

Антитела к аутоантигенным мишеням при миастении и их значение в клинической практике

С.И. Дедаев

Московский миастенический центр

Контакты: Сергей Игоревич Дедаев ordinatorevnevro@mail.ru

Миастения — классическое аутоиммунное заболевание, клинические проявления которого в виде слабости и патологической мышечной утомляемости обусловлены повреждающим действием поликлональных антител к различным структурам нервно-мышечного синапса и мышцы. Исследование аутоиммунного субстрата при миастении является рутинным во многих клиниках, занимающихся проблемами нервно-мышечной патологии, а выявление повышенной концентрации сывороточных антител к ряду аутоантигенных структур остается «золотым стандартом» при постановке диагноза.

Определение сывороточных антител к различным аутоиммунным мишеням при миастении — важный инструмент в клинической практике невролога. Высокая концентрация антител к ацетилхолиновым рецепторам (АХР) у подавляющего большинства больных дает возможность использовать данный показатель как важный диагностический критерий. Специфика изменения концентрации антител к АХР на фоне патогенетического лечения позволяет объективизировать подавление аутоиммунной агрессии и оценить надежность достигнутой ремиссии. Вместе с тем отсутствие повышения уровня антител к АХР при наличии четких клинических и электромиографических признаков миастении свидетельствует об аутоиммунной атаке против ряда других мишеней, наиболее изученной из которых к настоящему времени является трансмембранный белок — MuSK. Напротив, пациенты с миастенией, ассоциированной с тимомой, практически всегда имеют повышенный уровень антител к АХР. Наличие тимомы сопровождается выработкой антител к титину и рианодиновым рецепторам, что также наблюдается у лиц с поздним началом миастении без тимомы. Повышение концентрации антител к этим структурам может трактоваться как достоверный признак опухоли вилочковой железы у пациентов с миастенией младше 60 лет.

Ключевые слова: миастения, антитела, ацетилхолиновые рецепторы, мышечная специфическая тирозинкиназа, титин, рианодиновые рецепторы

Antibodies to autoantigen targets in myasthenia and their value in clinical practice

S.I. Dedaev

Moscow Myasthenia Center

Myasthenia gravis is a classic autoimmune disease, which clinical manifestations in the form of weakness and abnormal muscle fatigue, due to the damaging effect of polyclonal antibodies to different structures of the neuromuscular synapse and muscles. The study of autoimmune substrate with myasthenia is routine in many clinics dealing with the problems of neuromuscular pathology, and the identification of high concentration of serum antibodies to a number of antigenic structures is the gold standard in diagnosis.

Determination of serum antibodies to various autoimmune targets is an important tool in clinical practice. The majority of patients shows the high concentration of antibodies to AchR that gives the opportunity to use it as an important diagnostic criterion. The specificity of changes in the concentration of AchR-antibodies due to pathogenetic treatment allows to objectify the suppression of autoimmune aggression and evaluate the reliability of remission. However, the absence of AchR-antibodies when there are clear clinical and electromyography signs of myasthenia gravis suggests an autoimmune attack against a number of other targets, the most studied of which is the MuSK. On the contrary, patients with myasthenia gravis associated with thymoma, almost always have a higher level of AchR-antibodies. The presence of thymoma is accompanied by the generation of antibodies to titin and RyR, which is also observed in persons with late-onset myasthenia without thymoma. High concentration of antibodies to these structures can be interpreted as a reliable sign of thymoma in patients younger than 60 years.

Key words: myasthenia gravis, antibodies, AchR, MusK, titin, RyR

Введение

Достижения современной иммунологии сделали возможным понимание механизмов развития целого ряда заболеваний, в основе которых лежит аутоагрессия собственной иммунной системы по отношению к тем или иным структурам организма. Свое место среди этих недугов заняла и миастения, являющаяся

классическим аутоиммунным заболеванием, патогенез которой связан с выработкой антител к молекулярным мишеням нервно-мышечного синапса и мышцы.

При диагностике миастении врач опирается на относительно типичный клинический паттерн распределения мышечной слабости с синдромом патологически выраженной мышечной утомляемости,

декремент М-ответа при ритмической стимуляции и временную обратимость клинических и электромиографических (ЭМГ) изменений после введения антихолинэстеразных препаратов (АХЭП).

Вместе с тем на современном этапе развития лабораторной диагностики рутинным исследованием во многих лабораториях, занимающихся проблемами нервно-мышечной патологии, стало определение иммунологического субстрата при миастении, а выявление повышенной концентрации сывороточных антител к ряду аутоантигенных структур является «золотым стандартом» при постановке диагноза. Многочислен-

ные исследования показали, что определение концентрации антител к различным антигенным мишеням при миастении может быть не только дополнительным диагностическим критерием этого заболевания, но и служит источником информации, позволяющей прогнозировать течение болезни и проводить своевременную и адекватную коррекцию лечения (см. таблицу).

Никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (АХР) постсинаптической мембраны мышечных волокон — наиболее изученная антигенная мишень при миастении. Основным лигандом рецепторов является нейромедиа-

Встречаемость различных антител в отдельных группах пациентов с миастенией и их клиническая значимость

Антитела	Группа пациентов				Клинические особенности
	Серопозитивная миастения с ранним началом (до 60 лет)	Серопозитивная миастения с поздним началом (после 60 лет)	Серонегативная миастения	Миастения, ассоциированная с тимомой (независимо от возраста)	
АХР	Позитивность в 100 % случаев (при глазной миастении — к γ -субъединице)	Позитивность в 100 % случаев	Негативность в 100 % случаев	Позитивность в 100 % случаев	1. Диагностика серопозитивной миастении. 2. Оценка эффективности патогенетического лечения и устойчивости ремиссии
MuSK	Негативность в 100 % случаев	Негативность в 100 % случаев	Позитивность в 30–40 % случаев	Нет данных	1. Диагностика серонегативной миастении. 2. Ритмическая стимуляция и прозериновая проба могут быть неинформативны. 3. Более низкая эффективность терапии АХЭП и тенденция к развитию холинергических явлений. 4. Неэффективность тимэктомии
Титин	Позитивность в единичных случаях (не более 10 %)	Позитивность в 50–60 % случаев	Нет данных	Позитивность в 80–90 % случаев	1. Диагностика тимомы или рецидива тимомы (в случае начала болезни до 60 лет). 2. Тенденция к более тяжелому течению болезни
RyR	Негативность в 100 % случаев	Позитивность в 10–20 % случаев	Нет данных	Позитивность в 50–70 % случаев	1. Диагностика тимомы или рецидива тимомы (в случае начала болезни до 60 лет). 2. Тенденция к более тяжелому течению болезни. 3. Высокая эффективность такролимуса

