груп у діалозі тесту Краскела-Уолліса в STATISTICA 6.1, що еквівалентно множинним порівнянням за допомогою критерію U-Манна-Уїтні, урахувавши поправку Хольма-Бонферроні, засвідчено наявність значущих відмінностей у пацієнтів з не нейропатичною формою ЛХН відносно здорових дітей відповідного віку щодо майже всіх показників імунологічного статусу пацієнтів, які вивчалися, крім показника рівня аутоантитіл до ОБМ. При цьому між самими групами порівняння для жодного з показників імунологічного статусу пацієнтів значущих відмінностей виявлено не було. Виявлена нами підвищена проліферативна активність В-лімфоцитів, очевидно, направлена на продукцію аутоантитіл до НСБ і визначає особливості рівня антитілоутворення до нейрональних і гліальних антигенів.

Практично всі ЛХН є результатом зниженої активності лізосомних ферментів, яка спричинена мутаціями в кодуєчому гені відповідного ферменту. Накопичення патологічного субстрату в різних клітинах сприяє мультисистемному ураженню певних органів і тканин, що і спостерігається при не нейропатичних формах захворювання. Цікавими у прогностичному плані є виявлені нами високі рівні аутоантитіл до S-100 та НСЕ, що може засвідчувати при розвиток аутоімунних реакцій у ЦНС, або підвищений розпад нейрональних і гліальних елементів.

Багато ЛХН, які раніше вважались безперспективними, сьогодні успішно лікуються (хвороба Гоше, мукополісахаридози 1, 2, 4, 6 типів). Такий метод лікування, як фермент-замісна терапія, дозволяє загальмувати процес накопичення патологічного субстрату в організмі і запобігти ураженню органів і систем. Тому величезного значення в менеджменті цих захворювань набуває доступна рання і точна діагностика. Визначення рівня аутоантитіл до НСБ навіть при не нейропатичних формах

ЛХН може сприяти ранній діагностиці уражень ЦНС, визначенню прогнозу перебігу захворювання і, можливо, ефективності лікування. Це дозволяє значно покращити якість життя хворим навіть при таких тяжких захворюваннях, як синдром Гурлера та синдром Хантера, а в деяких випадках (хвороби Гоше та Фабрі) повернути в суспільство абсолютно фізично і соціально адаптованих, працездатних людей.

Висновки. У пацієнтів з не нейропатичною формою ЛХН віком до 7 років виявлено статистично значущі відмінності від груп порівняння всіх показників гуморального імунітету, які вивчалися, окрім рівня ААТ до ОБМ. Це може засвідчувати про переважання процесів ураження клітинних елементів над демієлінізацією. Підвищена проліферативна активність В-лімфоцитів, очевидно, направлена на продукцію аутоантитіл до НСБ і визначає особливості рівня антитілоутворення до нейрональних і гліальних антигенів.

Виявлене статистично значуще збільшення рівня ААТ до НСБ дозволяє оцінити ступінь ураження нервової системи і може бути раннім діагностичним критерієм до маніфестації захворювання.

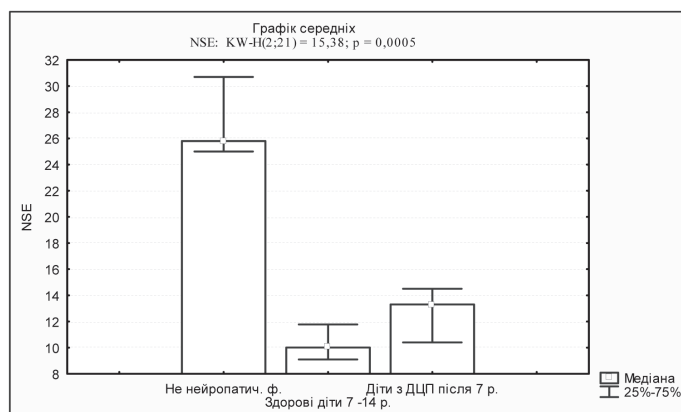


Рис. 7. Кількість ААТ (у.о) до NSE у крові хворих з не нейропатичною формою ЛХН та дітей груп порівняння.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому будуть проводитись дослідження імунного статусу у хворих з нейропатичною формою ЛХН і кореляційна залежність показників гуморального імунітету між цими формами захворювання. Можливо, дослідження показників імунного статусу будуть уведені в діагностичний протокол як метод ранньої діагностики.

