

Маркерные аутоантитела как индикаторы когнитивных дисфункций у детей и взрослых

А. Б. Полетаев, д-р мед. наук, профессор, Научно-практический центр детской психоневрологии, научный руководитель МИЦ «Иммункулус», действительный иностранный член Американского общества нейронаук

Ф. Алиева, Macrobiosis Antiage & Esthetic Center, Baku, Azerbaijan

ВВЕДЕНИЕ

Понятие когнитивного дефицита (когнитивных нарушений) в настоящее время является в известной мере субъективным даже для врачей общей практики, не говоря уж о пациентах. Это затрудняет своевременное выявление соответствующих нарушений. В то же время было бы очень важным уметь выявлять развитие болезни Альцгеймера и других форм деменций на доклинической (до-симптомной) стадии с помощью каких-либо объективных (лабораторных) методов исследования. Всё это могло бы в значительной степени облегчить поиск способов и подходов к превенции необратимой и неизлечимой сегодня болезни. Исходя из положения о том, что важным свойством иммунной системы человека является рефлексия (отражение) любых молекулярно-клеточных изменений, происходящих в организме [1], представляется целесообразным попытаться использовать это свойство иммунной системы для возможного выявления изменений, предшествующих и сопровождающих развитие когнитивных нарушений и их крайней степени — деменции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованные дети

С помощью метода ЭЛИ-Н-Тест были обследованы 278 детей с неврологическими нарушениями в возрасте от 3,5 до 5,5 лет. Ранее у детей, включенных в исследование, были поставлены диагнозы: расстройства аутистического спектра ($n = 138$), задержки психомоторного и речевого развития ($n = 93$), детский церебральный паралич (разные формы, $n = 37$), СДВГ ($n = 10$). Из всех обследованных детей у 142 отмечались клинически выраженные когнитивные дефициты и в 136 случаях когнитивных нарушений не имелось.

Обследованные взрослые

Были обследованы 29 взрослых лиц (8 мужчин и 21 женщина) в возрасте от 59 до 82 лет. Из них 21 пациент не имел какого-либо неврологического диагноза, но предъявлял жалобы на снижение умственной работоспособности, трудности с выражением собственных мыслей, ухудшение концентрации внимания, выраженные нарушения памяти, прогрессировавшие в последние 1–3 года (все пациенты отмечали, что особенно легко забывались недавние события при сохранении памяти на отдаленные события); 8 обследованных этой группы не имели неврологических нарушений, в том числе когнитивных. Было проведено исследование проб сывороток небольшой группы пациентов с болезнью Альцгеймера ($n = 8$).

Из исследования исключались дети и взрослые, имевшие любые выраженные острые или хронические воспалительные процессы любой этиологии, сопровождавшиеся нарушениями общей формулы крови (лейкоцитоз, нейтрофилез, повышение СОЭ) и/или повышением белков острой фазы. Все обследованные не имели острых инфекционных заболеваний по крайней мере в течение трех недель до взятия крови на исследование. Из полученной крови отделяли сыворотку, которую исследовали не более чем через трое суток после взятия крови.

Иммунохимический анализ проводили с помощью метода ЭЛИ-Н-Теста, используя одноименные тест-наборы (производства компании «Иммункулус», Москва, Россия). Постановки иммуноферментных реакций выполняли, как описано ранее [2, 3], при этом в образцах сывороток крови выявляли и анализировали индивидуальные профили сывороточной иммунореактивности, зависящие от аномалий относительного содержания аутоантител класса IgG,

Таблица 1. Пояснение к результатам ЭЛИ-Н-Тест. Неврологические нарушения, отражаемые маркерными аутоантителами

