

О.І. Кальбус

Державний заклад «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України», Дніпро

Імунологічні маркери розвитку міастенії

Мета — вивчення специфічних імунологічних маркерів у хворих на міастенію. **Об'єкт і методи дослідження.** Обстежено 182 хворих на міастенію (147 (80,8%) — з генералізованою, 35 (19,2%) — з очною формою захворювання). Проводили клініко-неврологічне обстеження, клас міастенії визначали за класифікацією MGFA. Визначали рівні антитіл до рецепторів ацетилхоліну (AChR-AB) та м'язово-специфічної тирозинкінази (MuSK-AB) методом імуноферментного аналізу, виявляли антитіла до титину та SOX1 методом непрямой імунофлюоресценції. **Результати.** AChR-AB виявлено у більшості (68,1%) обстежених, достовірно частіше у хворих із генералізованою (73,5%), рідше (45,7%) — з очною формою ($p=0,002$). У 10,9% пацієнтів із генералізованою міастенією виявлені MuSK-AB, при очній формі ці антитіла не виявлено. Антитіла до SOX1 діагностовано у 5,5% обстежених виключно з генералізованою формою, встановлено їх кореляцію з летальністю ($p=0,16$; $p<0,05$). Антитіла до титину виявлено майже у $1/3$ обстежених — у 53 (29,1%) осіб, встановлено їх сильні кореляційні зв'язки з тимомією ($p=0,70$; $p<0,001$) та тимектомією з приводу тимоми в анамнезі ($p=0,65$; $p<0,001$). **Висновки.** Хворим на міастенію доцільно проводити імунологічне обстеження з визначенням AChR-AB, а при їх відсутності — до MuSK-AB. Хворим на міастенію без змін тимусу та без тимоми в анамнезі доцільно проводити дослідження на антитіла до титину з метою виявлення патологічних змін тимусу на доклінічному етапі.

Ключові слова: міастенія, антитіла, рецептори ацетилхоліну, м'язово-специфічна тирозинкіназа, титин, SOX1.

Вступ

Міастенія — відносно нечасте автоімунне захворювання, що характеризується ураженням нервово-м'язових синапсів переважно внаслідок вироблення аутоантитіл до рецепторів ацетилхоліну (AChR-AB) або до специфічного ферменту — м'язово-специфічної тирозинкінази (MuSK-AB) (Engel A.G. (Ed.), 2012; Куликова С.Л., 2014). Внаслідок цього розвивається патологічна втомлюваність та слабкість скелетних м'язів (Школьник В.М. и соавт., 2014). Мутації в білках нервово-м'язових з'єднань можуть призводити до розвитку вроджених міастенічних синдромів (Engel A.G. (Ed.), 2012; Санадзе А.Г., 2017). Етіологія міастенії залишається невизначеною, проте автоімунна природа захворювання на сьогодні не викликає сумнівів (Skeie G.O. et al., 2010).

За даними різних досліджень, захворюваність на міастенію становить 1,7–10,4 випадку на 100 тис. населення на рік, а в США досягає 20 випадків на 100 тис. населення на рік (Andersen J.B. et al., 2014; Blum S. et al., 2015; Breiner A. et al., 2015; Breiner A. et al., 2016). Поширеність захворювання протягом останнього десятиліття зростає, переважно у людей літнього віку, незважаючи на значний прогрес у діагностиці, лікувальних підходах та покращенні прогнозу захворювання в цілому (Carr A.S. et al., 2010). Офіційних даних щодо захворюваності та поширеності міастенії в Україні на сьогодні немає.

У близько 80–85% пацієнтів з генералізованою (ГФМ) і 50% — з очною формою міастенії (ОФМ) виявляють AChR-AB (Engel A.G. (Ed.), 2012; Куликова С.Л., 2014; Кальбус О.І., 2018). Серед пацієнтів без AChR-AB можна визначити тих, які мають MuSK-AB (Engel A.G. (Ed.), 2012; Санадзе А.Г., 2017). В Україні частота виявлення AChR-AB та MuSK-AB серед хворих на міастенію вивчена недостатньо.