тор ацетилхолин. Активация АХР сопровождается открытием натриевого ионного канала с последующей деполяризацией клеточной мембраны, что, в свою очередь, имеет основное значение в процессе деполяризации постсинаптической мембраны. Структурно рецептор представляет собой гетеромер, состоящий из трансмембранно расположенных 5 белковых субъединиц, компактно организованных вокруг ионного канала. Существует несколько видов субъединиц, образующих АХР. В зависимости от аминокислотной последовательности выделяют α -, β -, γ -, δ - и ϵ -субъединицы. К настоящему времени известно 9 разновидностей α -субъединиц ($\alpha 1$ – 9) и 4 β -субъединицы ($\beta 1$ – 4). В АХР нервно-мышечных синапсов позвоночных входят $\alpha 1$ - и $\beta 1$ -субъединицы, в то время как $\alpha 2$ – 9 и $\beta 2$ – 4 локализуются в нейрональных АХР, которые также могут являться мишенью для атаки при различных заболеваниях. В частности, антитела в сыворотке крови к некоторым из нейрональных субъединиц, например $\alpha 7$ и $\alpha 3$, могут встречаться при миастеническом синдроме Ламберта–Итона [1]. В зависимости от стадии развития существует 2 вида мышечных АХР: эмбриональный тип, состоящий из двух $\alpha 1$ -, а также β -, γ - и δ -субъединиц ($\alpha 1\alpha 1\beta\gamma\delta$), и зрелый тип, где γ -субъединица меняется на ϵ -субъединицу ($\alpha 1\alpha 1\beta\epsilon\delta$) [2]. У взрослых людей эмбриональный вариант локализован исключительно в экстраокулярной мускулатуре [3]. Этот момент представляется ключевым для понимания патогенеза глазной формы миастении.

Согласно современным представлениям аутоиммунная агрессия к АХР играет ведущую роль в нарушении нервно-мышечной передачи и развитии симптомов миастении [4]. Повышение концентрации антител к АХР определяется в сыворотке крови у 80–85 % больных миастенией [5]. Наличие высокой концентрации антител к АХР у подавляющего большинства больных с генерализованной миастенией позволило использовать этот показатель как важный диагностический критерий и привело к выделению серопозитивной и серонегативной миастении. Следует иметь в виду, что термин «серонегативность» в данном случае подразумевает всего лишь отсутствие повышенного титра антител к АХР, наблюдаемого у 15–20 % пациентов, а вовсе не отрицание аутоиммунной природы этого недуга, что было доказано созданием экспериментальной модели на животных иммунизацией сывороткой крови от пациентов с серонегативной миастенией, а также эффективностью иммуносупрессивных методов терапии и плазмафереза [6].

В ходе изучения особенностей иммунного ответа на АХР было выявлено, что агрессия в той или иной степени направлена против всех субъединиц рецептора (рис. 1). Данный факт подтверждается выявлением в сыворотке крови пациентов с миастенией поликлональных антител ко всем субъединицам АХР. Вместе

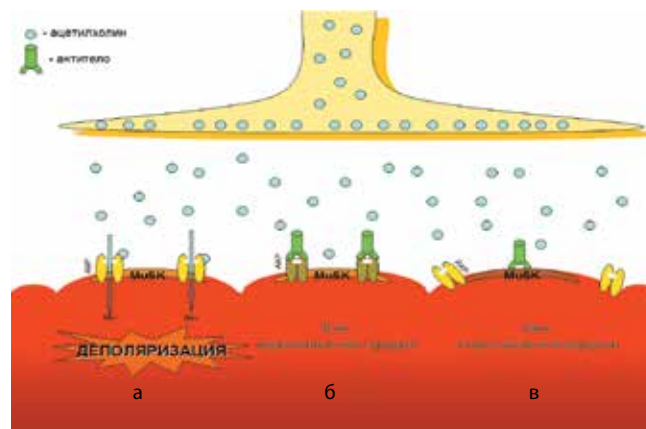


Рис. 1. Схематичное изображение нервно-мышечного синапса: а — норма; б — серопозитивная миастения с выработкой антител к АХР; в — серонегативная миастения с выработкой антител к МиСК

с тем основной пул антител связывается именно с α -субъединицей в области так называемого главного иммуногенного региона, соответствующего фрагменту 67–76 [7].

В случае наличия титмы антитела вырабатываются преимущественно к участку 371–378 α -субъединицы (очень иммуногенный цитоплазматический эпитоп, VICE- α), расположенному внутриклеточно [8].

Выявлено 3 основных эффекторных механизма действия аутоантител к АХР при миастении (рис. 2). Это прежде всего связывание с рецептором, сопровождающееся последующим активированием системы комплемента и формированием лизирующего мембрану комплекса, нарушающего структурную целостность постсинаптической мембраны [9].

Вторым механизмом является увеличение скорости деградации молекул АХР. Это связано с антигенной модуляцией, в основе которой лежит эндоцитоз перекрестно реагирующих с аутоантителами рецепторов с последующей их деградацией, что приводит к дефициту АХР на постсинаптической мембране [10].

Третий механизм, приводящий к нарушению нервно-мышечной передачи, обусловлен блокированием антителами участков связывания АХР с ацетилхолином с последующим его функциональным блоком и уменьшением числа способных функционировать рецепторов при сохранении их общего количества. Доля подобных блокирующих антител во всей совокупности антител сыворотки, направленных против $\alpha 1$ -субъединиц, невелика — до 33 % [11]. Тем не менее эти антитела даже в столь невысоких концентрациях усугубляют течение миастении и обнаруживаются у пациентов с наиболее тяжелым течением болезни [12].

Помимо непосредственного влияния на АХР, фиксация антител на постсинаптической мембране ведет к разрушению синаптических складок и структурной модификации синапса. Таким образом, происходит не только уменьшение плотности АХР, но и изменение геометрии синаптической щели [13].