Аномальные пики сывороточной иммунореактивности к компонентам ЭЛИ-Н-Теста (левый столбец) могут указывать на следующие изменения	
NF-200	Типично для дегенеративных изменений нервных волокон (аксонопатия) травматического, токсического или иного генеза
GFAP	Типично для реактивного астроцитарного глиоза после ЧМТ, ишемии мозга, при наркоманиях и алкоголизме. Ведет к изменениям на ЭЭГ
S100b	Типично для изменений в серотонинергических структурах (эмоциональный статус). Маркер инфекции ВПЧ (молекулярная мимикрия)
MBP	Типично для транзиторных антимиелиновых процессов после травматических или ишемических повреждений нервных пучков (при радикулитах), а также при демиелинизирующих заболеваниях
Вольт-зависимый Са-канал	Признак бокового амиотрофического склероза, мозжечковой атаксии, синдрома Ламберта-Итона и других нарушений нервно-мышечных контактов
н-АХрецепторы (мозгоспецифичная изоформа)	Возможный признак миастенических синдромов. Возможный признак патологии нейронов, участвующих в когнитивных функциях (механизмы обучения, памяти, снижение умственной работоспособности и др.)
Глутаматные (NMDA) рецепторы	Признак нарушений регуляции баланса возбуждения-торможения в ЦНС; часто возникает на фоне ишемии головного мозга; может сопровождаться судорожной симптоматикой и (реже) когнитивными нарушениями
ГАМК-рецепторы	
Дофаминовые рецепторы	Признак нарушений волевой и мотивационной сферы (реже — моторики). Типично для шизофрении, аутизма, болезни Паркинсона
Серотониновые рецепторы	Признак нарушений эмоционально-мотивационной сферы, например при биполярном расстройстве
Опиатные μ -рецепторы	Встречаются при биполярном расстройстве, анорексии, булимии и других нарушениях пищевого поведения; при употреблении любых наркотиков
β -эндорфин	Очень часто наблюдается при аутизме

направленных к синтетическим пептидным фрагментам — эпитопам следующих 12 белков нервной ткани человека:

- 1) специфический белок аксонов NF200;
- 2) специфический белок астроцитов GFAP;
- 3) кальций-связывающий белок S100b;
- 4) основной белок миелина MBP;
- 5) белок нейромышечных синапсов — V-Ca-channel;
- 6) мозгоспецифическая изоформа нейрональных н-холинорецепторов Ach-Rc;
- 7) белок NMDA-рецепторов (глутаматных рецепторов) Glu-R;
- 8) белок ГАМК-рецепторов GABA-R;
- 9) белок дофаминовых рецепторов DOPA-R;
- 10) белок серотониновых рецепторов 5HT-R;
- 11) белок мю-опиатных рецепторов μ -Opioid-R;
- 12) эндогенный пептидный лиганд опиатных рецепторов β -Endorphin.

Постановки реакций пробы сыворотки каждого обследуемого с каждым из антигенов проводили на одном и том же 96-луночном планшете. На этом же планшете производились постановки реакции контрольной сыворотки (КС) с каждым из антигенов. Все

постановки дублировали. Использовали стандартные процедуры твердофазного ИФА. Уровень оптической плотности реакции контрольной сыворотки (КС) с каждым из антигенов принимались за 100%, а интенсивность реакции сывороток пациентов с теми же антигенами рассчитывали по отношению к реакции КС [3]. Затем рассчитывали среднюю индивидуальную иммунореактивность (СИР) исследуемых образцов с каждым из антигенов в сравнении с реакцией КС по формулам

$$СИР = \left(\frac{R(ag1) \times 100}{R(k1)} - 100 + \frac{R(ag2) \times 100}{R(k2)} - 100 + \dots + \frac{R(ag12) \times 100}{R(k12)} - 100 \right) : 12$$

где СИР — средняя индивидуальная иммунореактивность сыворотки индивидуального пациента по отношению ко всем используемым антигенам, вы-

раженная в процентах от средней иммунореактивности контрольной сыворотки с теми же антигенами;

R (ag1, 2...12) — реактивность (в единицах оптической плотности) сыворотки исследуемого пациента с антигенами 1, 2...12;

R (k1, k2...12) — реактивность (в единицах оптической плотности) контрольной сыворотки с антигенами 1, 2...12.