Окрім зазначених антитіл, є дані щодо ролі антитіл до титину (Titin), а також до специфічного антигену SOX1 при розвитку міастенії. Так, антитіла до титину є маркерами патологічних змін тимусу (не лише тимоми чи гіперплазії, але й передчасної гіпоплазії) і можуть виявлятися до того, як ці зміни можна оцінити за допомогою візуалізаційних методик (комп'ютерної томографії (КТ) або магнітно-резонансної томографії (МРТ) переднього середостіння) (Санадзе А.Г., 2017). Антитіла до SOX1 є маркерами паранеопластичного синдрому (в тому числі синдрому Ламберта — Ітона) та можуть виявлятися навіть за декілька років до розвитку перших мінімальних клінічних проявів злоякісних пухлин (зокрема карцином) (Engel A.G. (Ed.), 2012). Роль зазначених антитіл (до титину та SOX1) у розвитку міастенії потребує подальшого вивчення.

Визначення імунологічного підтипу міастенії та зіставлення з клінічними проявами можуть бути маркерами прогнозування перебігу міастенії та використовуватися для оптимізації лікувальної тактики.

Мета — вивчити специфічні імунологічні маркери у хворих на міастенію.

Об'єкт і методи дослідження

Обстежено 182 хворих на міастенію (147 (80,8%) з ГФМ, 35 (19,2%) — з ОФМ), які перебували на стаціонарному лікуванні у відділенні неврології № 1 Комунального закладу «Дніпропетровська обласна лікарня імені І.І. Мечникова» або зверталися амбулаторно у період 2014–2017 рр.

Клініко-неврологічне обстеження включало збір скаргу, анамнезу захворювання та життя, неврологічне обстеження. Для оцінки клінічної форми міастенії використовували класифікацію MGFA (Myasthenia Gravis Foundation of America) з визначенням класу та підкласу захворювання.

Визначення рівня AChR-AB та MuSK-AB проводили методом імуноферментного аналізу (ELISA), визначення антитіл до титину та SOX1 — методом непрямой імунофлюоресценції. Зазначені обстеження проводили на базі клініко-діагностичної лабораторії Комунального закладу «Дніпропетровська обласна клінічна лікарня імені І.І. Мечникова».

Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою персонального комп'ютера з використанням програмних продуктів «Microsoft Excel», «Statistica 6.1». При математичній обробці даних використовували методи параметричної та непараметричної статистики.

Результати та їх обговорення

За статтю серед досліджених переважали жінки — 128 (70,3%), співвідношення кількості жінок до чоловіків — 2,37:1. У хворих на ГФМ визначено статистично значущо більшу частку чоловіків порівняно з пацієнтами з ОФМ ($p=0,027$). Однак статистично значущих розбіжностей у загальній структурі обстежених за статтю між класами та підкласами захворювання не виявлено ($p>0,05$) (таблиця).

Вік усіх хворих на момент обстеження становив 18–83 роки. Розподіл віку у групах за формами захворювання, класами і підкласами міастенії та в цілому не описувався нормальним (Гаусовим) законом ($p<0,05$ за критерієм Шапіро — Уїлка). Медіанний вік обстежених хворих становив 52,0 року з інтерквартильним інтервалом (34,0–65,0).

Результати визначення AChR-AB, MuSK-AB, антитіл до титину, антитіл до SOX1 — див. таблицю.

AChR-AB виявлено у більшості (68,1%) обстежених, при цьому вони виявлялися достовірно частіше у пацієнтів із ГФМ (73,5%), рідше (45,7%) — з ОФМ ($p=0,002$). Отримані дані зіставні з даними деяких закордонних досліджень.

Як видно (див. таблицю), за частотою пацієнтів із виявленими AChR-AB розрізнялися як класи захворювання ($p=0,006$), так і під-

класи ГФМ ($p=0,015$). Найвищий показник виявлено у IV класі (83,9%) в цілому та у IV-A підкласі (92,9%).

