



Н. О. ПІЧКУР

Центр орфанних захворювань Національної дитячої спеціалізованої лікарні «Охматдит» МОЗ України, Київ

## Нейроавтоімунні реакції в нормі та у хворих із нейропатичними формами лізосомних хвороб накопичення

**Мета** — визначити рівень автоантитіл до нейроспецифічних білків (НСБ) у крові хворих із нейропатичними формами лізосомних хвороб накопичення та інформативність цих показників.

**Матеріали і методи.** Обстежено 7 хворих з нейропатичною формою лізосомних хвороб накопичення. До групи порівняння 1 залучено 7 здорових дітей, до групи порівняння 2 — 7 дітей, хворих на дитячий церебральний параліч у формі спастичного тетрапарезу. Вік дітей — від 2 до 7 років (середній вік —  $(3,50 \pm 0,34)$  року). У крові дітей усіх груп імуноферментним методом визначали вміст В-лімфоцитів, їх проліферативну активність, рівень циркулюючих імунних комплексів, автоантитіл до НСБ (основного білка мієліну, S-100, нейроспецифічної енолази).

**Результати.** За даними міжгрупового порівняльного аналізу виявлено тенденцію до статистично значущих відмінностей за показниками імунологічного статусу в пацієнтів з нейропатичною формою лізосомних хвороб накопичення порівняно із здоровими дітьми за U-критерієм Манна—Уїтні (вміст В-лімфоцитів у периферичній крові ( $p=0,0009$ ), циркулюючих імунних комплексів ( $p=0,00007$ ), автоантитіл до основного білка мієліну ( $p=0,0001$ )). Рівень автоантитіл до нейроспецифічної енолази у пацієнтів з нейропатичною формою лізосомних хвороб накопичення був статистично значуще вищим, ніж у здорових дітей ( $p=0,002$ ) та хворих на дитячий церебральний параліч ( $p=0,012$ ). Між здоровими дітьми та хворими на дитячий церебральний параліч для жодного показника значущих відмінностей не виявлено, враховуючи поправку Бонферроні. Відмінності між групами за показниками проліферативної активності лімфоцитів і вмістом тканинного антигена за критерієм Краскела—Уолліса були статистично незначущими.

**Висновки.** Підвищення вмісту автоантитіл до НСБ у сироватці крові пацієнтів з нейропатичною формою лізосомних хвороб накопичення свідчить про підвищену проникність гематоенцефалічного бар'єра та наявність морфологічних змін у структурних елементах ЦНС. Одночасне визначення вмісту автоантитіл до декількох НСБ дає повніше уявлення про характер порушень функціонування ЦНС. Виявлене статистично значуще збільшення рівня автоантитіл до НСБ дає змогу оцінити ступінь ураження нервової системи і може бути раннім діагностичним критерієм до маніфестації захворювання.

**Ключові слова:** автоантитіла, нейроспецифічні білки, лізосомальні хвороби накопичення.

Нині накопичено достатній матеріал, який засвідчує важливе значення стану імунної системи організму у виникненні та патогенезі захворювань центральної нервової системи (ЦНС). У численних роботах показано, що зміни в імунній системі є не лише супутніми, які характеризують перебіг захворювання, а і значною мірою визначають його [5, 6]. При деяких захворюваннях ЦНС важли-

ву роль відіграють автоімунні реакції на антигени мозкової тканини, які призводять до ураження клітинних елементів мозку, затримки або демієлінізації нервових волокон [4]. Провідну роль у розвитку цих реакцій відіграють натуральні, або автоантитіла. Їх продукують CD5-лімфоцити, частка яких становить 20% від усіх В-клітин організму. Автоантитіла у більш ніж 50% випадків представлені імуноглобулінами G, які за своєю антигенною спрямованістю є моноспецифічними та епітопоспецифіч-

© Н. О. Пічкур, 2018

ними (зв'язуються лише з частиною молекули білка антигена). Їх афінність становить  $10^{-12}$  М. Нормальні значення рівня автоантител називають «золотою серединою» [7].

Вважають, що автоантитела та автореактивні лімфоцити створюють профіль біохімічної індивідуальності організму [24]. Вони утворюють систему регуляції гомеостазу на молекулярному рівні, яка координує процеси, взаємодіючи з різними антигенними мішенями [2].

Синтез автоантител у ранньому онтогенезі починається раніше, ніж синтез антител до чужорідних антигенів і збігається у часі з найважливішими етапами диференціювання та морфогенезу.

Раніше домінувала думка, що виявлення автоантител до власних антигенів засвідчує наявність патологічного автоімунного процесу [7]. Однак згідно з останніми даними в нормі концентрація автоантител у крові, зокрема до нейроантител, підтримується в певних межах. Збільшення чи зменшення їх кількості порівняно з фізіологічними компенсаторними межами спричиняє небезпечні наслідки для організму аж до розвитку патологічних деструктивних автоімунних захворювань. Виявлення автоантител саме собою ще не засвідчує наявність захворювання. Невисокі титри антител постійно виявляють у сироватці крові здорових осіб. Вони беруть участь в інактивації відповідних нейроантител, підтримуючи гомеостаз, забезпечуючи виведення продуктів метаболізму, апоптозу клітин, та в інших фізіологічних процесах. Таким чином, вони забезпечують саногенез у головному мозку.

