

АНТИТЕЛА К ОСНОВНОМУ БЕЛКУ МИЕЛИНА КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ МАРКЕР ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ

© Н.Л. Чередниченко, С.М. Карпов, В.А. Батуринов, Ю.А. Барбос

ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставрополь

Для цитирования: Чередниченко Н.Л., Карпов С.М., Батуринов В.А., Барбос Ю.А. Антитела к основному белку миеллина как диагностический маркер первичной открытоугольной глаукомы // Офтальмологические ведомости. — 2018. — Т. 11. — № 1. — С. 19–24. doi: 10.17816/OV11119-24

Поступила в редакцию: 25.12.2017

Принята к печати: 30.01.2018

✧ В последнее время многие авторы прибегают к иммуномолекулярной диагностике глаукомы. Мы обнаружили противоречивые сведения о концентрации антител к общему белку миеллина (АТ к ОБМ) при первичной открытоугольной глаукоме (ПОУГ) в литературе. **Цель работы:** определить концентрацию антител к общему белку миеллина в сыворотке крови пациентов с ПОУГ для оценки диагностической значимости теста. **Материалы и методы.** Обследовано 48 человек в возрасте от 42 до 79 лет: 14 человек с диагнозом ПОУГ I стадии, 10 человек с ПОУГ II (развитой) стадии, 8 человек с III (далекозашедшей) стадией ПОУГ, и 16 человек составили группу контроля. Критерии исключения: зрелая или почти зрелая катаракта, наличие возрастной макулярной дистрофии, тяжёлой сопутствующей офтальмологической, неврологической патологии, онкологических и аутоиммунных заболеваний, терапия глюкокортикоидами, иммуносупрессорами, острый и подострый период респираторных инфекций, хронических воспалительных процессов и черепно-мозговых травм. АТ к ОБМ в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА). **Результаты.** Концентрация АТ к ОБМ достоверно выше у пациентов с I и III стадиями ПОУГ ($177,5 \pm 63,93$ и $262,63 \pm 34,78$ мкг/мл соответственно), чем в группе контроля ($38,69 \pm 11,77$ мкг/мл, $p < 0,05$). Для диагностики ПОУГ у пациентов группы риска целесообразно использовать значение IgG к ОБМ > 60 мкг/мл, чувствительность метода составляет 78 %, специфичность — 87 %.

✧ **Ключевые слова:** первичная открытоугольная глаукома; общий белок миеллина (ОБМ); маркер глаукомы; ROC-анализ; специфичность; чувствительность.

ANTIBODIES TO MYELIN BASIC PROTEIN AS A DIAGNOSTIC MARKER OF PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA

© N.L. Cherednichenko, S.M. Karpov, V.A. Baturin, Yu.A. Barbos

Stavropol State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Stavropol, Russia

For citation: Cherednichenko NL, Karpov SM, Baturin VA, Barbos YuA. Antibodies to myelin basic protein as a diagnostic marker of primary open-angle glaucoma. *Ophthalmology Journal*. 2018;11(1):19-24. doi: 10.17816/OV11119-24

Received: 25.12.2017

Accepted: 30.01.2018

✧ Recently, many authors resort to immunomolecular diagnostics of glaucoma. We found conflicting information about the concentration of antibodies to the myelin basic protein (AB to MBP) in primary open-angle glaucoma in the literature. **Aim:** to determine the concentration of antibodies to the myelin basic protein in the serum of patients with primary open-angle glaucoma to assess the diagnostic significance of the test. **Materials and methods.** We included 48 people aged from 42 to 79 years: fourteen people had the diagnosis of the first stage of primary open-angle glaucoma (POAG), 10 people had the second (advanced) stage of POAG, 8 people had the III (far-gone) stage of POAG, and 16 subjects made the control group. Exclusion criteria: mature or almost mature cataract, age-related macular degeneration, severe concomitant ophthalmologic, neurological pathology, oncological and autoimmune diseases, glucocorticoid or immunosuppressive therapy, exacerbation of any acute and subacute respiratory infection, chronic inflammatory

processes and craniocerebral trauma. The serum level of AB to MBP was determined by enzyme immunoassay method (ELISA). **Results.** The concentration of AB to MBP was significantly higher in patients with first and second stages of POAG ($177.5 \pm 63.93 \mu\text{g/ml}$ and $262.63 \pm 34.78 \mu\text{g/ml}$, respectively) than in the control group ($38.69 \pm 11.77 \mu\text{g/ml}$, $p < 0.05$). To establish the diagnosis of POAG in at risk patients it is appropriate to use the level of IgG to MBP $> 60 \mu\text{g/ml}$; the sensitivity of the method is 78% and its specificity is 87%.

