

Е.М. Климова, Л.А. Дроздова, Е.В. Лавинская

*ГУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В.Т. Зайцева НАМН Украины»,
г. Харьков, въезд Балакирева, 1*

АССОЦИАЦИЯ РАЗЛИЧНЫХ АЛЛЕЛЕЙ ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ АНТИГЕНОВ HLA И СПЕКТРА АНТИНУКЛЕАРНЫХ АНТИТЕЛ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ФЕНОТИПАХ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОЙ МИАСТЕНИИ

Миастения – аутоиммунное заболевание, характеризующееся патологической мышечной слабостью, повышенной утомляемостью различных групп мышц и прогрессирующим типом течения. Миастения индуцируется различными триггерными факторами генетического и эпигенетического характера – полиморфизм лейкоцитарных антигенов HLA, мутации генов ферментов, инфекции, стрессорные факторы, пищевые аллергены и др. [1]. Одной из основных причин возникновения миастении является антителоопосредованное нарушение нейро-мышечной передачи в синапсах из-за блокирования аутоантителами (ААТ) различных субъединиц никотиновых ацетилхолиновых рецепторов (НАХР) или из-за их деструкции клонами аутоагрессивных Т-лимфоцитов. К срыву естественной толерантности и развитию аутоагрессии в конечном итоге также приводит возможность блокировки аутоантителами воспринимающих рецепторов лимфоцитов, распознающих «свое» и «чужое». Указанные изменения процессов распознавания «своего» и «чужого» также могут быть причиной формирования патологического процесса. Так, появление на мембране клеточной мишени HLA-DR антигенов при некоторых аутоиммунных болезнях дает возможность клеткам представлять свои антигены Т-хелперам без участия макрофага, минуя регуляторные системы, что является нарушением экспрессии антигенов клеточных мембран. Как врожденная, так и индуцированная слабость Т-супрессоров и генетически запрограммированная специфическая иммунодефицитность к конкретному антигену могут быть возможными механизмами индукции аутоиммунной патологии [2].

В отличие от генетических маркеров, которые указывают на предрасположенность к развитию заболевания, некоторые ААТ служат диагностическими биомаркерами и критериями классификации для ряда патологических состояний. В качестве аутоантигенов могут выступать белки, фосфолипиды, полисахара, нуклеиновые кислоты. В настоящее время описаны около 200

разновидностей антител к ядерным компонентам – нуклеопротеинам и рибонуклеиновым кислотам, которые получили название антинуклеарные антитела (ANA) [3]. Антинуклеарные антитела (ANA) – представляют собой особую группу аутоантител, которые при определенных условиях начинают вырабатываться к компонентам клеточного ядра. При аутоиммунных заболеваниях аутоантитела к ядерным антигенам не обладают прямым цитотоксическим действием на клетки человека, однако иммунные комплексы, в состав которых входят ANA, способны запускать иммунологическое воспаление в различных тканях [3].

Для выбора тактики комплексного лечения важным является оценка формирования индивидуальных механизмов этиологии и патогенеза различных клинических фенотипов миастении.

В настоящей работе исследовали частоту встречаемости фенотипов HLA-DR и репертуар антинуклеарных аутоантител при различных клинических фенотипах генерализованной миастении.

Материалы и методы. Было обследовано 94 пациента в возрасте от 14 до 72 лет, с различными клиническими фенотипами миастении: тимуснезависимой миастенией – М, с тимусзависимой миастенией на фоне гиперплазии тимуса (МГ) и на фоне тимомы (МТ). Выявление различных HLA-DR фенотипов проводили методом комплементзависимой цитотоксичности с помощью панели типизирующих сывороток HLA DR1, DR2, DR3, DR5, DR7, DR52. Для выявления сывороточных ANA у пациентов с миастенией использовали количественный скрининговый мультиспецифический тест, выполняемый методом непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) (набор реактивов ANAscreen ORGENTEC, Германия). При получении у пациентов положительного результата скринингового ИФА-обследования, на втором этапе для визуализации молекулярной мишени ANA использовали непрямой иммунофлюоресцентный метод с использованием МКАТ, меченых FITC (Набор реактивов EUROIMMUN, Германия).