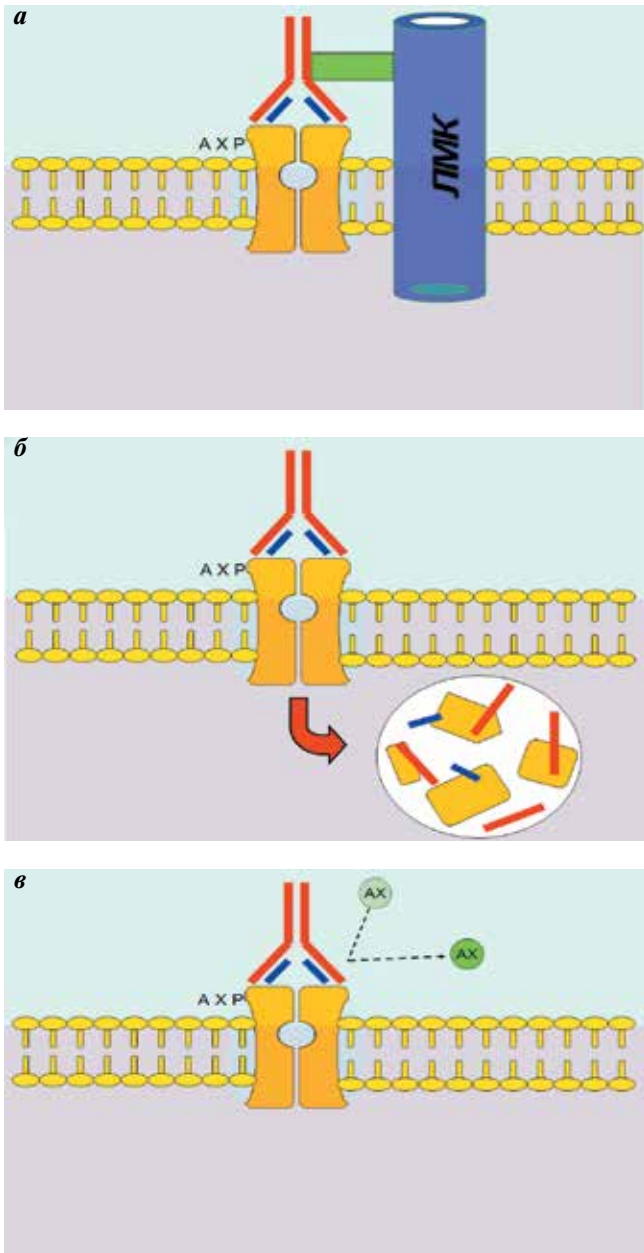


Рис. 2. Механизмы, приводящие к нарушению нервно-мышечной передачи под действием антител к АХР: а – активация комплемента с формированием лизирующего мембрану комплекса (ЛМК); б – эндоцитоз комплекса антиген – антитело с последующей его деградацией; в – функциональное блокирование АХР. АХ – ацетилхолин

Перечисленные механизмы приводят к нарушению нервно-мышечной передачи за счет уменьшения количества функционирующих АХР и расширения синаптической щели, что создает значительные трудности для достижения ацетилхолином своей цели, уменьшая вероятность взаимодействия медиатора с рецептором.

Причина преобладания α -субъединицы в качестве доминантной антигенной мишени остается до сих пор загадкой, так как в теории любая из субъединиц рецептора содержит множество потенциальных антигенных детерминант.

Исключением является локальная окулярная форма миастении, при которой антитела связываются не с α -, а с γ -субъединицей АХР экстраокулярных мышц [3]. Отечественными авторами В.Б. Ланцовой и Е.К. Сепп в 2005 г. было показано, что у пациентов с изолированными глазными проявлениями миастении наличие антител не только к γ -, но и к α -субъединице указывает на генерализованный характер заболевания и позволяет отличить локальную глазную форму миастении от генерализованной миастении в случае ее дебюта с глазодвигательных нарушений. Эта особенность позволила разработать иммунологический экспресс-метод диагностики окулярной формы миастении и прогнозировать вероятность генерализации болезни [14].

В процессе эволюции представлений об аутоиммунной природе миастении предпринимались многочисленные попытки повышения информативности такого показателя, как уровень антител к АХР. Исследовалась взаимосвязь концентрации этих антител в сыворотке с различными клинически важными показателями. Результаты первых исследований указывали на прямую зависимость тяжести заболевания от степени повышения содержания антител [11]. Подобный вывод с учетом представления об аутоиммунной агрессии против АХР как о ведущем патогенетическом механизме, казалось бы, должен был быть вполне ожидаемым и закономерным. Тем не менее многочисленные научные работы, проведенные другими исследователями, опровергли эту точку зрения. Полученные результаты указывали на отсутствие какой-либо связи между содержанием антител к АХР и выраженностью клинической симптоматики, наличием или отсутствием тимомы, а также полом, возрастом и длительностью заболевания [15, 16]. Данный факт привел к появлению новых вопросов и ограничил информативную ценность этого иммунологического показателя до дополнительного критерия при постановке диагноза миастении.

Вместе с тем было показано, что уровень антител к АХР изменяется в процессе применения разных методов патогенетического лечения миастении, в частности таких, как тимэктомия и терапия препаратами глюкокортикоидного ряда [17].

Нами была исследована зависимость изменения концентрации сывороточных антител к АХР от клинического эффекта при применении патогенетических методов лечения у 62 пациентов с генерализованной миастенией [18]. Больные в зависимости от метода лечения были разделены на 2 группы: в 1-й ($n = 39$) получали в качестве лечения глюкокортикоидные препараты в дозе 1 мг/кг массы тела, 2-ю ($n = 23$) составили пациенты, подвергшиеся тимэктомии или тимомтимэктомии в случае наличия тимомы. Клиническое состояние и концентрацию антител определяли до лечения и через 2–4 мес после начала глюкокортикоидной терапии или через 9–12 мес по-

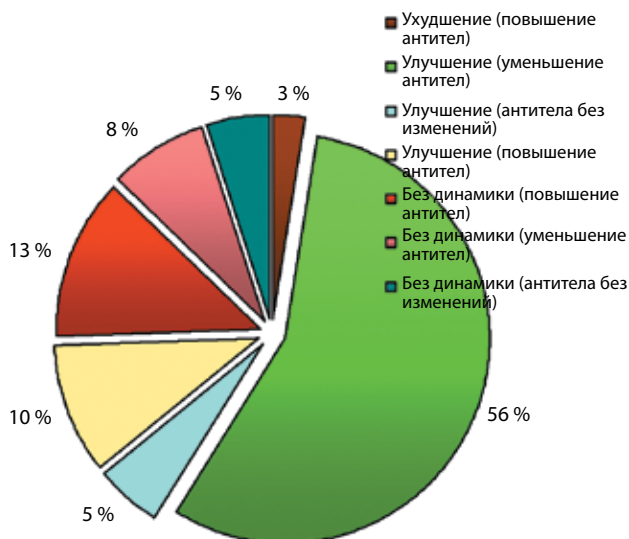


Рис. 3. Клинико-иммунологическая динамика у пациентов на фоне лечения глюкокортикоидными препаратами