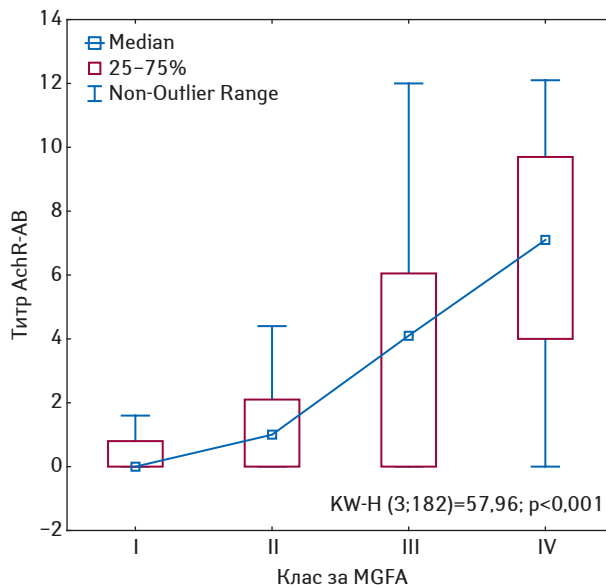
Крім того, при збільшенні класу ГФМ за MGFA відзначено статистично достовірне зростання частки пацієнтів із виявленими AchR-AB. Так, ці антитіла виявляли у 67,3% хворих із класом II міастенії, у 73,4% — з класом III та, як вже зазначено, у 83,9% — з класом IV ($p=0,006$). Таким чином, беручи до уваги той факт, що клас міастенії визначається глибиною клінічних проявів захворювання, а збільшення частки хворих з виявленими AchR-AB відбувається з підвищенням класу міастенії, можна дійти опосередкованого висновку про вплив AchR-AB не лише на сам розвиток міастенії, але й на ступінь її тяжкості.

У 10,9% пацієнтів з ГФМ виявлено MuSK-AB. При ОФМ ці антитіла не виявлено, однак загалом статистично значущих розбіжностей за виявленням MuSK-AB між клінічними формами захворювання не відзначено ($p=0,087$). Статистично значущі розбіжності за частотою MuSK-AB виявлено лише серед хворих із різними підкласами ГФМ ($p<0,001$) за рахунок більшої частки їх виявлення в підкласах V: вони виявлялися у 26,7% хворих з підкласом II-B, у 24,1% — III-B, у 17,7% — IV-B, при цьому показники за класами загалом між собою достовірно не відрізнялися ($p>0,05$). MuSK-AB не виявлено серед хворих з підкласами міастенії III-A та IV-A, що також свідчить про роль цих антитіл у розвитку бульбарної та орофасціальної симптоматики.

Таким чином, спираючись на отримані дані, а саме — домінування виявлення MuSK-AB у хворих на ГФМ з підкласом V, який клінічно визначається за домінуванням слабкості та патологічної стомлюваності здебільшого бульбарних та/чи орофасціальних м'язів, можна розглядати виявлення MuSK-AB як маркера розвитку ГФМ підкласу V.

Медіана титру AchR-AB серед хворих, в яких виявлено ці антитіла, становить 4,05 нмоль/л (1,55–6,55) зі статистично значущими розбіжностями між формами, класами та підкласами міастенії ($p<0,001$). Подібна тенденція характерна і для середніх показників у розрізі усіх обстежених (рисунки). Так, медіана титру антитіл у хворих на ОФМ (клас I за MGFA) становила 0,8 нмоль/л (0,6–1,2), у хворих з класом II міастенії — 1,8 нмоль/л (0,9–2,5), III — 5,4 нмоль/л (3,9–6,6), IV — 7,6 нмоль/л (6,1–9,8). Враховуючи статистично значуще зростання титру AchR-AB зі зростанням класу захворювання ($p<0,001$), а також зростання частки хворих з виявленими антитілами зі зростанням класу міастенії, доходимо висновку про те, що AchR-AB не лише відіграють роль у формуванні самої міастенії, але й можуть визначати ступінь її клінічних проявів.

Середній рівень титру MuSK-AB серед хворих, у яких виявлено дані антитіла, становить 6,0 (1,45–6,95). Титри зазначених антитіл достовірно збільшуються зі зростанням класу ГФМ ($p<0,001$), особливо серед хворих на міастенію підкласу V класів III та IV. Враховуючи отримані дані, можна говорити про вплив титру MuSK-AB на глибину клінічних проявів у пацієнтів із ГФМ підкласу V.



Рисунк. Середній рівень титру AchR-AB серед усіх обстежених залежно від класу захворювання (медіана, інтерквартильний розмах, діапазон усіх значень без викидів, KW-H – критерій Краскела – Уолліса)

Антитіла до SOX1 не виявлено у хворих на ОФМ, проте діагностовано у 5,5% обстежених з ГФМ без статистично значущих розбіжностей між формами, класами і підкласами захворювання ($p>0,05$). Таким чином, антитіла до SOX1 не впливають на ступінь клінічних проявів у хворих на міастенію.