Дослідження більше ніж 2 тис. пар матір — плід та матір — новонароджений виявило у крові 12 % вагітних жінок антител до різних структур мозку дітей. Їх кількість збільшувалася до моменту пологів. У таких дітей на різних етапах перинатального розвитку діагностовано різні захворювання нервової системи: мікроцефалію, дитячий церебральний параліч, епілепсію тощо. У матерів та їх новонароджених на 4—5-ту добу життя виявлено автоантител до галактоцереброзидів, які елімінувалися протягом першого року життя [11]. Наявність високих титрів автоантител у новонароджених можна пояснити трансплацентарним переходом від матері, оскільки в цьому віці продукція власних антител відсутня. Таким чином, поява протимозкових антител у крові матері, особливо при ускладненій вагітності, може спричинити ураження мозку плода [12].

Дані про підвищення рівня гліального фібрилярного кислого білка,  $\alpha_2$ -глікопротеїну, нейронспецифічної енолази (neuron specific enolase, NSE) і автоантител до них засвідчують важливу роль нейроімунного ланцюга в патогенезі антенатальних уражень новонароджених при ускладненій вагітності, виникненні автоімунних порушень у системі матір — плід унаслідок трансплацентарного переходу нейронспецифічних білків (НСБ) у кров вагіт-

них при ураженні мозку плода, з утворенням у них протимозкових антител, які потрапляють у плід [22]. При експериментальному інсулінозалежному цукровому діабеті виявляють антитела до компонентів мозку. Можливо, це пов'язано з нейроімунним конфліктом при вагітності, ускладненій цукровим діабетом.

Антитела до одного або декількох автоантигенів (основного білка мієліну (ОБМ), протеоліпідного білка, NSE тощо), які вільно циркулюють, виявляють як у здорових дорослих, так і новонароджених у певних фізіологічних межах. Збільшення кількості цих антител може свідчити про безсимптомний перебіг або розвиток захворювання ЦНС. Наявність автоантител до NSE корелює з високою судомною готовністю мозку, до ОБМ — з розсіяним склерозом тощо [9, 14].

Антитела до нейроантител виявляють практично при всіх неврологічних і психічних захворюваннях. Можливо, для більшості захворювань існує специфічний комплекс нейроантител, зміна титрів автоантител до яких призводить до розвитку нозологічної форми захворювання ЦНС. Індукція синтезу цих антител спричиняє розвиток деструктивних процесів у ЦНС і порушення функції гематоенцефалічного бар'єра (ГЕБ), але не визначає роль нейроімунних механізмів у патогенезі захворювання ЦНС.

Незалежно від віку антител до різних структурних елементів мозку, нейрон- і гліоспецифічних білків, нейротрансмітерів та їх рецепторів виявляють при багатьох неврологічних захворюваннях. Відрізняючись за етіологією і патогенезом, ці захворювання мають загальні риси, сукупність яких зумовлює можливість індукції синтезу антител до нейроантител і нейротрансмітерів. Для цих захворювань характерні: а) деструктивні процеси в тканині мозку, зокрема метаболічного генезу; б) порушення стану нейротрансмітерних систем; в) порушення функції ГЕБ. За таких умов у клітинних елементах мозку, щодо яких порушується природна імунологічна толерантність через забар'єрність мозку, є можливість контактувати з імунокомпетентними клітинами з індукцією синтезу антител [6].

Синтез антител до тканинних нейроантител і нейромедіаторів у невеликій кількості в нормі спостерігається у практично здорових осіб, посилюючись з віком. Лише при патології ЦНС і порушенні проникності ГЕБ автоантител проникають у патологічне вогнище, взаємодіють зі своїми мішенями і можуть змінювати стан відповідних нейрональних структур. Вважають, що в разі патології ЦНС локальна імунна система мозку втрачає природну, характерну для норми імунологічну толерантність і спричиняє розвиток імунної відповіді. Також слід ураховувати можливість появи у вогнищі патологічно посиленого збудження нових антигенних детермінант і звільнення прихованих (інтранейрональних) антигенів, щодо яких толерантність може бути відсутня.

Наявність вільних автоантитіл у крові обернено пропорційно залежить від кількості зв'язаних з антигеном антитіл, які утворили циркулюючі імунні комплекси (ЦІК), а також від вираженості патологічного процесу в ЦНС. За рівнем вільних автоантитіл можна судити про інтенсивність нейроімунної відповіді та роль нейроімунних процесів у патології мозку. Для оцінки фактичного рівня антитіл певної специфічності слід враховувати низку чинників: вік хворого, вираженість патологічного процесу з урахуванням анамнезу, даних допоміжних методів обстеження (магнітно-резонансна томографія головного мозку, рівень певних метаболітів та нейромедіаторів у крові або лікворі тощо), а також кількість ЦІК. Такий комплексний підхід до визначення рівня НСБ у крові дасть змогу оцінити ступінь вираження деструктивних процесів у ЦНС. Отже, при ремісії можливе підвищення рівня антитіл, оскільки зменшується надходження в кров нейроантигенів, а синтез антитіл триває [6].