Результаты исследования. У молодых пациентов с тимуснезависимой миастенией (М) выявлено высокую гетерогенность генетических маркеров – дипло- и гаплотипов HLA-DR1, DR2, DR3, DR5, DR7. При миастении на фоне гиперплазии вилочковой железы (МГ) наиболее часто выявляли фенотипы DR1 и DR5. У пациентов группы с тимоматами (МТ) встречались только два аллеля лейкоцитарных антигенов – HLA DR2 и DR7. Наличие этих гаплотипов HLA DR2 и DR7 у части молодых пациентов с тимусзависимой миастенией (М) при прогрессировании заболевания может сопровождаться образованием тимом в старшем возрасте. А наличие у молодых пациентов с (М) гаплотипов HLA DR1 и DR5 могут быть в дальнейшем взаимосвязаны с развитием гиперплазии тимуса.

Помимо генетических предикторов, важными являются для развития аутоиммунной патологии негативные триггерные факторы, значительно изменяющие многие звенья клеточного метаболизма. Поскольку молекулы HLA участвуют в инициации клеточного и гуморального иммунного ответа на эндогенные и экзогенные белки, нами было изучено наличие антиядерных антител у больных с миастенией.

Скрининговые исследования ANA с помощью иммуноферментного анализа позволили выявить у больных с тимусзависимой миастенией на фоне местно-распространенных тимом (МТ) повышение их концентрации в 4 раза по сравнению с контрольным уровнем. При других клинических фенотипах тимуснезависимой (М) и тимусзависимой (МГ) миастении ANA в сыворотке крови не выявлены. Определение специфичности антиядерных антител с помощью иммунофлюоресцентного метода показало дополнительные мишени для ААТ – различные компоненты клеточных ядер у пациентов группы МТ.

У молодых пациентов с тимоматами (МТ) были выявлены ANA к центромерам хромосом, которые ответственны за направленное движение хромосом во время митоза, участвуют в адгезии сестринских хроматид, образовании кинетохора, спаривании гомологичных хромосом, а так же вовлечены в контроль генетической экспрессии, а так же к центромерному белку F (CTNPF). У пациентов группы МТ так же были выявлены ANA к белку NuMa, который ассоциирован с центросомой и принимает участие в образовании митотического веретена. В интерфазных клетках он выявляется в ядре, а в митотических – в полюсах веретина и накопление этого белка в микротрубочках веретена способствует стабилизации ориентации их пучков. Так же у пациентов с миастенией на фоне тимо-

мы были выявлены ANA к цитоскелету, представленному белками цитокератинами и тропомиозином. Цитокератины входят в состав промежуточных филаментов цитоскелета клеток, а тропомиозин, представляет собой волокнистый белок, взаимодействующий с актином в мышечной ткани и участвует в процессе сокращения мышц.

Таким образом, при тимусзависимой миастении, протекающей на фоне тимомы при высокой частоте встречаемости фенотипов HLA DR2 и DR 7 выявлены ANA к структурам, преимущественно участвующим непосредственно в митотическом делении клеток – к центромерам, к центромерному белку F, центросомному белку ахромотинового веретена NuMa, что оказывает прямое действие на течение пролиферативных процессов и процессы репарации и регенерации в тканях, в том числе в синапсах и тимусе. По данным Fritzler M.J. наличие ANA к центромерному белку F является маркером малегнизации [4], что может быть патогенетическим фактором при формировании местно-распространенных тимом.

Наличие определенных фенотипов HLA DR и специфических аутоантител к ядерным структурам клетки наряду с другими механизмами аутоиммунизации влияет на различные метаболические механизмы и может быть использовано для адресной терапии с учетом индивидуальных патогенетических звеньев аутоиммунного процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Scarpino, S. Expression of autoimmune regulator gene (AIRE) and T regulatory cells in human thymomas / S. Scarpino [et al.] // Clin. Exp. Immunol. – 2007. – № 149. – P. 504–512.
2. Karni A., Zisman E., Katz-Levi Y., Paas-Rozner M., Dayan M., Bautbar C., Abramsky O., Sela M., Mozes E. Reactivity of T cells from seronegative patients with myasthenia gravis to T cells epitopes of the human acetylcholine receptor // Neurology. – 1997. - Vol. 48 (6). – P. 1638- 1642.
3. Лапин С.В., Мазинг А.В., Булгакова Т.В., Суркова Е.А., Блинова Т.В и др. Клинические рекомендации по лабораторной диагностике аутоиммунных заболеваний. – Москва, 2014. – 22 с.
4. Fritzler M. Challenges to the use of autoantibodies as predictors of disease onset, diagnosis and outcomes // Autoimmunity Reviews. 2008. V.7 (8). P. 616 – 620.