сле проведения оперативного вмешательства. Временные интервалы были выбраны с учетом того, что клинический эффект от указанных методов лечения у большинства больных согласно данным литературы и по нашим наблюдениям наблюдается именно на этих сроках. Клинический статус определялся с использованием шкалы QMGS. Концентрация антител к АХР определялась радиоиммунологическим методом. С учетом возможности погрешности при повторном измерении уровня антител колебания до 5% в сторону повышения или уменьшения были условно приняты за отсутствие изменений иммунологического показателя. В 1-й группе у 22 из 39 пациентов наблюдалось улучшение состояния с уменьшением концентрации антител, у 2 пациентов улучшение не сопровождалось значимыми изменениями уровня антител и у 4 обследуемых при улучшении концентрация антител повысилась. В 5 случаях терапия не привела к улучшению состояния пациентов, при этом наблюдалось повышение концентрации антител. Тяжесть течения миастении в этой подгруппе оставалась без изменений, а у 1 больного даже отмечалось ухудшение. У 2 обследованных отсутствие эффекта от лечения сопровождалось также отсутствием значимых колебаний концентрации антител, у 3 пациентов при этом наблюдалось уменьшение уровня антител (рис. 3).

В группе больных, подвергшихся хирургическому лечению, у 18 из 23 пациентов наблюдалось клиническое улучшение с уменьшением уровня антител к АХР. В 2 случаях отмечалось улучшение в сочетании с отсутствием динамики концентрации антител, в 1 случае уменьшение тяжести заболевания совпало с увеличением концентрации антител. Отсутствие клинического улучшения наблюдалось в этой группе

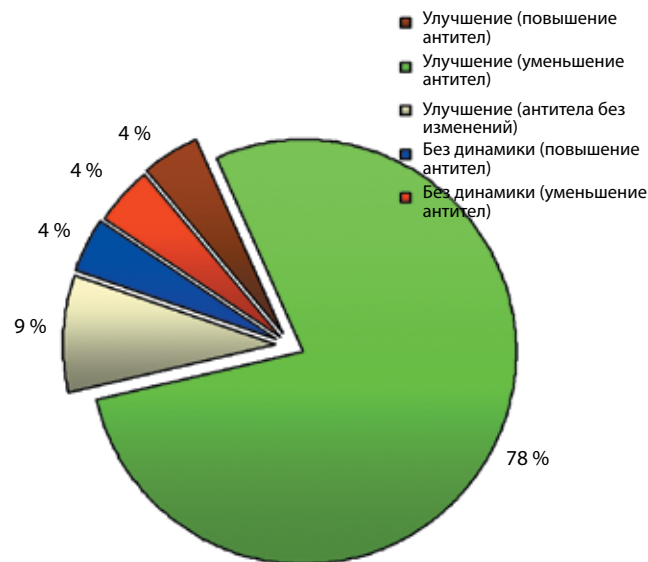


Рис. 4. Клинико-иммунологическая динамика у пациентов после тимэктомии (тимомтиэктомии)

у 2 пациентов, при этом у одного из них концентрация антител не изменилась, а у другого увеличилась (рис. 4).

Таким образом, в 78% случаев при консервативном лечении и 86% случаев при хирургическом удалении тимуса или тимомы положительный клинический эффект сопровождался уменьшением концентрации антител к АХР в среднем на 45%, в то время как при отсутствии клинического улучшения снижение содержания антител наблюдалось в единичных случаях.

Также нами была исследована динамика клинического состояния в течение последующих 10–12 мес у пациентов, имевших улучшение на фоне глюкокортикоидной терапии. Было установлено, что в случае положительного клинического эффекта, сопровождавшегося уменьшением содержания антител, срыв достигнутой ремиссии имел место в 4 из 22 случаев, в то время как при сочетании улучшения с отсутствием снижения концентрации антител к АХР обострение заболевания наблюдалось у 4 из 6 больных (рис. 5).

При сочетании клинического улучшения с отсутствием уменьшения уровня антител к АХР в большинстве случаев медикаментозная ремиссия носила неустойчивый характер и наблюдалась экзacerbация болезни. Полученные результаты дают возможность иммунологической оценки эффективности лечения и прогнозирования возможного обострения.

Как говорилось выше, у 15–20% пациентов с миастенией не выявляется повышение уровня антител к АХР. В таких случаях речь идет о серонегативной миастении. У части этих пациентов обнаруживается

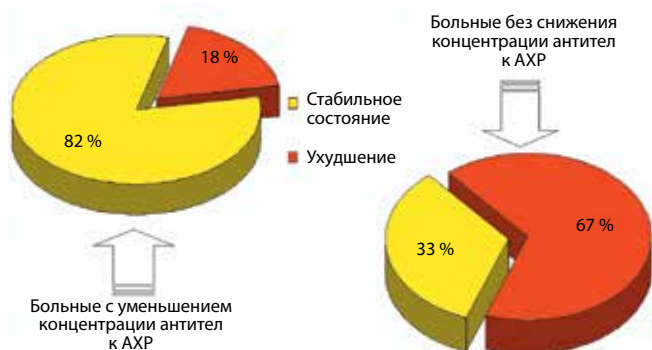


Рис. 5. Пациенты с положительным клиническим эффектом на фоне терапии глюкокортикоидами. Изменение клинического состояния при наблюдении в динамике

высокая концентрация антител к мышечной специфической тирозинкиназе (MuSK).

MuSK является трансмембранным белком, селективно экспрессирующимся на постсинаптической мембране нервно-мышечного синапса. Внеклеточный участок молекулы содержит 4 иммуноглобулиноподобных домена и богатый цистеином фрагмент. Внутриклеточный участок включает околочелюстную домену и фрагмент, обладающий киназной активностью. MuSK играет ключевую роль в формировании кластеров АХР на постсинаптической мембране при участии белков рапсина и агрина (см. рис. 1в). Агрин, синтезирующийся в мотонейронах, транспортируется по аксону в синаптическую щель и взаимодействует с MuSK, которая при этом фосфорилирует связанные с рапсином субъединицы АХР. Этот процесс обеспечивает синаптическую кластеризацию АХР во время эмбрионального развития, что критически необходимо для нормального функционирования постсинаптической мембраны в течение всего постнатального периода [19].