Нейроантитіла, які проникають у мозок, поширюються по міжклітинному простору, транспортуються аксональним током в іннерваційні зони і зв'язуються з нейрональними структурами відповідної специфічності, спричиняючи нейроімуномодуляцію. Наявність аксонального транспорту нейроантитіл показана у досліджах із системним, внутрішньошлуночковим, внутрішньомозковим, інтраневральним і внутрішньом'язовим уведенням мічених нейроантитіл [13]. Швидкість аксонального транспорту нейроантитіл становить 2—3 мм/год. Є підстави вважати, що нейроантитіла транспортуються в комплексі з комплементарними нейрональними структурами (у вигляді ЦІК), оскільки неспецифічні імуноглобуліни в сироватці крові не містять протимозкових антитіл і не поширюються з ділянки введення [6].

Білки плазми крові можуть захоплюватися у терміналях мотонейронів, які розташовані за межами ГЕБ, і ретроградно транспортуватися в тіла клітин. У зв'язку з цим припускають, що захоплення антитіл, які синтезуються при патологічних процесах, може спричинити патологічні зміни в мотонейронах [31]. Можливе поширення нейроантитіл шляхом дифузії. Швидкість цього процесу становить 6—8 мм/год.

Останнім часом введено поняття «функціональний ресурс антитіл». Виділяють два основних варіанти функціональних антитіл — каталітичні (абзими) та інтратіла, які можуть бути корисними для розробки лікувальних і діагностичних технологій [3, 8, 23].

Каталітичними називають антитіла, які зв'язавшись з антигеном-індуктором, здатні задіяти його в ролі субстрата в реакціях специфічного каталізу, тобто реалізують властиву таким абзимам функціональність. Серед відомих абзимів практичну цінність становлять антитіла з ДНК-гідролізувальною активністю (ДНК-абзими) і антитіла з протеолітичною активністю (антитіла-протеази). Такі антитіла

мають унікальний каталітичний потенціал та можуть мати важливе значення на етапах верифікації діагнозу, моніторингу ефективності лікування, прогнозуванні ризику виникнення ускладнень і результатів лікування [8]. Деякі з абзимів є складовою нових лікарських засобів, які застосовують у терапевтичних схемах з високим ступенем клінічної ефективності та безпечності [23].

Абзими мають як природне, так і штучне походження. Інтратіла — це винятково рекомбінантні біомолекули. Вони експресуються внутрішньоклітинно. Переважна сфера практичного застосування цих молекул — цілеспрямоване транспортування лікарських засобів до тканин-мішеней з патогенетично орієнтованими антигенними комплексами [8, 28]. Інтратіла вважають перспективними для фармакотерапії захворювань вірусної природи, автоімунних і дегенеративних процесів [20].

Існує низка дегенеративних захворювань з автоімунним компонентом, при яких у клітинах надлишково накопичуються конформаційно нестабільні антигени. На доклінічній стадії процес накопичення можна контролювати імунофармакотерапією з використанням цільових інтратіл [17, 25].

Таким чином, залежно від специфічності та комплементарності нейроімунні процеси можуть індукувати як комплементнезалежну гіперактивізацію нейронів з утворенням патогенетичного механізму невропатологічних синдромів (генератора патологічного посиленого збудження), так і комплементнезалежне ушкодження нейронів, яке може призводити до гіпоактивності, втрати специфічних функцій та загибелі нейронів.

Перспективи практичної медицини пов'язують з діагностично-лікувально-реабілітаційними технологіями на основі функціональних антитіл.

Не заперечуючи існування забар'єрних органів, до яких належить мозок, слід визнати існування тісних взаємозв'язків і взаємодії цих органів з імунною системою в регуляції захисних нейропротективних механізмів. Непроникність ГЕБ умовна, а підтримка внутрішнього «гомеостазу» у мозку забезпечується зокрема постійною циркуляцією клітин вродженого й адаптивного імунітету, які здатні усувати локальні патологічні процеси [13]. Значною мірою ця взаємодія забезпечується автоантитілами до НСБ, які продукуються В-лімфоцитами. Крізь ГЕБ можуть проникати як автоантитіла, так і В-лімфоцити. Існування інтратіла В-клітинного імунітету сприймають як особливий імунний статус нервової системи [29].

Автоантитіла у ЦНС виконують міжклітинні, міжсистемні комунікативно-регуляторні функції. Потенційну біологічну активність антитіл пов'язують не з модуляцією функціональної активності антигенів-мішеней, а з біологічною активністю автоантитіл *per se*. У деяких антитіл виявлено ферментативну активність (абзими), яка дає їм змогу впливати на антигени і знижувати їх [7].