Для построения профилей иммунореактивности рассчитывали отклонение (в процентах от индивидуальной СИР) сыворотки исследуемого пациента с каждым из антигенов, используя специализированную РС-программу, по формулам:

$$R(nrm)_{ag1} = \left(\frac{OD(ag1) \times 100}{OD(k1)} \right) - 100 - СИР$$

$$R(nrm)_{ag2} = \left(\frac{OD(ag2) \times 100}{OD(k2)} \right) - 100 - СИР$$

$$R(nrm)_{ag12} = \left(\frac{OD(ag12) \times 100}{OD(k12)} \right) - 100 - СИР$$

где R (nrm) ag1, ag2... ag12 — отклонение (в процентах от индивидуального среднего нормализованного уровня реакции) сыворотки исследуемого пациента с каждым из используемых антигенов — 1, 2... 12;

OD (ag1, ag2... ag12) — оптическая плотность реакции сыворотки индивидуального пациента с каждым из используемых антигенов 1, 2...12;

OD (k1, k2... K12) — оптическая плотность реакции контрольной сыворотки с каждым из используемых антигенов 1, 2...12.

Оценка амплитуды пиков сывороточной иммунореактивности

Избирательный подъем сывороточной иммунореактивности с теми или иными антигенами от +10% и выше или от -15% и ниже (от индивидуального среднего уровня реакции) рассматривали как аномальные пики.

Статистический анализ полученных результатов проводился с использованием методов непараметрической статистики (критерий U Уилкоксона-Манна-Уитни).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ результатов исследования ЭЛИ-Н-Тест позволил отметить характерные сдвиги профилей сывороточной реактивности, связанных с изменениями в содержании аутоантител к мозгоспецифиче-

ским нейрональным н-холинорецепторам, типичных для большинства лиц с когнитивными дефицитами. Соответствующие пики иммунореактивности *избирательно* выявлялись приблизительно у 89% детей и 81% взрослых с когнитивными нарушениями (табл. 2 и 3; отличия со значимостью $p < 001$ и $p < 005$ отмечены значками ** и * соответственно). При этом как у детей, так и у взрослых, не имевших когнитивных расстройств, пики аутоантител к н-холинорецепторам выявлялись редко (в 8 и 12% случаев соответственно; табл. 2 и 3) и какой-либо избирательностью не отличались.

Выборка лиц с диагностированной болезнью Альцгеймера была явно недостаточна для серьезных заключений. Однако сугубо предварительно можно обратить внимание на то, что аномальные пики аутоантител к н-холинорецепторам мы выявили только в пробах сывороток крови лиц с недавно (до года) поставленным диагнозом, но не при заболевании с давностью более 5 лет (табл. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

В последние 15–20 лет пришло осознание того, что иммунная система является системой рефлексирующей, прецизионно отражающей любые изменения, происходящие на разных уровнях — от молекулярного до общеорганизменного. Кроме того, были получены многочисленные подтверждения того, что иммунная система является активным участником поддержания общеорганизменного гомеостаза на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях [11]. Таким образом, сегодня общебиологическая роль иммунной системы рассматривается не столько с «классических» микробиологических позиций, сколько исходя из следующих положений [7, 9, 10, 13]:

1. Иммунная система обеспечивает постоянный скрининг молекулярной структуры организма и сравнивает его текущее состояние с оптимальным.

2. Иммунная система участвует в молекулярно-клеточном гомеостазе, в первую очередь за счет участия в процессах аутоклиренса и ауторепарации.

3. Иммунная система участвует в *системной функционально со-настройке* множества разных клеток, тканей и органов для слаженного функционирования единого организма.

4. Множество «чужих» сущностей постоянно или длительно присутствуют в здоровом организме (нормальная микрофлора, плод), не только не вызывая патологического иммунного ответа [7], но и принося очевидную пользу организму-хозяину [4].