При проведенні рангової кореляції за Спірменом встановлено, що антитіла SOX1 корелюють із летальністю ($p=0,16$; $p<0,05$) та з наявністю у хворих супутніх ендокринних захворювань ($p=0,21$; $p<0,01$), а також із коморбідними аутоімунними захворюваннями, зокрема з аутоімунним тиреоїдитом ($p=0,19$; $p<0,05$).

Таблиця. Імунологічні характеристики хворих на міастенію

Показник	ГФМ												p*
	Загальна вибірка (n=182)	ОФМ Клас I (n=35)	Загалом n=147	II-A (n=37)	II-B (n=15)	Клас II (n=52)	III-A (n=35)	III-B (n=29)	Клас III (n=64)	IV-A (n=14)	IV-B (n=17)	Клас IV (n=31)	
Виявлені антитіла, n (%)													
AchR-AB	124 (68,1)	16 (45,7)	108 (73,5)	27 (73,0)	8 (53,3)	35 (67,3)	27 (77,1)	20 (69,0)	47 (73,4)	13 (92,9)	13 (76,5)	26 (83,9)	$p_1=0,002$ $p_2=0,006$ $p_3=0,015$
MuSK-AB	16 (8,8)	0 (0)	16 (10,9)	2 (5,4)	4 (26,7)	6 (11,5)	0 (0)	7 (24,1)	7 (10,9)	0 (0)	3 (17,7)	3 (9,7)	$p_1=0,087$ $p_2=0,235$ $p_3<0,001$
AchR-AB або MuSK-AB	140 (76,9)	16 (45,7)	124 (84,4)	29 (20,7)	12 (8,6)	41 (29,3)	27 (19,3)	27 (19,3)	54 (38,6)	13 (9,3)	16 (11,4)	29 (20,7)	$p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3<0,001$
Titin	53 (29,1)	0 (0)	53 (36,1)	17 (46,0)	5 (33,3)	22 (42,3)	10 (28,6)	10 (34,5)	20 (31,3)	7 (50,0)	4 (23,5)	11 (35,5)	$p_1<0,001$ $p_2=0,002$ $p_3=0,001$
SOX1	10 (5,5)	0 (0)	10 (6,8)	2 (5,4)	0 (0)	2 (3,9)	1 (2,9)	5 (17,2)	6 (9,4)	1 (7,1)	1 (5,9)	2 (6,5)	$p_1=0,240$ $p_2=0,239$ $p_3=0,084$
Відсутні	35 (19,2)	19 (54,3)	16 (10,9)	5 (14,3)	2 (5,7)	7 (20,0)	7 (20,0)	2 (5,7)	9 (25,7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	$p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3<0,001$
Середній рівень титру антитіл серед хворих, у яких виявлено відповідні антитіла, Ме (25–75%)													
AchR-AB	4,05 (1,55–6,55)	0,8 (0,6–1,2)	4,8 (2,4–7,05)	1,8 (0,9–2,4)	2,2 (1,05–3,3)	1,8 (0,9–2,5)	4,8 (3,5–8,1)	5,55 (4,45–6,5)	5,4 (3,9–6,6)	7,1 (5,4–9,1)	9,7 (6,9–10,2)	7,6 (6,1–9,8)	$p_1<0,001$ $p_2<0,001$ $p_3<0,001$
MuSK-AB	6,0 (1,45–6,95)	–	6,0 (1,45–6,95)	1,45 (1,3–1,6)	1,05 (0,85–1,65)	1,25 (0,9–1,6)	–	6,2 (5,9–6,7)	6,2 (5,9–6,7)	–	10,8 (9,9–11,2)	10,8 (9,9–11,2)	$p_1=$ $p_2=$ $p_3<0,001$

*Розбіжності між групами за непараметричним дисперсійним аналізом Краскела – Уолліса для середніх показників, для відносних показників за критерієм χ^2 , в тому числі з поправкою Йейтса при значеннях показника, наближених до 0: p_1 – між формами міастенії, p_2 – між класами міастенії, p_3 – між класом I міастенії та підкласами II–IV класів.

Антитіла до титину виявлено майже у $\frac{1}{3}$ всіх обстежених — у 53 (29,1%) осіб зі статистично значущими розбіжностями між формами, класами і підкласами міастенії ($p < 0,01$). Зазначені антитіла не виявлено у хворих на ОФМ. При порівнянні кількості хворих з виявленими антитілами до титину між підкласами А та В всередині класів II, III, IV достовірну різницю виявлено лише у класі II ($p < 0,05$), проте в інших класах вона не була достовірною. Таким чином, роль антитіл до титину в розвитку міастенії (прямо чи опосередковано) не викликає сумнівів, проте їх вплив на ступінь клінічних проявів потребує подальшого вивчення.