Існує багато захворювань, у патогенезі яких провідну роль відіграє внутрішньомозковий гуморальний імунітет: автоімунні, дегенеративно-дистрофічні, запальні захворювання, «спадкові» метаболічні захворювання, при яких у клітинах мозку накопичуються проміжні продукти обміну (лізосомні хвороби накопичення (ЛХН)) [16, 18]. При діагностиці нейропатичних форм ЛХН рівень автоантитіл до НСБ у поєднанні з результатами, отриманими іншими методами, може бути раннім діагностичним маркером, а дослідження титру автоантитіл у динаміці — критерієм ефективності лікування.

**Мета роботи** — визначити рівень автоантитіл до нейроспецифічних білків у крові хворих з нейропатичними формами лізосомних хвороб накопичення та інформативність цих показників.

### Матеріали і методи

Дослідження нейроавтоімунних реакцій (кількість і проліферативна активність В-лімфоцитів, вміст автоантитіл до НСБ у крові) у 7 пацієнтів з нейропатичною формою ЛХН (основна група) проведено твердофазним імуоферментним методом [10]. У неврологічному статусі хворих відзначено затримку психічного та стато-моторного розвитку, порушення м'язового тону за типом спастичності, парези, явища атаксії. Дослідження проведено також у 7 здорових дітей (група порівняння 1) та 7 хворих зі спастичною формою дитячого церебрального паралічу (ДЦП) у формі спастичного тетрапарезу без грубих інтроскопічних змін головного мозку (група порівняння 2). В анамнезі дітей, хворих на ДЦП, зафіксоване пологове ішемічно-гіпоксичне ураження ЦНС. Вік дітей — від 2 до 7 років (середній вік —  $3,50 \pm 0,34$  року).

Для статистичної обробки отриманих даних застосовували методи варіаційної статистики. Нормальність розподілу даних перевіряли за критерієм Шапіро — Вілка. Для множинного міжгрупового порівняння середніх значень використовували непараметричний ранговий дискримінантний аналіз Краскела — Уолліса та непараметричний критерій U Манна — Уїтні з поправкою Бонферроні ( $p < 0,05$ ).

Усереднені величини наведено у вигляді медіани та міжквартильного діапазону (М [25%; 75%]).

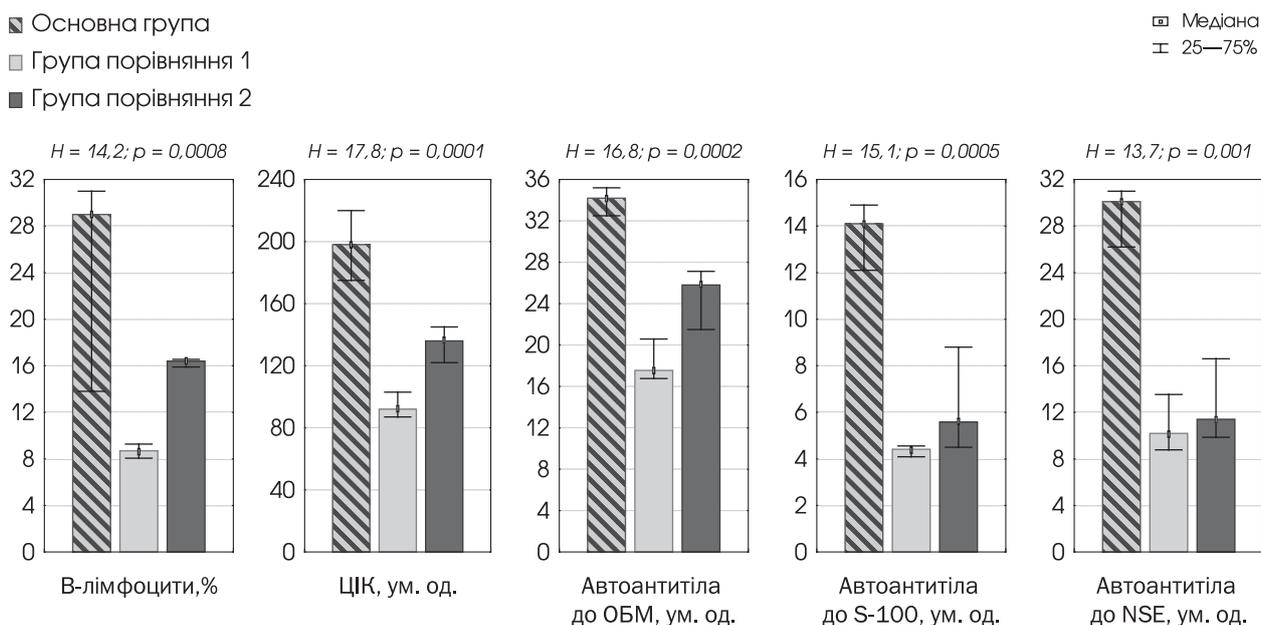
Статистичний аналіз виконували з використанням пакета програм Statistica 6.1 (StatSoft Inc.).

### Результати та обговорення

Для статистичного аналізу зміни показників імунологічного статусу пацієнтів використовували дискримінантний аналіз Краскела — Уолліса.