5. Иммунная система направленно уничтожает только вредные микроорганизмы [7], но игнорирует не представляющее угрозы «чужое», и актив-

Таблица 2. ЭЛИ-Н-Тест. Типичные аномалии иммунореактивности у детей с неврологическими нарушениями, % (n)

Аномальные пики сывороточной иммунореактивности с антигенами	Когнитивные расстройства (n = 142)	Без когнитивных расстройств (n = 136)
NF-200	8 (13)	13 (17)
GFAP	14 (24)	16 (18)
S100	27 (38)	23 (31)
ОБМ	7 (9)	18 (14)
Вольт-зависимый Ca-канал	12 (11)	16 (8)
н-холинорецепторы	88,7 (126) **	8 (11)
Глутаматные (NMDA) рецепторы	6 (12)	4 (19)
ГАМК-рецепторы	24 (21)	9 (17)
Дофаминовые рецепторы	9 (18)	10 (15)
Опиатные μ -рецепторы или β -эндорфин	37 (42)	42 (44)
Серотониновые рецепторы	11 (21)	12 (19)

Таблица 3. Аномалии иммунореактивности у взрослых лиц со слабо/умеренно выраженными когнитивными расстройствами (без диагноза) и лиц без когнитивных расстройств, % (n)

Аномальные пики сывороточной иммунореактивности с антигенами	Когнитивные расстройства (n = 21)	Без когнитивных расстройств (n = 8)
NF-200	14,3 (3)	(2)
GFAP	33,3 (7)	37,5 (3)
S100	47,6 (10)	50 (4)
ОБМ	23,8 (5)	37,5 (3)
Вольт-зависимый Ca-канал	9,5 (2)	(0)
н-холинорецепторы	80,9 (17) *	12 (1)
Глутаматные (NMDA) рецепторы	14,3 (3)	37,5 (3)
ГАМК-рецепторы	19 (4)	37,5 (3)
Дофаминовые рецепторы	23,8 (5)	37,5 (3)
Опиатные μ -рецепторы или β -эндорфин	33,3 (7)	40 (4)
Серотониновые рецепторы	28,6 (6)	(0)

Таблица 4. Аномалии иммунореактивности с н-холинорецепторами при болезни Альцгеймера

Диагностирована менее года назад (n = 4)	Диагностирована более 5 лет назад (n = 3)
3 из 4	0 из 3

но способствует интеграции полезного «чужого» в структуру организма [9]. Примером этого являются митохондрии, бывшие когда-то автономными микроорганизмами.

6. Некоторый (умеренный) уровень аутореактивности Т- и В-лимфоцитов является обязательным условием их отбора и выживания в ходе онтогенетического созревания [12]. Аутореактивные лимфоциты

обеспечивают физиологическую продукцию аутоантител на протяжении жизни каждого индивида [2].

7. Естественные аутоантитела и аутореактивные лимфоциты являются главными инструментами иммунной рефлексии и иммунного клиренса организма.

Естественные нейротропные антитела, наряду с цитокинами, участвуют в функциональном сопряжении нервной и иммунной систем, а изменение

их продукции могут сопровождать, т. е. быть «свидетелями» нарушений, не связанными непосредственно с причинами патологии [3] или же реже — быть непосредственной причиной нарушений, т. е. индуцировать патологические изменения в нервной системе [2]. Вероятно, в этом же ряду стоит и выявленный нами феномен специфических изменений профилей сывороточной иммунореактивности, связанных с аномальными изменениями в продукции аутоантител к никотиновым холинорецепторам клеток мозга у детей и взрослых с когнитивными дефицитами.

Представления о связи холинергических нейронов ЦНС (возможно, нейронов базальных отделов переднего мозга) с обеспечением когнитивных функций имеют достаточно веские обоснования [5, 6, 8]. С этой точки зрения понятно, почему у лиц разного возраста с нарушениями когнитивных функций сывороточные уровни аутоантител к н-холинорецепторам меняются наиболее специфично. Имеющихся сегодня данных явно недостаточно для решения вопроса связи таких аутоантител с когнитивными нарушениями. Однако в качестве предварительной рабочей гипотезы мы хотели бы кратко рассмотреть следующий (предположительный) вариант развития событий.

1. Длительно действующий некий патогенный фактор малой интенсивности постепенно (годы) индуцирует повреждение понемногу возрастающей порции холинергических нейронов (передне-базального) мозга.

2. При функционально значимом снижении численности этих нейронов запускаются механизмы компенсаторного неонейрогенеза и компенсаторного повышения экспрессии функциональных холинорецепторов, что находит свое отражение в пропорциональном повышении продукции антител к этим рецепторам.