✧ **Keywords:** primary open-angle glaucoma; myelin basic protein (MBP); glaucoma marker; ROC analysis; specificity; sensitivity.

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) является социально значимым заболеванием. Исследователи постоянно ведут поиск наиболее информативных маркеров данной патологии. В последнее время многие авторы прибегают к иммуномолекулярной диагностике глаукомы. Публикации посвящены поиску надёжных маркеров ранней диагностики или прогноза глаукомной оптической нейропатии и/или глаукомы, в том числе серологических [1, 3–6, 9, 13–15]. Основываясь на иммунологической диагностике нейродегенеративных заболеваний, мы провели собственные исследования по поиску взаимосвязи между стадией глаукомы и количественными показателями маркеров нейродегенеративных заболеваний в сыворотке крови. Были исследованы следующие показатели: нейротрофического фактора головного мозга (BDNF), цилиарного нейротрофического фактора (CNTF), белка NF-200, белка S-100, глиального фибриллярного кислого белка (GFAP), моноцитарного хемоаттрактанта (MCP), фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), β -амилоида, тау-белка, антител (АТ) к основному белку миелина (ОБМ), родопсину, гликозаминогликанам, белкам теплового шока, нейронспецифической энolahе (NSE), глутатион S-трансферазе, α -фодрину, фосфатидилсерину [3, 6–8, 11, 13, 14, 16, 17]. Глаукома сопровождается иммунными реакциями с избыточным антителообразованием или, напротив, его дефицитом. Анализируя литературные данные, мы обнаружили противоречивые сведения о концентрации АТ к ОБМ [6–8].

Цель — определить концентрацию антител к общему белку миелина в сыворотке крови пациентов с первичной открытоугольной глаукомой для оценки диагностической значимости теста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено обследование 48 пациентов в возрасте от 42 до 79 лет. У всех участников исследования было получено информированное согласие. Критерии исключения составили: зрелая или поч-

ти зрелая катаракта, наличие возрастной макулярной дистрофии, тяжёлой сопутствующей офтальмологической, неврологической патологии, онкологических и аутоиммунных заболеваний, терапия глюкокортикоидами, иммуносупрессорами, острый и подострый периоды респираторных инфекций, хронических воспалительных процессов и черепно-мозговых травм.

Пациентам проводилось комплексное обследование для подтверждения диагноза, включающее визометрию, тонометрию, тонографию, офтальмоскопию, биомикроскопию, гониоскопию, рефрактометрию, стандартную автоматическую периметрию (SAP), пахиметрию, оптическую когерентную томографию (прибор Topcon 3D OCT-2000 FA). Обследование проводилось на базе офтальмологического диспансера и офтальмологического отделения ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница».

Для определения антител к ОБМ использовалась сыворотка крови, полученная путём пункции периферических вен (1–2 мл). Забор биологического материала осуществлялся в условиях процедурных кабинетов Клиники микрохирургии глаза СтГМУ и офтальмологического отделения ГБУЗ СК «СККБ» в одноразовые пробирки Vacutainer с красной крышкой, затем образцы крови центрифугировали, отбирали плазму крови с помощью одноразовых канюль в пробирки типа Эппендорф 2 мл и, до проведения, измерений замораживали при температуре $-18,0^\circ\text{C}$, хранили не более 30 суток. Антитела к ОБМ в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) в лаборатории Центра клинической фармакологии и фармакотерапии (Ставрополь) с использованием тестового набора для научных исследований фирмы «Иммунотэкс» (производство Россия) — набора реагентов для полуколичественного иммуноферментного определения IgG-аутоантител к основному белку миелина человека в сыворотке крови.