Групи статистично значущо відрізнялися ( $N = 14,2$ ,  $p = 0,0008$ ) за відносною кількістю В-лімфоцитів у периферичній крові (рисунок). Міжгруповий порівняльний аналіз ( $p < 0,05$ ) виявив статистично значуще збільшення вмісту В-лімфоцитів у крові у пацієнтів з нейропатичною формою порівняно із здоровими дітьми відповідного віку (відповідно 8,7 [8,1; 9,27] та 29,0 [13,8; 31,0]%; U-критерій;  $p = 0,0009$ ). Відносно групи порівняння 2 відмінність була статистично незначущою. Відзначено тенденцію до виявлення статистично значущої відмінності між групами порівняння 1 і 2 (U-критерій;  $p = 0,02$ ), проте, враховуючи поправку Бонферроні ( $p < 0,017$ ), ця відмінність була статистично незначущою.

За проліферативною активністю лімфоцитів та вмістом тканинного антигена групи дослідження статистично значущо не відрізнялися (відповідно



**Рисунок.** Показники імунологічного статусу хворих з нейропатичною формою лізосомних хвороб накопичення та дітей групи порівняння

$H = 4,9$ ,  $p = 0,08$  і  $H = 3,5$ ,  $p = 0,2$ ), тоді як за рівнем ЦІК виявлено статистично значущу відмінність ( $H = 17,8$ ,  $p = 0,0001$ ) (див. рисунок). Зафіксовано статистично значуще збільшення цього показника у пацієнтів основної групи порівняно із здоровими дітьми відповідного віку (відповідно 92 [87; 103] і 198 [175; 220] %; U-критерій;  $p = 0,00007$ ). Між іншими групами статистично значущої відмінності не виявлено.

Групи статистично значущо відрізнялися ( $H = 16,8$ ,  $p = 0,0002$ ) за рівнем автоантитіл до ОБМ (див. рисунок). Цей показник був статистично значуще більшим в основній групі порівняно із здоровими дітьми (відповідно 17,55 [16,76; 20,59] і 34,2 [32,5; 35,2] ум. од.; U-критерій;  $p = 0,0001$ ). Статистично значущої відмінності між іншими групами не виявлено.

Виявлено статистично значущу відмінність ( $H = 15,1$ ,  $p = 0,0005$ ) між групами за вмістом автоантитіл до білка S-100 (див. рисунок). Цей показник був статистично значуще більшим в основній групі порівняно із здоровими дітьми (відповідно 4,41 [4,09; 4,56] та 14,1 [12,1; 14,9] ум. од.; U-критерій;  $p = 0,0004$ ). Статистично значущої відмінності між іншими групами не виявили. У дітей з ДЦП порівняно з пацієнтами з нейропатичною формою спостерігали тенденцію до виявлення значущої відмінності (U-критерій;  $p = 0,04$ ), проте, враховуючи поправку Бонферроні ( $p < 0,017$ ), ця відмінність була статистично незначущою.

Групи статистично значущо відрізнялися ( $H = 13,7$ ,  $p = 0,001$ ) за рівнем автоантитіл до NSE (див. рисунок). Цей показник був статистично значуще більшим в основній групі порівняно із здоровими дітьми (відповідно 10,19 [8,78; 13,54] і 30,1 (26,2; 31,0) ум. од.; U-критерій;  $p = 0,002$ ) та дітьми з ДЦП (11,4 [9,86; 16,6] і 30,1 [26,2; 31,0] ум. од.; U-критерій;  $p = 0,012$ ). Між здоровими дітьми та хворими на дитячий церебральний параліч значущих відмінностей за цим показником не виявлено.

ЛХН характеризуються інтралізосомальним накопиченням різноманітних сполук, продуктів їх неправильної деградації та сегрегованих цитоплазматичних компонентів у різних клітинах і типах тканин. Ці захворювання є наслідком зниженої активності лізосомних ферментів, спричиненої мутаціями в кодуючому гені відповідного ферменту, захисного білка, білка-активатора або ферменту ендоплазматичного ретикулуму Гольджі, а також системи, яка відповідає за післятрансляційну модифікацію білка. Накопичення патологічного субстрату в різних клітинах призводить до мультисистемного ураження певних органів і тканин, зокрема нервової системи (невропатичні форми).

Раніше практично всі ЛХН вважали некурабельними. Нині успішно лікують хворобу Гоше, мукополісахаридози 1, 2, 4, 6-го типу. Важливе значення у лікуванні цих захворювань має доступна рання і точна діагностика.

Існує багато методів діагностики ушкоджень тканин мозку, однак дедалі більше уваги приділяють лабораторній діагностиці, яка передбачає визначення вмісту НСБ — біологічно активних молекул, які специфічні до нервових тканин і виконують специфічні для них функції. Вивчено близько 60 НСБ мозку, які за локалізацією і структурою класифікують на нейрональні, гліальні, цитоплазматичні, мембраноасоційовані тощо. Визначення рівня НСБ сприяє ранній діагностиці уражень нервової системи, дає змогу спрогнозувати перебіг захворювань та ефективність лікування.