Как показал W. Hoch, антитела к MuSK при серонегативной миастении встречаются в 70 % всех случаев [20]. Однако, по данным других исследований, это значение не превышает 30–40 % [4, 21–23]. Вместе с тем все авторы сходятся во мнении, что антитела к MuSK никогда не выявляются при серопозитивной миастении и других аутоиммунных заболеваниях. Непосредственная роль аутоиммунной агрессии к этой структуре в патогенезе миастении первоначально ставилась под сомнение в связи с отсутствием изменений плотности АХР на постсинаптической мембране у MuSK-позитивных больных [24]. В дальнейшем патогенетическая значимость поражения MuSK была доказана путем создания экспериментальной модели на животных, при которой активная иммунизация мышцей экстрацеллюлярным доменом MuSK, также как и пассивная иммунизация IgG от MuSK-позитивных больных, приводила к развитию экспериментальной миастении [22]. Было установлено, что степень повышения концентрации этих антител коррелирует с выраженностью клинических проявлений заболева-

ния и их содержание уменьшается при применении иммуносупрессивных методов лечения, но остается неизменным после тимэктомии [25].

У многих MuSK-позитивных пациентов имеется тенденция к более тяжелому течению заболевания и частой встречаемости краниобульбарных, дыхательных нарушений и слабости мышц шеи [26, 27].

У отдельных больных может наблюдаться атрофия мышц лица и языка, подтверждаемая при проведении магнитно-резонансной томографии [23, 28]. В целом группа MuSK-позитивных пациентов достаточно гетерогенна. С точки зрения клинических проявлений можно выделить несколько возможных вариантов течения заболевания [4, 21, 29]. Первый вариант характеризуется быстрым прогрессированием краниобульбарных нарушений в сочетании с атрофией мимических мышц и мышц языка. Слабость в конечностях относительно менее выражена. При 2-м варианте вовлекаются мышцы шеи и дыхательной мускулатуры. Бульбарные нарушения при этом дебютируют более поздно и, как правило, носят умеренно выраженный характер. По данным D. V. Sanders и соавт., этот тип течения болезни был самым распространенным и встречался у 7 из 12 MuSK-позитивных больных [27]. Третий из вариантов не отличается от серопозитивной миастении.

По мнению ряда авторов, особенностью при ЭМГ-исследовании у MuSK-позитивных пациентов является нередкое отсутствие декремента амплитуды М-ответа при ритмической стимуляции в клинически пораженных мышцах конечностей или его малая выраженность даже при значительной мышечной слабости [4, 21, 27]. Согласно данным D. Lavric и соавт. декремент амплитуды М-ответа при MuSK-ассоциированной миастении наблюдался только у 47 % больных, в то время как при серопозитивной форме заболевания изменения при ритмической стимуляции выявлялись в 85 % случаев [23]. Однако другие авторы значимых ЭМГ-различий между MuSK-позитивными и серопозитивными пациентами не выявили [30]. По результатам исследования S. J. Oh значимые изменения при ритмической стимуляции выявлялись у 86 % MuSK-позитивных пациентов, что было сопоставимо с частотой обнаружения декремента при серопозитивной миастении в 81 % случаев. При этом наиболее выраженные изменения обнаруживались при исследовании лицевой мускулатуры [31]. Наиболее частая встречаемость и большая выраженность ЭМГ-нарушений в мимических мышцах были подтверждены и другими авторами [4, 21, 30].

У 30–40 % MuSK-позитивных пациентов отсутствует или снижен эффект от введения ингибиторов холинэстеразы, что приводит к ложноотрицательной пробе с введением прозерина и неэффективности терапии АХЭП [4, 21, 32, 33]. В таких случаях прием АХЭП может приводить к развитию холинэргии, ухудшению состояния и развитию криза [23]. Ввиду дан-

ной особенности необходимо более осторожное назначение АХЭП с уменьшением дозы препарата при возникновении первых признаков холинергии, из которых типичны боли в животе, диарея, ринорея, гиперсаливация, мышечные подергивания и снижение артериального давления.

При назначении глюкокортикоидных препаратов клиническое улучшение отмечается не более чем у половины больных, у остальных пациентов приходится подключать к терапии цитостатические препараты [23]. Вместе с тем наблюдается отчетливый положительный эффект от применения плазмафереза и внутривенного иммуноглобулина, сопоставимый с эффектом от данных методов лечения у серопозитивных пациентов [12, 32].

Многие авторы указывают на неэффективность тимэктомии у MuSK-позитивных больных. Как показали результаты морфогистологических исследований, патология вилочковой железы встречается крайне редко и в большинстве случаев удаленная ткань не отличается от тимуса здорового человека [27, 32]. Ассоциация с тимомой не характерна для серонегативной миастении.

Ассоциация миастении с опухолью вилочковой железы (тимомой) встречается в 10–15 % случаев и, очевидно, вносит определенный вклад в развитие и поддержание аутоиммунной агрессии. Вместе с тем вопросы, касающиеся точных механизмов влияния тимомы на нервно-мышечную передачу и роли ее в патогенезе миастении, остаются до сих пор недостаточно изученными. Известно, что при сочетании миастении с тимомой спектр поражаемых при аутоиммунном ответе мишеней включает помимо АХР также ряд внесинаптических структур, в частности мышечный белок титин и рианодиновые рецепторы.

История изучения **титина** началась в 1976 г., когда К. Маруяма выделил из миофибрилл поперечно-полосатых мышц курицы гигантский белок, который по аминокислотному составу отличался от актина и миозина. Чуть позднее автор указал на наличие подобного белка в мышцах других позвоночных. Выделенный протеин получил название коннектина [34]. В 1979 г. независимо от К. Маруямы американский биохимик К. Ванг изолировал из мышечной ткани животных белок, названный титином (titin – titanic protein) в честь греческих божеств титанов, что отражало его крайне большую молекулярную массу [35]. Исследования электрофоретической подвижности показали, что коннектин и титин являются одним и тем же протеином [36].

Титин представляет собой гигантский белок, массой около 3000 кДа, состоящий из 27 000 аминокислот и составляющий 10 % мышечной массы. Структурно титин состоит из нескольких иммуноглобулиноподобных областей и уникального РЕVK-региона, богатого пирролидин- α -карбоновой кислотой (P), глутаматом (E),

валином (V) и лизином (K), функционирующего как своеобразная молекулярная пружина, расположенная в саркомере между Z-линией и миозиновыми филаментами, обеспечивающая пассивную напряженность саркомера. Этот белок выполняет 2 основные функции – управление расположением саркомера и обеспечение мышечной эластичности.

Несмотря на то, что первой идентифицированной антигенной мишенью при миастении был АХР, история изучения аутоиммунного субстрата этого заболевания началась с обнаружения антител не к синаптическим антигенам, а именно к мышечным, к которым и относится титин. В 1960 г. A.J.L. Strauss и соавт. впервые показали, что сыворотка некоторых пациентов с миастенией содержит антитела, перекрестно реагирующие с поперечно-полосатой мускулатурой [37].