Література

- Vorob'yeva VA, Ivanova MV, Fominykh VV, Zakharova MN, Zigangirova NA, Gulyayeva NV. Biomarkery rasseyannogo skleroza (obzor i sobstvennyye dannyye). Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. SS. Korsakova. Spetsvypuski. 2013;113(10):23-31. Dostupno: <https://www.mediasphera.ru/issues/zhurnal-nevrologii-i-psikiatrii-im-s-s-korsakova-2/2013/10/031997-729820131024> [in Russian].
- Kryzhanovskiy GN, Magayeva SV, Makarov SV, Sepiashvili RI. Neuroimmunopatologiya. Moskva: Izdatel'skaya gruppa NII obshchey patologii i patofiziologii RAMN (Moskva); 2003. 406 s. [in Russian].
- Mastitskiy SE, Shitikov VK. Statisticheskii analiz i vizualizatsiya dannykh s pomoshch'yu R [Internet]. Khaydel'berg – London – Tol'yatti; 2014. 401 s. Dostupno: <http://r-analytics.blogspot.com> [in Russian].
- Morozov SG, Gnedenko BB, Magayeva SV, Gribova IYe. Yestestvennyye antitela k antigenam mozga v norme. Neyrokhiimiya. 2005;22(2):85-96. [in Russian].
- Pichkur LD, Verbovs'ka SA, Akínola ST, Chitaëva GÈ. Osnovni patogenetichni mekhanizmi protsesu demielinizatsii v TSNS ta mozhlivosti yogo korektsii. Ukr. nevrologichnyi zhurnal. 2017;1:12-9. Dostupno: http://www.ukrneuroj.com.ua/svizhij_nomer.php?nid=43 [in Ukrainian].
- Pichkur LD, Semenova VM, Verbovs'ka SA, Oleksenko NP, Akínola ST. Osoblivosti perebigu yeksperimental'nogo yentsefalomielitu pislya transplantatsii stovburovikh klitin. Ukr. neyrokhirurg. zhurnal. 2017;2:27-33. DOI: 10.25305/unj.104500 [in Ukrainian].
- Rebrova OYU. Statisticheskii analiz meditsinskikh dannykh. Primeneniye paketa prikladnykh programm STATISTICA. Moskva: MediaSfera; 2002. 312 s. [in Russian].
- Rudenko VA, Bel's'ka LM, Verbovs'ka SA, Pichkur OL. Neuroautoimunnii reaktsii u shchuriv z yeksperimental'nim alergichnim yentsefalomielitom pislya likuvannya ksenogennimi mezenkhimal'nimi stovburovimi klitinami ta IL-10. Zb. nauk. prats' spivrobotnikiv NMAPO im. P. L. Shupika. Kiyv: 2014;23(3):447-52. Dostupno: http://www.nmapo.edu.ua/zagruzka/zbornikNMAPO23_3.pdf [in Ukrainian].
- Shabanov DA. Onlayn-konspekt kursa «Biometricheskaya obrabotka dannykh v zoologii i ekologii» [Internet]. Khar'kov: Shabanov DA; 2011. Dostupno: <https://batrachos.com/biometria> [in Russian].
- Coutinho MF, Matos L, Alves S. From bedside to cell biology: a century of history on lysosomal dysfunction. Gene. 2015 Jan 15;555(1):50-8. DOI: 10.1016/j.gene.2014.09.054. Epub 2014 Sep 29. PMID: 25275857.
- Köberlin MS, Snijder B, Heinz LX, Baumann CL, Fauster A, Vladimer GI, et al. A conserved circular network of coregulated lipids modulates innate immune responses. Cell. 2015 Jul 2;162(1):170-83. DOI: 10.1016/j.cell.2015.05.051. Epub 2015 Jun 18. PMID: 26095250. PMCID: PMC4523684.
- Platt FM, Boland B, van der Spoel AC. The cell biology of disease: lysosomal storage disorders: the cellular impact of lysosomal dysfunction. J Cell Biol. 2012 Nov 26;199(5):723-34. DOI: 10.1083/jcb.201208152. PMID: 23185029. PMCID: PMC3514785.
- Sandhoff K, Harzer K. Gangliosides and gangliosidoses: principles of molecular and metabolic pathogenesis. J Neurosci. 2013 Jun 19;33(25):10195-208. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0822-13.2013. PMID: 23785136
- Theofilopoulos AN, Kono DH, Baccala R. The multiple pathways to autoimmunity. Nat Immunol. 2017 Jun 20;18(7):716-24. DOI: 10.1038/ni.3731. PMID: 28632714.
- Vitner EB, Futerman AH, Platt N. Innate immune responses in the brain of sphingolipid lysosomal storage diseases. Biol Chem. 2015 Jun;396(6-7):659-67. DOI: 10.1515/hsz-2014-0301. PMID: 25720063.