Найбільш інформативними для клініцистів є білки S-100, ОБМ та NSE.

S-100 — кислий протеїн, який зв'язує кальцій. Синтезується переважно астроглією і є маркером гострого ушкодження ЦНС. Його рівень зростає після інсульту, черепно-мозкової травми, при пухлинах головного мозку [2].

Виявлений нами високий титр автоантитіл може свідчити про протективний вплив антитіл до білка S-100, спрямований на видалення із внутрішньоклітинного простору надлишкової кількості цього білка, який стимулює синтез NO та активацію мікроглії [4, 19, 21].

Іншим механізмом протективної дії автоантитіл щодо білка S-100 може бути вплив (зниження) на утворення активних форм кисню, які руйнують нейрони [27]. Автоантитіла, регулюючи рівень білка S-100, впливають на синтез астроцитами фактора росту фібробластів, трансформувального фактора росту  $\beta$  [27].

Титр автоантитіл до ОБМ значно збільшується при демієлінізуювальних ураженнях ЦНС. За титром цих антитіл визначають ступінь вираження демієлінізації. На ранніх стадіях демієлінізуювальних захворювань причиною деструкції мієліну є метаболічні порушення, які супроводжуються активацією специфічних протеолітичних ферментів мієліну і процесів перекисного окиснення ліпідів. Автоантитіла до ОБМ видаляють продукти розпаду мієліну, пізніше беруть участь у процесі демієлінізації (мімікрія). Захворювання набуває аутоімунного характеру, що спостерігається при енцефаломієлітах і розсіяному склерозі [15, 26, 30].

Одним із важливих маркерів ураження ЦНС є NSE — фермент, який бере участь у реакціях гліколізу. Міститься в цитоплазмі та дендритах нейронів і нейроендокринних клітин [5]. При руйнуванні нейронів фермент потрапляє в ліквор, крізь порушений ГЕБ проникає в кров. Визначення рівня NSE або автоантитіл до NSE може бути критерієм ступеня ушкодження мозку або перебігу захворювання [1].

## Висновки

Науковою новизною нашого дослідження є виявлене статистично значуще підвищення рівня автоантитіл до білка S-100 та основного білка мієліну

у крові хворих з нейропатичною формою лізосомних хвороб накопичення порівняно із здоровими дітьми, автоантитіл до NSE — порівняно як із здоровими дітьми, так і з пацієнтами з дитячим церебральним паралічем, В-лімфоцитів — порівняно із здоровими дітьми. За проліферативною активністю В-лімфоцитів групи статистично значуще не відрізнялися.

Підвищення вмісту автоантитіл до нейронспецифічних білків у сироватці крові хворих на лізосомні хвороби накопичення непрямо свідчить про підвищену проникність гематоенцефалічного бар'єра та наявність морфологічних змін у структурних елементах ЦНС.

*Конфлікту інтересів немає.*

Одночасне визначення автоантитіл до декількох нейронспецифічних білків дає повніше уявлення про характер порушень функціонування ЦНС.

Виявлене статистично значуще збільшення рівня В-лімфоцитів і автоантитіл до нейронспецифічних білків у сироватці крові хворих на лізосомні хвороби накопичення порівняно з іншими дегенеративно-дистрофічними ураженнями ЦНС (дитячий церебральний параліч) навіть на початкових стадіях захворювання дає змогу оцінити ступінь ураження нервової системи і може бути одним із ранніх діагностичних критеріїв лізосомних хвороб накопичення до маніфестації захворювання.