Е. Н. Veutner и соавт. подтвердили это, указав, что подобные антитела способны связываться не только со скелетной мышцей, но и с миокардом [38]. В дальнейшем было установлено, что мишенью для основного пула антител к поперечно-полосатым мышцам является белок титин [39]. Антитела к титину относятся только к подклассам IgG 1 и IgG 4 и обладают способностью к активации комплемента. Основной пул антител реагирует с главным иммуногенным регионом MGT-30 (myasthenia gravis titin-30), массой 30 кДа [40]. Часть антител вырабатывается также к РЕVK-региону [41]. По данным ряда авторов, антигенные детерминанты титина, в том числе MGT-30, экспрессируются в клетках тимомы [42, 43].

Повышение концентрации этих антител при миастении ассоциировано с наличием опухоли тимуса и наблюдается у 80–90 % пациентов с тимомой, что контрастирует с редкой их встречаемостью в сыворотке пациентов с атрофией или гиперплазией тимуса [39, 44]. Вместе с тем у пациентов с тимомой без признаков миастении повышение концентрации антител к титину встречается гораздо реже и выражено в меньшей степени, чем при сочетании с миастенией [4]. Корреляционные связи между повышением концентрации антител и гистологическими особенностями тимомы отсутствуют [4, 45].

Также выявлена ассоциация частой встречаемости этих антител у больных без тимомы с поздним началом миастении в возрасте после 60 лет [44, 46, 47]. Таким образом, антитела к титину в клинической практике используются как достаточно чувствительный маркер тимомы у пациентов, не достигших 60-летнего возраста [16, 44, 46, 48].

К клиническим особенностям миастении, сочетающейся с повышением содержания антител к титину, относят тенденцию к более тяжелому течению болезни, частому развитию дыхательных и бульбарных нарушений. Многие авторы указывают, что у пациентов с наиболее выраженными двигательными нарушениями

ями повышение концентрации антител к титину наблюдается чаще, чем в остальных группах [21]. По данным F. Romi, у титинположительных пациентов прогноз относительно ответа на терапию и проведение тимэктомии более неблагоприятный [49].

Еще одна внесинаптическая мишень для аутоиммунной атаки при миастении — **рианодиновые рецепторы** саркоплазматического ретикулума (RyR). RyR относятся к хемовозбудимым кальциевым каналам. Основным лигандом рецепторов является природный алкалоид рианодин. Канал RyR представлен трансмембранным белковым тетрамером, состоящим из 4 гомологичных субъединиц массой 550 кДа [50]. Различные изоформы RyR широко представлены не только в мышечной и нервной ткани, но и в печени, почках, легких, желудочно-кишечном тракте, в форменных элементах крови и некоторых других тканях. В настоящее время обнаружено 3 подвида рецепторов: RyR1 — наиболее широко распространены в скелетных мышцах и некоторых нейронах, в частности в клетках Пуркинье, RyR2 — в миокарде и мозге, а также RyR3 — в гладких мышцах различных органов и мозге [50, 51]. По сути своей RyR являются универсальной внутриклеточной структурой, обеспечивающей ответ на деполяризацию мембраны в виде массивного выброса ионов кальция из эндоплазматической сети в цитоплазму клетки. Высвободившийся кальций связывается с регуляторными белками и приводит к активации или ингибированию различных биохимических процессов. В частности, в поперечно-полосатых мышцах ионы кальция связываются с актиномиозиновым комплексом и инициируют процесс мышечного сокращения.

Анти-RyR-антитела были впервые идентифицированы A. Mygland и соавт. в 1992 г. [52]. Основной пул антител приходится на IgG1, хотя встречаются антитела, относящиеся ко всем 4 подклассам IgG [53]. Главный иммуногенный регион, к которому вырабатываются антитела, расположен на участке 799–1172 RyR. Также выявлены антитела к участку 2595–2935 [54]. Несмотря на то, что антигенные детерминанты отдельных подтипов RyR несколько отличаются друг от друга, анти-RyR-антитела перекрестно реагируют со всеми видами рецепторов [55]. Патогенетическая роль антител к RyR заключается в аллостерическом ингибировании рецепторов с последующим нарушением высвобождения ионов кальция из саркоплазматического ретикулума в ответ на возбуждение сарколеммы [54]. Недостаточный выброс кальция в цитоплазму приводит к нарушению функционирования актиномиозинового комплекса и, таким образом, к разобщению процессов возбуждения и сокращения мышечного волокна [56]. A. Mygland и соавт. установили, что клетки эпителиальной тимомы экспрессируют на своей поверхности эпитопы трансмембранных регионов RyR [57]. Антитела к RyR, так же

как и антитела к титину, ассоциированы с наличием тимомы и поздним началом заболевания.

У больных миастенией, сочетающейся с повышением анти-RyR-антител, имеется тенденция к более тяжелому течению болезни с нередким развитием жизнеугрожающих состояний. Часто развиваются преимущественно бульбарные и дыхательные нарушения с вовлечением мышц шеи на ранних сроках в дебюте болезни, что отличает от клинического паттерна манифестации миастении с поражением мышц поясов конечностей, типичного в большинстве случаев серопозитивных форм заболевания. Слабость мышц шеи в начале заболевания — одна из отличительных черт RyR-ассоциированной миастении, в то время как дыхательные и бульбарные нарушения также являются частыми симптомами при высокой концентрации антител к титину независимо от наличия или отсутствия анти-RyR-антител [58, 59].

В последнее время в качестве препарата выбора при миастении, ассоциированной с антителами к RyR, рассматривается такролимус. Помимо прямого иммуносупрессивного эффекта, опосредованного через кальцийнейринзависимое ингибирование T-клеточных функций, такролимус улучшает выброс кальция из саркоплазматического ретикулума в цитоплазму и, таким образом, частично восстанавливает связь между процессами возбуждения сарколеммы и сокращения мышечных волокон, что делает применение этого препарата патогенетически обоснованным при наличии высокой концентрации антител к RyR [60].

Заключение

Определение сывороточных антител к различным синаптическим и внесинаптическим мишеням при миастении является важным инструментом в клинической практике врача, сталкивающегося с этим заболеванием.