При проведенні рангової кореляції за Спірменом встановлено сильні кореляційні зв'язки антитіл до титину з тимомою ($p = 0,70$; $p < 0,001$) і тимектомією з приводу тимоми в анамнезі ($p = 0,65$; $p < 0,001$). При цьому антитіла до титину виявляли у хворих із тимомою незалежно від того, чи проведена тимектомія, чи ні, а також від часу від її проведення до тестування. Так, антитіла до титину виявляли навіть у хворих, які перенесли тимектомію ≥ 20 років до тестування. У трьох хворих, що не мали патології тимусу за даними КТ або МРТ переднього середостіння на дату обстеження на антитіла до титину, при проспективному спостереженні через 12–15 міс розвинулася тимома. Таким чином, антитіла до титину є чутливим маркером, що може виявляти зміни тимусу на доклінічних стадіях.

У 23 (15,6%) хворих на ГФМ та у 19 (42,2%) на ОФМ AchR-AB або MuSK-AB не виявлено ($p < 0,001$). Цих пацієнтів можна віднести до серонегативного типу міастенії. Щодо загальної вибірки зазначених антитіл не виявлено у 23 (15,6%) хворих. Отримані дані зіставні з даними інших досліджень (Engel A.G. (Ed.), 2012; Санадзе А.Г., 2017).

Висновки

1. AchR-AB є основним імунологічним маркером розвитку міастенії, що виявляється у 68,1% хворих (в тому числі у 73,5% з ГФМ та у 45,7% — з ОФМ).

2. Другим маркером за частотою виявлення є MuSK-AB, що виявляється у 16% загальної кількості хворих. Зазначені антитіла не виявлено у хворих на ОФМ.

3. Водночас AchR-AB та MuSK-AB не виявлено, тому доцільно проводити послідовне імунологічне обстеження хворих на міастенію (спочатку визначення AchR-AB, а при їх відсутності — MuSK-AB).

4. Підвищення титру AchR-AB призводило до наростання ступеня всіх клінічних проявів, а отже, й класу ГФМ за MGFA. Підвищення титру MuSK-AB призводило до поглиблення клінічних проявів у хворих з підкласом В ГФМ (тобто наростала бульбарна та/чи орофациальна симптоматика).

5. Антитіла до титину є маркерами патологічних змін тимусу, що можуть виявлятися задовго до перших мінімальних проявів з його боку. Хворим на міастенію, в яких при проведенні КТ/МРТ переднього середостіння не виявлено змін тимусу, доцільно додатково проводити обстеження на антитіла до титину.

6. Антитіла до SOX1 виявлено у хворих з коморбідною патологією ендокринної системи, зокрема при аутоімунному тиреоїдиті.

Список використаної літератури

Кальбус О.І. (2018) Клініко-імунологічні співставлення у хворих на міастенію. Укр. журн. мед. біол. спорт., 1: 135–138.

Куликова С.Л. (2014) Антитіла к ацетилхолиновим рецепторам в диагностике различных форм миастении. Неврология и нейрохирургия. Восточная Европа, 1: 73–82.

Санадзе А.Г. (2017) Миастения и миастенические синдромы: Руководство. ГЭОТАР-Медиа, Москва, 256 с.

Школьник В.М., Кальбус А.И., Бараненко А.Н., Погорелов А.В. (2014) Миастения: современные подходы к диагностике и лечению. Укр. неврол. журн., 2: 12–17.

Andersen J.B., Heldal A.T., Engeland A., Gilhus N.E. (2014) Myasthenia gravis epidemiology in a national cohort; combining multiple disease registries. Acta neurologica Scandinavica. Supplementum, 198: 26–31.

Blum S., Lee D., Gillis D. et al. (2015) Clinical features and impact of myasthenia gravis disease in Australian patients. J. Clin. Neurosci., 22(7): 1164–1169.

Breiner A., Young J., Green D. et al. (2015) Canadian administrative health data can identify patients with myasthenia gravis. Neuroepidemiology, 44: 108–113.

Breiner A., Widdifield J., Katzberg H.D. et al. (2016) Epidemiology of myasthenia gravis in Ontario, Canada. Neuromuscular Disorders, 26(1): 41–46.