## Література

1. Березин А. Е. Нейроспецифические белки у пациентов с мозговым инсультом // Укр. неврол. журн. — 2012. — № 2. — С. 22—27.
2. Воробьева В. А., Иванова М. В., Фоминых В. В. и др. Биомаркеры рассеянного склероза (обзор и собственные данные) // Журн. неврол. и психиатрии имени С. С. Корсакова. Спец. вып. — 2013. — № 113 (10), вып. 2. — С. 23—31.
3. Габибов А. Г., Сучков С. В. Введение в медицинскую абзимологию: состояние проблемы и перспективы // Вестн. РАМН. — 2005. — № 10. — С. 44—52.
4. Ганина К. К., Дугина Ю. Л., Жавберт К. С. и др. Релиз-активные антитела к белку S100 способны корректировать течение экспериментального аллергического энцефаломиелита // Журн. неврол. и психиатрии имени С. С. Корсакова. — 2015. — № 115 (6). — С. 78—82.
5. Кадырова И. А., Кадыров А. С. Изменение концентрации сывороточных нейроспецифических белков у пациентов с метаболическим синдромом // Журн. неврол. и психиатрии имени С. С. Корсакова. — 2016. — № 116 (11). — С. 92—97.
6. Крыжановский Г. Н., Магаева С. В., Макаров С. В. и др. Нейроиммунопатология. — М.: Изд. группа НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, 2003. — 406 с.
7. Морозов С. Г., Гнеденко Б. Б., Грибова И. Е. и др. Естественные антитела к антигенам мозга в норме // Нейрохимия. — 2005. — Т. 22, № 2. — С. 85—96.
8. Пальцев М. А., Сучков С. В. «Функциональность» антител: значение для клинической практики // Тер. архив. — 2008. — Т. 80, № 8. — С. 68—75.
9. Пічкур Л. Д., Вербовська С. А., Акінола С. Т. та ін. Основні патогенетичні механізми процесу демієлінізації в ЦНС та можливості його корекції // Укр. неврол. журн. — 2017. — № 1. — С. 12—19.
10. Руденко В. А., Бельська Л. М., Вербовська С. А., Пічкур О. Л. Нейроавтоімунні реакції у щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом після лікування ксеногенними мезенхімальними стовбуровими клітинами та IL-10 // Зб. наук. праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. — К., 2014. — Вип. 23, кн. 3. — С. 447—452.
11. Семенова К. А. Восстановительное лечение больных с резидуальной стадией детского церебрального паралича. — М.: Антдор, 1999. — 383 с.
12. Скворцов И. А., Ермоленко Н. А. Развитие нервной системы у детей в норме и патологии. — М.: МЕДпресс-информ, 2003. — 368 с.
13. Харченко Е. П., Клименко М. Н. Иммунная уязвимость мозга // Журн. неврол. и психиатрии им. С. С. Корсакова. — 2007. — № 1. — С. 68—77.
14. Цымбалюк В. И., Пічкур Л. Д. Влияние трансплантации эмбриональной нервной ткани на течение эпилептического синдрома у больных детским церебральным параличом // Междунар. неврол. журн. — 2009. — № 1 (23) — С. 18—23.
15. Berger T., Reindl M. Multiple sclerosis: disease biomarkers as indicated by pathophysiology // J. Neurol. — 2007. — Vol. 259, N 1—2. — P. 21—26.
16. Boustany R. M. Lysosomal storage diseases, the horizon expands // Nat. Rev. Neurol. — 2013. — Vol. 9, N 10. — P. 583—598.
17. Cao T., Heng B. C. Intracellular antibodies (intrabodies) versus RNA interference for therapeutic application // Ann. Clin. Lab. Sci. — 2005. — Vol. 35, N 3. — P. 227—229.
18. Coutinho M. F., Matos L., Alves S. From bedside to cell biology: a century of history on lysosomal dysfunction // Gene. — 2015. — Vol. 555, N 1. — P. 50—58.
19. Cunningham C. Microglia and neurodegeneration: the role of systemic inflammation // Glia. — 2013. — Vol. 61, N 1. — P. 71—90.
20. Doorbar J., Griffin H. Intrabody strategies for the treatment of human papillomavirus-associated disease // Exp. Opin. Biol. Ther. — 2007. — Vol. 7, N 5. — P. 677—689.
21. Gómez-Nicola D., Fransen N. L., Suzzi S. et al. Regulation of microglial proliferation during chronic neurodegeneration // J. Neurosci. — 2013. — Vol. 33, N 6. — P. 2481—2493.
22. Kadhim H., Sebire G. Immune mechanisms in the pathogenesis of cerebral palsy: implication of proinflammatory cytokines and T lymphocytes // Eur. J. Pediatr. Neurol. — 2002. — Vol. 6, N 3. — P. 139—142.
23. Lo A. S., Znu Q., Marasko W. A. Intracellular antibodies (intrabodies) and their therapeutic potential // Handb. Exp. Pharmacol. — 2008. — N 181. — P. 343—373.
24. Maas M., Furie K. Molecular biomarkers in stroke diagnosis and prognosis // Biomarkers in Medicine. — 2009. — Vol. 3(4). — P. 363—383.
25. Messer A., McLearn J. The therapeutic potential of intrabodies in neurologic disorders: focus of Huntington and Parkinson diseases // BioDrugs. — 2006. — Vol. 20, N 6. — P. 327—333.
26. Nave K. A., Werner H. B. Myelination of the nervous system: mechanisms and functions // Ann. Rev. Cell Dev. Biol. — 2014. — Vol. 30. — P. 503—533.
27. Reali C., Pillai R., Saba F. et al. S100B modulates growth factor and costimulatory molecules expression in cultured human astrocytes // J. Neuroimmunol. — 2012. — Vol. 243, N 1—2. — P. 95—99.
28. Stoks M. Intrabodies as drug discovery tools and therapeutics // Curr. Opin. Chem. Biol. — 2005. — Vol. 9, N 4. — P. 359—365.
29. Ucelli A., Aloisi F., Pistoia V. Unveiling the enigma of the CNS as a B-cell fostering environment // Trends Immunol. — 2005. — Vol. 26, N 5. — P. 254—259.
30. White R., Krämer-Albers E. M. Axon-glia interaction and membrane traffic in myelin formation // Front. Cell. Neurosci. — 2014. — Vol. 7. — P. 284.
31. Zhu G., Lee A. S. Role of the unfolded protein response, GRP78 and GRP94 in organ homeostasis // J. Cell. Physiol. — 2015. — Vol. 230, N 7. — P. 1413—1420.