Высокая концентрация антител к АХР у подавляющего большинства больных с миастенией может использоваться как значимый диагностический критерий. С учетом специфики изменения концентрации антител к АХР на фоне патогенетического лечения этот показатель также может быть использован для объективизации подавления аутоиммунной агрессии и оценки надежности достигнутой при этом ремиссии. Вместе с тем отсутствие повышения уровня антител к АХР при наличии четких клинических и ЭМГ-признаков миастении свидетельствует об аутоиммунной атаке против ряда других мишеней, наиболее изученной из которых к настоящему времени является MuSK. Среди особенностей пациентов с MuSK-позитивной миастенией можно отметить редкость патологии тимуса и низкую эффективность тимэктомии, что, по-видимому, связано с отсутствием экспрессии MuSK в ткани вилочковой железы. Это может указывать на несколько иные патофизио-

логические механизмы инициации и поддержания аутоиммунного процесса у больных с MuSK-позитивной миастенией, не затрагивающие тимус. Об этом также свидетельствует стабильность концентрации антител к MuSK после тимэктомии [61]. Напротив, пациенты с миастенией, ассоциированной с тимомой, практически всегда имеют повышенный уровень антител к АХР. Вместе с тем наличие

тимомы связано с расширением репертуара атакуемых аутоантигенов и выработкой антител к титину и RyR, что также наблюдается у лиц с поздним началом миастении без тимомы. Таким образом, повышение концентрации антител к этим структурам может трактоваться как весьма достоверный признак опухоли вилочковой железы у пациентов с миастенией младше 60 лет.

ЛИТЕРАТУРА

- Lennon V.A., Ermilov L.G., Szurszewski J.H., Vernino S. Immunization with neuronal nicotinic acetylcholine receptor induces neurological autoimmune disease. *J Clin Invest* 2003;111:907–13.
- Ragheb S., Mohamed M., Lisak R.P. Myasthenia gravis patients, but not healthy subjects, recognize epitopes that are unique to the epsilon-subunit of the acetylcholine receptor. *J Neuroimmunol* 2005;159(1–2): 137–45.
- Oda K. Differences in acetylcholine receptor – antibody interaction between extraocular and extremity muscle fibers. In: *Myasthenia gravis and related disorders. Experimental and clinical aspects.* Ann N Y Acad Sci 1993;681:238–55.
- Санадзе А.Г. Миастения и миастенические синдромы: руководство. М.: Литтера, 2012. 256 с.
- Lindstrom J. Antibody specificities in autoimmune myasthenia gravis. *Neuromuscular Diseases.* N. Y., 1984. P. 481–495.
- Birmanns B., Brenner T., Abramsky O., Steiner I. Seronegative myasthenia gravis: clinical features, response to therapy and synthesis of acetylcholine receptor antibodies in vitro. *J Neurol Sci* 1991;102(2):184–9.
- Lennon V.A. Serological diagnosis of myasthenia gravis and Lambert-Eaton myasthenic syndrome. *Handbook of Myasthenia gravis.* R. Lisak, ed., Marcel Dekker, 1994;7. P. 149–164.
- Kawanami S., Mori S., Ueda H. Homology between Fas and nicotinic acetylcholine receptor protein in a thymoma with myasthenia gravis-immunohistochemical and biochemical study. *Fukuoka Idaku Zasshi* 2000;91(5):123–31.
- Lennon V.A., Seybold M.E., Lindstrom J.M. et al. Role of complement in the pathogenesis of experimental autoimmune myasthenia gravis. *J Exp Med* 1978;147:973–83.
- Drachman D.B., Adams R.N., Josifek L.F. et al. Antibody-mediated mechanisms of ACh receptor loss in myasthenia gravis: clinical relevance. *Ann N Y Acad Sci* 1981;377:175–88.
- Vincent A., Newsom-Davis J. Antiacetylcholine receptor antibodies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1980;43:590–600.
- Conti-Fine B.M., Milani M., Kaminski H.J. Myasthenia gravis: past, present, and future. *J Clin Invest* 2006;116:2843–54.
- Поздняков О.М., Бабакова Л.Л. Пластичность нервно-мышечного синапса в патологии. *Журн невропатол и психиатр им. С.С. Корсакова* 1998;98(3):50–3.
- Ланцова В.Б., Сепп Е.К. Применение метода иммуноблоттинга для дифференциальной диагностики различных форм миастении и эндокринной офтальмопатии. *Журн экспер биол и мед* 2005;140 (10): 478–80.
- Aurangzeb S., Tariq M., Badshah M., Khan R.S. Relationship between anti-acetylcholine receptor antibody titres and severity of myasthenia gravis. *J Pak Med Assoc* 2009;59(5):289–92.
- Wang W.W., Hao H.J., Gao F. Detection of multiple antibodies in myasthenia gravis and its clinical significance. *Chin Med J (Engl)* 2010;123(18):2555–8.
- Kuks J.B., Oosterhuis H.J., Limburg P.C., The T.H. Anti-acetylcholine receptor antibodies decrease after thymectomy in patients with myasthenia gravis. *Clinical correlations.* *J Autoimmun* 1991;4(2):197–211.
- Дедаев С.И. Значение антител к ацетилхолиновым рецепторам в оценке эффективности лечения больных миастенией. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2012. 25 с.
- Glass D.J., Yancopoulos G.D. Sequential roles of agrin, MuSK and rapsyn during neuromuscular junction formation. *Curr Opin Neurobiol* 1997;7(3):379–84.
- Hoch W., McConville J., Helms S. et al. Auto-antibodies to the receptor tyrosine kinase MuSK in patients with myasthenia gravis without acetylcholine receptor antibodies. *Nat Med* 2001;7(3):365–8.
- Щербакова Н.И., Санадзе А.Г., Сиднев Д.В., Рудниченко В.А. Клинические и электромиографические особенности серонегативной миастении. *Журн неврол и психиатр им. С.С. Корсакова* 2007;102(1):51–3.
- Shigemoto K., Kubo S., Maruyama N. et al. Induction of myasthenia by immunization against muscle specific kinase. *J Clin Invest* 2006;116(4):1016–24.
- Lavrnjc D., Losen M., Vujic A. et al. The features of myasthenia gravis with autoantibodies to MuSK. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76:1099–102.
- Selcen D., Fukuda T., Shen X.M., Engel A.G. Are MuSK antibodies the primary cause of myasthenic symptoms? *Neurology* 2004;62(11):1945–50.
- Bartoccioni E., Scuderi F., Minicuci G.M. et al. Anti-MuSK antibodies: correlation with myasthenia gravis severity. *Neurology* 2006;67(3):505–7.
- Scuderi F., Marino M., Colonna L. et al. Anti-p110 autoantibodies identify a subtype of «seronegative» myasthenia gravis with prominent oculo-bulbar involvement. *Lab Invest* 2002;82(9):1139–46.
- Sanders D.B., El-Salem K., Massey J.M. et al. Clinical aspects of MuSK antibody positive seronegative MG. *Neurology.* In press 2003.
- Farrugia M.E., Robson M.D., Clover L. et al. MRI and clinical studies of facial and bulbar involvement in MuSK antibody-associated myasthenia gravis. *Brain* 2006;129:1481–92.
- Oh S.J. Muscle-specific receptor tyrosine kinase antibody positive myasthenia gravis current status. *J Clin Neurol* 2009;5(2):53–64.
- Pasnoor M., Wolfe G., Nations S. et al. Clinical findings in MuSK-antibody positive myasthenia gravis. *Muscle Nerve* 2010;41(3):370–4.
- Oh S.J., Hatanaka Y., Hemmi S. et al. Repetitive nerve stimulation of facial muscles in MuSK antibody positive myasthenia gravis. *Muscle Nerve* 2006;33:500–4.
- Evoli A., Tonali P.A., Padua L. et al. Clinical correlates with anti-MuSK antibodies in generalized seronegative myasthenia gravis. *Brain* 2003;126:2304–11.
- Vincent A., Bowen J., Newsom-Davis J. et al. Seronegative generalized myasthenia gravis: clinical features, antibodies, and their targets. *Lancet Neurol* 2003;2:99–106.
- Maruyama K. Connectin, an elastic protein from myofibrils. *J Biochem* 1976; 80(2):405–7.
- Wang K., McClure J., Tu A. Titin: major myofibrillar components of striated muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979;76(8):3698–702.