НЕЙРОАУТОІМУННІ РЕАКЦІЇ У ХВОРИХ З НЕ НЕЙРОПАТИЧНОЮ ФОРМОЮ ЛІЗОСОМНИХ ХВОРОБ НАКОПИЧЕННЯ

Пічкур Н. О.

Резюме. Робота базується на дослідженні функціональної активності В-лімфоцитів і розвитку гуморальних нейроаутоімунних реакцій у хворих з не нейропатичними формами лізосомних хвороб накопичення (ЛХН).

Обстежено 7 хворих з не нейропатичною формою ЛХН. Групи порівняння склали 7 здорових дітей (гр. 1) і 7 дітей хворих на дитячий церебральний параліч у формі спастичного тетрапарезу (гр. 2) віком від 7 до 15 років ($13,4 \pm 0,34$). В крові дітей всіх груп визначали кількість В-лімфоцитів, їх проліферативну активність, кількість циркулюючих імунних комплексів (ЦИК), рівень ААТ до НСБ (ОБМ, S100, NSE) імуноферментним методом. Для статистичної обробки даних застосовували методи варіаційної статистики. Статистичний аналіз і графічне представлення результатів виконували з використанням пакета програм STATISTICA 6.1 (StatSoft Inc., <http://www.statsoft.ru>).

За даними міжгрупового порівняльного аналізу із застосуванням попарних порівнянь груп у діалозі тесту Краскела-Уолліса в STATISTICA 6.1, що еквівалентно множинним порівнянням за допомогою критерію U-Манна-Уїтні, урахувавши поправку Хольма-Бонферроні, у пацієнтів з не нейропатичною формою ЛХН виявлено статистично значущі відмінності від груп порівняння всіх показників гуморального імунітету, які вивчалися, окрім рівня ААТ до ОБМ. Це може засвідчувати про переважання процесів ураження клітинних елементів над демієлінізацією. Підвищена проліферативна активність В-лімфоцитів, очевидно, направлена на продукцію аутоантитіл до НСБ і визначає особливості рівня антитілоутворення до нейрональних і гліальних антигенів.

Виявлене статистично значуще збільшення рівня ААТ до НСБ дозволяє оцінити ступінь ураження нервової системи і може бути раннім діагностичним критерієм до маніфестації захворювання.

Ключові слова: лізосомні хвороби накопичення, не нейропатична форма, аутоантитіла, нейроспецифічні білки.

НЕЙРОАУТОИМУННЫЕ РЕАКЦИИ У БОЛЬНЫХ С НЕ НЕЙРОПАТИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ ЛИЗОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ НАКОПЛЕНИЯ

Пичкур Н. А.

Резюме. Работа базируется на исследовании функциональной активности В-лимфоцитов и развития гуморальных нейроаутоиммунных реакций у больных с не нейропатическими формами лизосомных болезней накопления (ЛБН).

Обследовано 7 больных с не нейропатической формой ЛБН. Группы сравнения составили 7 здоровых детей (гр. 1) и 7 детей больных детским церебральным параличом в форме спастический тетрапарез (гр. 2) в возрасте от 7 до 15 лет ($13,4 \pm 0,34$). В крови детей всех групп определяли количество В-лимфоцитов, их пролиферативную активность, количество циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), уровень аутоантител (ААТ) к НСБ (ОБМ, S100, NSE) иммуноферментным методом. Для статистической обработки данных применяли методы вариационной статистики. Статистический анализ и графическое представление результатов выполняли с использованием пакета программ STATISTICA 6.1 (StatSoft Inc., <http://www.statsoft.ru>).

По данным межгруппового сравнительного анализа с применением парных сравнений групп в диалоге теста Краскела-Уолліса в STATISTICA 6.1, что эквивалентно множественным сравнением с помощью критерия U-Манна-Уитни, учитывая поправку Хольма-Бонферрони, у пациентов с не нейропатической формой ЛХН обнаружено статистически значимые различия от групп сравнения показателей гуморального иммунитета, которые изучались, кроме уровня ААТ к ОБМ. Это может свидетельствовать о преобладании процессов поражения клеточных элементов над демиелинизацией. Повышенная пролиферативная активность В-лимфоцитов, очевидно, направлена на продукцию аутоантител к НСБ и определяет особенности уровня антителообразования к нейрональным и глияльным антигенам.

Обнаружено статистически значимое увеличение уровня ААТ к НСБ позволяет оценить степень поражения нервной системы и может быть ранним диагностическим критерием в манифестации заболевания.

Ключевые слова: лизосомные болезни накопления, не нейропатическая форма, аутоантитела, нейроспецифические белки.