Статистический анализ и оценка получаемых результатов проводились с помощью программы Statistica 10.0 и Microsoft Excel 2010. Для харак-

теристики рядов данных рассчитывали средние значения и стандартное отклонение. Поскольку исследуемый параметр имел ненормальное распределение, при обработке данных пользовались непараметрической статистикой. При сравнении двух независимых групп по количественному признаку использовали *U*-критерий Манна – Уитни. Статистически достоверными принимались значения $p < 0,05$. Диагностическая ценность метода оценивалась с помощью ROC-анализа (receiver operating characteristic analysis).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Средний возраст пациентов составил $60,8 \pm 8,8$ года. Все исследуемые были разделены на четыре группы: 1-я группа контрольная — пациенты без патологии органа зрения, 16 человек (33,3 %); 2-я группа — пациенты с диагнозом ПОУГ I стадии, 14 человек (29,2 %); 3-я группа — пациенты с ПОУГ II (развитой) стадии, 10 человек (20,8 %); 4-я группа — пациенты с III (далекозашедшей) стадией ПОУГ, 8 человек (16,6 %). Разделение ПОУГ по стадиям производилось согласно Национальному руководству по глаукоме [2].

Данные о концентрации антител IgG к ОБМ в сыворотке крови по группам представлены в таблице 1.

Как видно из представленных данных, на I стадии глаукомного процесса имеет место выброс антител к ОБМ, вследствие чего подвергаются агрессии миелинизированные отростки периферической нервной системы (регулирующие секрецию внутриглазной жидкости отростками цилиарного тела, вызывая повышение внутриглазного давления) и аксоны ганглиозных клеток (запуская апоптоз).

Снижение количества антител на II стадии ПОУГ может быть обусловлено связыванием АТ в иммунные комплексы, возможно, здесь заканчивается «терапевтическое окно» или так называемый «пластический период» [15]. Таким образом, процесс, переходя в III стадию, носит прогрессирующий характер (то есть иммунная система на III стадии пытается восстановить антиапоптотическую активность, но оказывается неэффективной).

На III стадии пик антител к ОБМ совпадает с падением центрального зрения и потерей значительной части полей зрения, возможно, вследствие деструкции миелинизированных аксонов зрительного нерва.

При межгрупповом анализе не выявлено статистически значимых отличий при сравнении группы со II стадией ПОУГ и контрольной, а также групп с I и III стадиями ПОУГ (табл. 2).

Уровень IgG к основному белку миелина (мкг/мл) в сыворотке крови у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой и группы контроля ($M \pm m$)

Таблица 1

The serum level of IgG to MBP ($\mu\text{g/ml}$) in patients with primary open-angle glaucoma and in the control group ($M \pm m$)

Table 1

Группа	Концентрация IgG к основному белку миелина (мкг/мл), $M \pm m$	Изменение по сравнению с контрольной группой
I стадия ПОУГ	$177,5 \pm 63,93^*$	↑↑
II стадия ПОУГ	$55,0 \pm 16,8$	<i>N</i> или ↑незначительно
III стадия ПОУГ	$262,63 \pm 34,78^*$	↑↑↑
Контрольная	$38,69 \pm 11,77$	<i>N</i>

Примечание: * статистически значимое отличие от контрольной группы ($p < 0,05$)

Оценка достоверности результатов по *U*-критерию Манна – Уитни

Таблица 2

Estimation of the test validity according to Mann-Whitney *U*-criterion

Table 2

Группы сравнения	<i>U</i> -критерий	<i>U</i> критический для $p = 0,05$	Достоверность
I стадия — контроль	0	64	Статистически значимы ($p < 0,05$)
II стадия — контроль	119,5	42	Статистически незначимы ($p > 0,05$)
III стадия — контроль	0	31	Статистически значимы ($p < 0,05$)
I стадия — II стадия	2	36	Статистически значимы ($p < 0,05$)
I стадия — III стадия	90	26	Статистически незначимы ($p > 0,05$)
II стадия — III стадия	0	17	Статистически значимы ($p < 0,05$)

Таблица 3

Вычисления при ROC-анализе

Table 3

Calculations in ROC-analysis

Интервал, мкг/мл	Контроль		Первичная открытоугольная глаукома		Чувствитель- ность Se	Специфичность Sp	Расстояние до точки (0,1)
	%	доля	%	доля			
0–30	5	31	0	0	1	0,31	0,69
31–60	9	56	7	22	0,78	0,87	0,26
61–90	2	13	3	9	0,69	1	0,31
91–120	0	0	5	16	0,53	1	0,47
121–150	0	0	1	3	0,5	1	0,5
151–180	0	0	2	6	0,44	1	0,56
181–210	0	0	1	3	0,41	1	0,59
211–240	0	0	5	16	0,25	1	0,75
241–270	0	0	4	13	0,12	1	0,88
271–300	0	0	0	0	0,12	1	0,88
301–330	0	0	3	9	0,03	1	0,97
331–360	0	0	1	3	0	1	1