Carr A.S., Cardwell C.R., McCarron P.O., McConville J. (2010) A systematic review of population based epidemiological studies in Myasthenia Gravis. BMC Neurol., 10: 46.

Engel A.G. (Ed.) (2012) Myasthenia gravis and myasthenic disorders (2 ed.). Oxford University Press, Oxford, 304 p.

Skeie G.O., Apostolskib S., Evolic A. et al. (2010) Guidelines for treatment of autoimmune neuromuscular transmission disorders. Eur. J. Neur., 17: 1–10.

Иммунологические маркеры развития миастении

А.И. Кальбус

Резюме. Цель — изучить специфические иммунологические маркеры у больных миастенией. Объект и методы исследования. Обследовано 182 больных миастенией (147 (80,8%) с генерализованной, 35 (19,2%) — с глазной формой заболевания). Проводили клинико-неврологическое обследование, класс миастении определяли по классификации MGFA. Определяли уровни антител к рецепторам ацетилхолина (AchR-AB) и мышечно-специфической тирозинкиназы (MuSK-AB) методом иммуноферментного анализа, выявляли антитела к титину и SOX1 методом непрямой иммунофлюоресценции. Результаты. AchR-AB выявлены у большинства (68,1%) обследованных, достоверно чаще — у больных с генерализованной (73,5%), реже (45,7%) — с глазной формой ($p = 0,002$). У 10,9% пациентов с генерализованной миастенией выявлены MuSK-AB, при глазной форме эти антитела не определены. Антитела к SOX1 диагностированы у 5,5% обследованных исключительно с генерализованной формой, установлена их корреляция с летальностью ($p = 0,16$; $p < 0,05$). Антитела к титину выявлены почти у $\frac{1}{3}$ обследованных — у 53 (29,1%) человек, установлена их сильная корреляционная связь с тимомой ($p = 0,70$; $p < 0,001$) и тимэктомией по поводу тимоми в анамнезе ($p = 0,65$; $p < 0,001$). Выводы. Больным миастенией целесообразно проводить иммунологическое обследование с определением AchR-AB, а при их отсутствии — MuSK-AB. Больным миастенией без изменений тимуса и без тимоми в анамнезе целесообразно проводить обследование на антитела к титину с целью выявления патологических изменений тимуса на доклиническом этапе.

Ключевые слова: миастения, антитела, рецепторы ацетилхолина, мышечно-специфическая тирозинкиназа, титин, SOX1.

Immunological markers of myasthenia gravis

O.I. Kalbus

Summary. Aim — to study the specific immunological markers in patients with myasthenia gravis. Materials and methods. 182 patients with myasthenia gravis were examined (147 (80.8%) with generalized and 35 (19.2%) — with ocular form). Clinical and neurological examination were performed, the class of myasthenia was determined according to the MGFA. The levels of antibodies to acetylcholine receptors (AchR-AB) and muscle-specific tyrosine kinase (MuSK-AB) were determined by immunoassay, the detection of antibodies to titin and SOX1 was performed by indirect immunofluorescence. Results. AchR-AB were found in the majority (68.1%) of the patients, significantly more common in those with generalized form (73.5%), and less frequently (45.7%) with ocular form ($p = 0.002$). In 10.9% of patients with generalized myasthenia, MuSK-AB were detected, and these antibodies were not detected in patients with ocular form. Antibodies to SOX1 were diagnosed in 5.5% of the examined only with the generalized form and correlated with mortality ($p = 0.16$; $p < 0.05$). Antibodies to titin were detected in almost a third of all patients (53.1%) and strongly correlated with thymoma ($p = 0.70$; $p < 0.001$) and with thymectomy (in patients with history of thymoma) ($p = 0.65$; $p < 0.001$). Conclusions. It is supposed to perform immunological examination to patients with myasthenia gravis with the detection of AchR-AB, and if not found — MuSK-AB. It is expedient to carry out research on antibodies to titin in order to detect pathological changes of thymus at preclinical stages to patients with myasthenia gravis without changes in thymus and without thymoma.

Key words: myasthenia gravis, antibodies, acetylcholine receptors, muscle-specific tyrosine kinase, titin, SOX1.

Адреса для листування:

Кальбус Олександр Іванович
49044, Дніпро, вул. Вернадського, 9
ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»,
кафедра неврології і офтальмології
E-mail: kalbus.dp@gmail.com

Одержано 20.03.2019