Н. А. ПИЧКУР

Центр орфанных заболеваний Национальной специализированной  
детской больницы «Охматдет» МЗ Украины, Киев

## Нейроаутоиммунные реакции в норме и у больных с нейропатической формой лизосомных болезней накопления

**Цель** — определить уровень аутоантител к нейроспецифическим белкам (НСБ) в крови больных с нейропатическими формами лизосомных болезней накопления и информативность этих показателей.

**Материалы и методы.** Обследованы 7 больных с нейропатической формой лизосомных болезней накопления. В группу сравнения 1 вошли 7 здоровых детей, в группу сравнения 2 — 7 детей, больных детским церебральным параличом в форме спастического тетрапареза. Возраст детей — от 2 до 7 лет (средний возраст —  $3,50 \pm 0,34$  года). В крови детей всех групп иммуноферментным методом определяли содержание В-лимфоцитов, их пролиферативную активность, уровень циркулирующих иммунных комплексов и аутоантител к НСБ (основному белку миелина, S-100, нейроспецифической энolahе).

**Результаты.** По данным межгруппового сравнительного анализа выявлена тенденция к статистически значимым различиям по показателям иммунологического статуса у пациентов с нейропатической формой лизосомных болезней накопления по сравнению со здоровыми детьми по U-критерию Манна—Уитни (содержание В-лимфоцитов в периферической крови ( $p=0,0009$ ), циркулирующих иммунных комплексов ( $p=0,00007$ ), аутоантител к основному белку миелина ( $p=0,0001$ )). Уровень аутоантител к нейроспецифической энolahе у пациентов с нейропатической формой лизосомных болезней накопления был статистически значимо выше, чем у здоровых детей ( $p=0,002$ ) и больных детским церебральным параличом ( $p=0,012$ ). Между здоровыми детьми и больными детским церебральным параличом ни для одного показателя значимых различий не выявлено, учитывая поправку Бонферрони. Различия между группами по показателям пролиферативной активности лимфоцитов и уровню тканевого антигена по критерию Краскела—Уоллиса были статистически незначимыми.

**Выводы.** Повышение содержания аутоантител к НСБ в сыворотке крови у пациентов с нейропатической формой лизосомных болезней накопления свидетельствует о повышенной проницаемости гематоэнцефалического барьера и наличии морфологических изменений в структурных элементах ЦНС. Одновременное определение аутоантител к нескольким НСБ дает более полное представление о характере нарушений функционирования ЦНС. Обнаруженное статистически значимое увеличение уровня аутоантител к НСБ позволяет оценить степень поражения нервной системы и может быть ранним диагностическим критерием до манифестации заболевания.

**Ключевые слова:** аутоантитела, нейроспецифические белки, лизосомальные болезни накопления.

N. O. PICHKUR

Centre of Orphan Diseases, National Children's Specialized Hospital «Okhmatdyt»  
of Health Ministry of Ukraine, Kyiv

## Neuroautoimmune reactions in norm and in patients with neuropathic forms of lysosomal storage diseases

**Objective** — to determine the informational value and level of autoantibodies (AAB) concentration to the neurospecific proteins (NSP) in the blood of patients with neuropathic forms of lysosomal storage diseases (LSD).

**Methods and subjects.** Seven patients with a neuropathic form of LSD were examined. The comparison groups comprised 7 healthy children and 7 children with cerebral palsy with spastic tetraparesis at the age of 2 to 7 years ( $3,5 \pm 0,34$  years). The number of B-lymphocytes, their proliferative activity, the number of circulating immune complexes, the level of AAB to NSP (BPM, S100, NSE) were determined by the enzyme immunoassay in the blood of children of all groups.

**Results.** According to the intergroup comparative analysis, there is a tendency to statistically significant differences in the following immunological status in patients with a neuropathic form of relatively healthy children by the U-Mann—Whitney criterion: the number of B-lymphocytes in the peripheral blood ( $p=0,0009$ ), the circulating immune complexes ( $p=0,00007$ ), AAB to BPM ( $p=0,0001$ ). The level of the AAB to NSE in patients with LSD is statistically significantly higher than in healthy children ( $p=0,002$ ) and patients ( $p=0,012$ ). However, between the comparison groups for any indicator, taking into account Bonferroni amendment, no significant differences were revealed. The indices of proliferative activity of lymphocytes and tissue antigen, according to Kraskel—Wallis criterion, were statistically insignificant.

**Conclusions.** An increase of the level of AAB in the serum of the patients with LSD indirectly indicates an increased permeability of the BBB and the presence of morphological changes on the part of the structural elements of the CNS. Simultaneous determination of AAB to the several NSP provides a more complete picture of the nature of CNS dysfunction. A statistically significant increase in the level of AAB to NSP was found, which allows to assess the degree of lesion of the nervous system and can be an early diagnostic criterion before the manifestation of the disease.

**Key words:** autoantibodies, neurospecific proteins, lysosomal storage diseases.