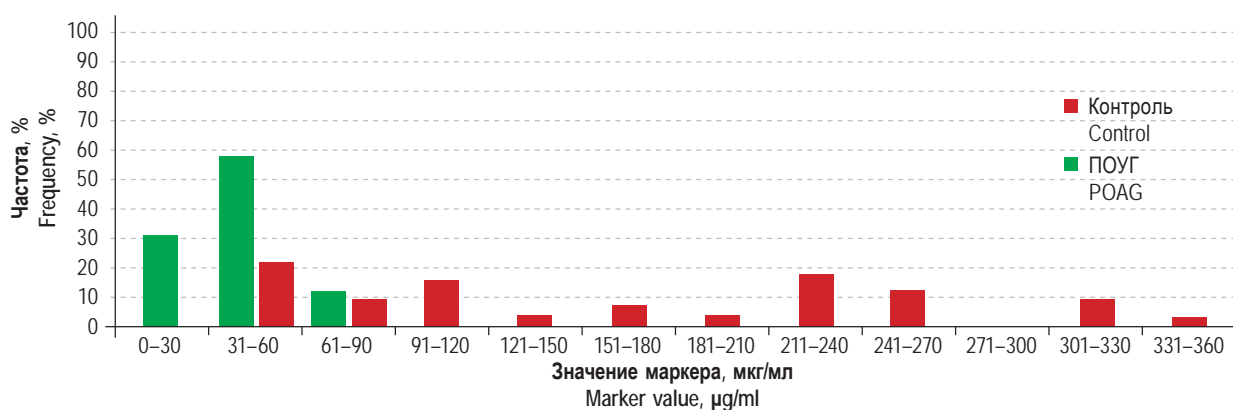


Рис. 1. Частота встречаемости интервалов значений титра антител к основному белку миелина у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой и контрольной группы

Fig. 1. The frequency of occurrence of value intervals of the titer of antibodies to MBP in patients with primary open-angle glaucoma and in the control group

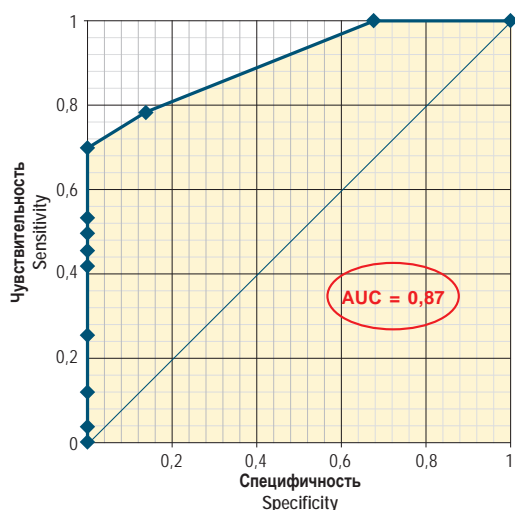


Рис. 2. ROC-кривая для антител к основному белку миелина (AUC — Area Under Curve — площадь под ROC-кривой)

Fig. 2. ROC-curve for antibodies to MBP (AUC — Area Under Curve — area under ROC-curve)

Для оценки диагностической ценности проведён ROC-анализ (Receiver Operator Characteristics) с оценкой специфичности и чувствительности метода и выбором оптимального порога (вычисления приведены в таблице 3). Частота встречаемости маркера антител к ОБМ в сыворотке крови у испытуемых отражена на рисунке 1. По результатам вычислений строили ROC-кривую (рис. 2), которая показывает зависимость количества верно классифицированных положительных примеров от количества неверно классифицированных отрицательных примеров [10, 12]. Чем ближе кривая к верхнему левому углу, тем выше предсказательная способность модели [10, 12].