NEUROAUTOIMUNE REACTIONS IN PATIENTS WITH THE NON NEUROPATHIC FORM OF LYZOSOMAL STORAGE DISEASES

Pichkur N. O.

Abstract. In the pathogenesis of central nervous system involvement, autoantibodies (AATs) play an important role in neuro-specific proteins (NSCs), which themselves can become damaging factors (autoimmune conditions). Determination of their level in metabolic diseases can be an objective criterion of the state of the central nervous system and even an early diagnostic criterion.

The purpose of the work: to investigate the functional activity of B-lymphocytes and the development of humoral neuro-autoimmune responses in peripheral blood of patients with non-neuropathic forms of lysosomal storage diseases (LSD).

Object and methods. The 7 patients with non neuropathic forms of LSD were examined. The comparison groups consisted of the 7 healthy children (group 1) and the 7 children with cerebral palsy in the form of spastic tetraparesis (group 2) aged up to 15 years (13.4 ± 0.34). In the blood of children of all groups, the number of B-lymphocytes was determined, their proliferative activity, the number of circulating immune complexes (CIC), the level of AAB to NSP (OBM, S100, NSE) by the immune enzyme method. For statistical processing of the obtained data, methods of variation statistics were used. The normal distribution of data was checked according to Shapiro-Wilk's criterion.

For a multiple intergroup comparison of averages, non-parametric random discriminant analysis of Crackel-Wallis was used, followed by the use of pairwise comparison of groups in the Dialectic of Crackel-Wallis test in STATISTICA 6.1, which is equivalent to a multiple comparison using the U-Mann-Whitney Criterion. Implementation of the Holm-Bonferroni procedure is performed by means of MS Excel 2007.

Averaged values were represented as M (25%; 75%) (n), where M – median; (.) Is an interquartile range.

Statistical analysis and graphical representation of the results were performed using the STATISTICA 6.1 software package (StatSoft Inc., <http://www.statsoft.ru>).

Results. According to the data of the intergroup comparative analysis, the tendency to reveal statistically significant differences in the following indices of immunological status in patients with non-neuropathic form in relation to healthy children in the U-Mann-Whitney criterion: an increase in the number of B-lymphocytes in peripheral blood ($p = 0.02$); growth of proliferative activity of B – lymphocytes in comparison with gr. № 1 ($p = 0,007$) and gr. № 2 ($p = 0,009$). The number of CEC statistically significantly differs only in comparison with the gr. No. 1 ($p = 0.01$). The level of AAB to OBM was not statistically significantly different. A statistically significant increase in the titre of AAB to S-100 protein was found in patients with non-neuropathic forms in relatively healthy children with 3.89 (3.6, 5.48). to 9.8 (8.3; 12.9) cu, that is, 2.5 times (criterion U-Mann-Whitney, $p = 0.0002$). At the same time, the tendency to identify significant differences (U-Mann-Whitney, $p = 0.05$) was observed in the comparison group number 2 (children with cerebral palsy), with regard to patients with non-neuropathic form, but given the Holm-Bonferroni amendment, these data are statistically insignificant. The level of AAB to NSE is statistically significantly elevated in patients with a non-neuropathic form in relatively healthy children (U-Mann-Whitney, $p = 0.0003$), and in relation to patients with cerebral palsy, there is a tendency to detect significant differences (U-Mann-Whitney Criterion; $p = 0.04$), however, taking into account the Holm-Bonferron amendment, this result was statistically insignificant. At the same time, no significant differences were found between the comparison groups itself, as well as for the previous parameters of the immunological status of patients.

Conclusions. According to the data of the intergroup comparative analysis using pairwise comparison of the groups in the Dialectic of Crackel-Wallis test in STATISTICA 6.1, which is equivalent to the multiple comparison using the U-Mann-Whitney criterion, taking into account the Holm-Bonferroni correction, statistically significant differences were found in patients with non-neuropathic LSD forms from the groups of comparison of all indices of humoral immunity that were studied, except for the level of AAB to OBM.

This can indicate the predominance of the processes of cellular damage over demyelination. Increased proliferative activity of B-lymphocytes, apparently, is directed at the production of autoantibodies to NSP and determines the features of the level of antibody formation to neuronal and glial antigens.

The detected statistically significant increase in the level of AAB to NSP allows to assess the degree of damage to the nervous system and may be an early diagnostic criterion for the manifestation of the disease.

Key words: lysosomal storage diseases, non neuropathic form, autoantibodies, neurospecific proteins.

Рецензент – проф. Скрипник І. М.

Стаття надійшла 16.01.2018 року