36. Maruyama K., Kimura S., Ohashi K., Kuwano Y. Connectin, an elastic protein of muscle. Identification of «titin» with connectin. *J Biochem* 1981;89(3):701–9.
37. Strauss A.J.L., Seegal B.C., Hsu K.C. et al. Immunofluorescence demonstration of a muscle binding complement-fixing serum globulin fraction in myasthenia gravis. *Proc Soc Exp Biol Med* 1960;105:184–91.
38. Beutner E.H., Witebsky E., Ricken D., Adler R.H. Studies on autoantibodies in myasthenia gravis. *JAMA* 1962;182:46–58.
39. Aarli J.A., Stefansson K., Marton L.S., Wollmann R.L. Patients with myasthenia gravis and thymoma have in their sera IgG autoantibodies against titin. *Clin Exp Immunol* 1990;82(2):284–8.
40. Gautel M., Lakey A., Barlow D.P. et al. Titin antibodies in myasthenia gravis: identification of a major immunogenic region of titin. *Neurology* 1993;43:1581–5.
41. Mihovilovic M., Mai Y., Austin C., Roses A.D. Sera from myasthenia gravis patients recognize the PEVK domain of titin. *Ann N Y Acad Sci* 1998;841:534–7.
42. Skeie G.O., Freiburg A., Kolmerer B. et al. Titin transcripts in thymomas. *J Autoimmun* 1997;10(6):551–7.
43. Romi F., Bo L., Skeie G.O. et al. Titin and ryanodine receptor epitopes are expressed in cortical thymoma along with costimulatory molecules. *J Neuroimmunol* 2002;128(1–2):82–9.
44. Yamamoto A.M., Gajdos P., Eymard B. et al. Anti-titin antibodies in myasthenia gravis: tight association with thymoma and heterogeneity of nonthymoma patients. *Arch Neurol* 2001;58(6):885–90.
45. Voltz R., Albrich W., Hohlfeld R. et al. Anti-titin antibodies are not associated with a specific thymoma histology. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74(2):282.
46. Санадзе А.Г., Сиднев Д.В., Давыдова Т.В. и др. Антитела к мышцам (антититиновые антитела) у больных с поздним началом миастении: клинические и электрофизиологические корреляции. *Неврол журн* 2003;8(Прил 1):23–6.
47. Romi F., Skeie G.O., Gilhus N.E., Aarli J.A. Striational antibodies in myasthenia gravis: reactivity and possible clinical significance. *Arch Neurol* 2005;62(3):442–6.
48. Сиднев Д.В., Санадзе А.Г., Щербакова Н.И. и др. Антитела к мышцам (антититиновые антитела) в диагностике миастении, сочетающейся с тимомой. *Неврол журн* 2003;8(Прил 1):21–3.
49. Romi F., Gilhus N.E., Varhaug J.E. et al. Disease severity and outcome in thymoma myasthenia gravis: a long-term observation study. *Eur J Neurol* 2003;10(6):701–6.
50. McPherson P.S., Campbell K.P. The ryanodine receptor/Ca²⁺ release channel. *J Biol Chem* 1993;268(19):765–8.
51. Bennett D.L., Cheek T.R., Berridge M.J. et al. Expression and function of ryanodine receptors in non-excitable cells. *J Biol Chem* 1996;11:6356–62.
52. Mygland A., Tysnes O.B., Matre R. et al. Ryanodine receptor autoantibodies in myasthenia gravis patients with a thymoma. *Ann Neurol* 1992;32(4):589–91.
53. Romi F., Skeie G.O., Vedeler C. et al. Complement activation by titin and ryanodine receptor autoantibodies in myasthenia gravis. A study of IgG subclasses and clinical correlations. *J Neuroimmunol* 2000;111(1–2):169–76.
54. Skeie G.O., Mygland A., Treves S. et al. Ryanodine receptor antibodies in myasthenia gravis: epitopemapping and effect on calcium release in vitro. *Muscle and Nerve* 2003;27(1):81–9.
55. Mygland A., Tysnes O.B., Matre R. et al. Anti-cardiac ryanodine receptor antibodies in thymoma-associated myasthenia gravis. *Autoimmunity* 1994;17(4):327–31.
56. Imai T., Tsuda E., Hozuki T. et al. Contribution of anti-ryanodine receptor antibody to impairment of excitation-contraction coupling in myasthenia gravis. *Clin Neurophysiol* 2012;123(6):1242–7.
57. Mygland A., Kuwajima G., Mikoshiba K. et al. Thymomas express epitopes shared by the ryanodine receptor. *J Neuroimmunol* 1995;62(1):79–83.
58. Romi F., Aarli J.A., Gilhus N.E. Myasthenia gravis patients with ryanodine receptor antibodies have distinctive clinical features. *Eur J Neurol* 2007;14(6):617–20.
59. Romi F. Thymoma in myasthenia gravis: from diagnosis to treatment. *Autoimmune Dis* 2011;2011:474–512.
60. Nakata M., Kuwabara S., Kawaguchi N. et al. Is excitation-contraction coupling impaired in myasthenia gravis? *Clin Neurophysiol* 2007 May;118(5):1144–8.
61. Bartoccioni E., Scuderi F., Minicuci G.M. et al. Anti-MuSK antibodies: correlation with myasthenia gravis severity. *Neurology* 2006;67(3):505–7.