3. При постепенном (годы) истощении компенсаторных возможностей численность холинергических нейронов (передне-базального) мозга снижается ниже критического уровня, что проявляется постепенно нарастающим когнитивным дефицитом.

4. На далеко зашедших стадиях когнитивного дефицита — деменции выражено снижается уровень экспрессии холинорецепторов, что, в свою очередь, ведет к снижению продукции антител к этим рецепторам. Точно такая же ситуация изменений продукции соответствующих маркерных антител отмечается при начинающихся или же завершившихся патологических процессах, приводящих к сахарному диабету типа I или типа II [2, 3].

Схематически описанные события могут относиться к развитию деменций у лиц пожилого и старческого возраста. В случаях когнитивных дефицитов у детей дошкольного возраста речь может идти, скорее, о врожденных нарушениях развития нейронов центральной холинергической системы и/или дефектах нейрональных холинорецепторов. Оба варианта нарушений могут вести к компенсаторному повышению экспрессии холинорецепторов, что отражается в повышении продукции антител к этим рецепторам.

Выявленные в нашей работе аномалии антител к мозгоспецифической изоформе никотиновых холинорецепторов, сопровождающие когнитивные нарушения у маленьких детей и пожилых лиц, указывают на сходство механизмов этих нарушений, хотя бы частичное. Мы полагаем, что аномалии в продукции этих антител, скорее, являются вторичными, т. е., скорее, отражают формирование патологических изменений, нежели являются участниками патогенеза. Сопутствующие когнитивным нарушениям иммунохимические изменения могут служить важными прогностическими маркерами когнитивных нарушений — как уже имеющихся, так и только формирующихся. Мы надеемся, что дальнейшие исследования в этой области позволят разработать объективный и простой подход детекции соответствующих изменений на основе методов иммуноферментного анализа или сходных.

Литература

1. Полетаев А. Б. Про пьяного и потерянные ключи // Клиническая патофизиология. — 2017. — № 23. — С. 3–13.
2. Полетаев А. Б. Физиологическая иммунология (естественные аутоантитела и проблемы наномедицины). — М.: МИКЛОШ, 2010.
3. Полетаев А. Б. Антитела к инсулиновым рецепторам как биомаркеры — предвестники сахарного диабета 2-го типа // Terra Medica. — 2013. — № 71. — С. 22–26.
4. Шендеров Б. А. Микробная экология человека и ее роль в поддержании здоровья // Метаморфозы. — 2014. — № 5. — С. 72–80.
5. Everitt B. J., Robbins T. W. Central cholinergic systems and cognition // Annu. Rev. Psychol. 1997; 48: 649–684.
6. Hasselmo M. E., Sarter M. Modes and models of forebrain cholinergic neuromodulation of cognition // Neuropsychopharmacology 2011; 36: 52–73.
7. Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self // Science. 2002; 296: 301–305.
8. Newman EL, Gupta K, Climer JR, Monaghan CK and Hasselmo ME. Cholinergic modulation of cognitive processing: insights drawn from computational models // Front. Behav. Neurosci. 2012; 6: 24. doi: 10.3389/fnbeh. 2012.00024
9. Parnes O. From interception to incorporation: degeneration and promiscuous recognition as precursors of a paradigm shift in immunology // Molec. Immunol. 2004; 40: 985–91.
10. Poletaev A. (2013). The Main Principles of Adaptive Immune System Function: Self-Recognition, Self-Interaction, and Self-Maintenance. In: Poletaev A. B., ed. Physiologic Autoimmunity and Preventive Medicine. Sharjah, Oak Park, Bussum: Bentham Science Publishers, 3–20.
11. Poletaev, Osipenko. general network of natural autoantibodies as Immunological Homunculus (Immunculus) // Autoimmunity Rev. 2003; 2 (5): 264–271.
12. Pradeu T., Carosella E. D. On the definition of a criterion of immunogenicity // PNAS 2006; 103: 17858–17861.
13. Tauber A. I. Reconceiving autoimmunity: An overview // J. Theor. Biol. 2015; 21 (375): 52–60.