Из таблицы 3 и рисунка 2 видно, что наименьшее расстояние до точки (0,1) равно 0,26, значит, оптимальное пороговое значение маркера титра

антител IgG к ОБМ равно 60 мкг/мл. Выбор данного порога позволяет правильно дифференцировать 78 % больных и 87 % здоровых лиц (чувствительность — 78 %, специфичность — 87 %). AUC — интегральный показатель прогностической эффективности маркера — показывает вероятность того, что значение признака-маркера у случайно выбранного больного больше, чем у случайно выбранного здорового [10, 12]. По результатам анализа AUC для АТ к ОБМ равен 0,87 (то есть AUC > 0,8) — отличный маркер.

ВЫВОДЫ

1. Оценка уровня IgG к ОБМ позволяет судить о состоянии анабиоза клеток сетчатки во время перехода I стадии глаукомного процесса во II стадию, оставляя возможность для их «реанимации» посредством нейропротекции (наличие «терапевтического окна нейропротекции»).

2. Для диагностики ПОУГ у пациентов группы риска целесообразно использовать значение IgG к ОБМ > 60 мкг/мл, чувствительность метода составляет 78 %, специфичность — 87 %.

Дополнительная информация

Конфликт интересов отсутствует.

Авторы не получали финансирования при проведении исследования и написании статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Белецкая И.С., Астахов С.Ю. Роль матричных металлопротеиназ в патогенезе глаукомы // Офтальмологические ведомости. — 2015. — Т. 8. — № 3. — С. 28–43. [Beletskaya IS, Astakhov SY. The role of matrix metalloproteinases in glaucoma pathogenesis. *Ophthalmology journal*. 2015;8(3):28-43. (In Russ.)]. doi: 10.17816/OV2015328-43.
- Национальное руководство по глаукоме: для практикующих врачей / Под ред. Е.А. Егорова, Ю.С. Астахова, В.П. Еричева — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. [Egorov EA, Astakhov YS, Eriчев VP, editors. *National glaucoma guidelines: for medical practitioners*. Moscow: GEOTAR-Media; 2015. (In Russ.)]
- Еричев В.П., Панюшкина Л.А., Дань Цзинь. Неконкурентные антагонисты NMDA-рецепторов в стабилизации глаукомной оптической нейропатии // Национальный журнал глаукома. — 2013. — № 3—1. — С. 30–34. [Eriчев VP, Panyushkina LA, Dan' Tszin'. Non-competitive antagonists of NMDA receptors in the stabilization of glaucomatous optic neuropathy. *Russian journal of glaucoma*. 2013;(3-1):30-34. (In Russ.)]
- Еричев В.П., Туманов В.П., Панюшкина Л.А. Глаукома и нейродегенеративные заболевания // Национальный журнал глаукома. — 2012. — № 1. — С. 62–68. [Eriчев VP, Tumanov VP, Panyushkina LA. Glaucoma and neurodegenerative diseases. *Russian journal of glaucoma*. 2012;(1):62-68. (In Russ.)]
- Зуева М.В. Динамика гибели ганглиозных клеток сетчатки при глаукоме и её функциональные маркеры // Национальный журнал глаукома. — 2016. — № 1. — С. 70–85. [Zueva MV. Dynamics of retinal ganglion cell death in glaucoma and its functional markers. *Russian journal of glaucoma*. 2016;(1):70-85. (In Russ.)]
- Каменских Т.Г., Колбенов И.О., Каменских И.Д., и др. Исследование молекулярных механизмов регуляции апоптоза ганглиозных клеток сетчатки при первичной открытоугольной глаукоме // РМЖ. Клиническая офтальмология. — 2013. — № 2. — С. 46–49. [Kamenskikh TG, Kolbenev IO, Kamenskikh ID, et al. Investigation of molecular mechanisms of retinal ganglion cells apoptosis regulation in primary open-angle glaucoma. *RMZh. Klinicheskaya oftalmologiya*. 2013;(2):46-49. (In Russ.)]
- Лихванцева В.Г., Габибов А.Г., Соломатина М.В., и др. Роль иммунных реакций в патогенезе оптической нейропатии при нормотензивной глаукоме // Национальный журнал глаукома. — 2014. — Т. 13. — № 2. — С. 17–28. [Likhvantseva VG, Gabibov AG, Solomatina MV, et al. The role of immune reactions in the pathogenesis of optic neuropathy in normal tension glaucoma. *National journal of glaucoma*. 2014;13(2):17-28. (In Russ.)]
- Лихванцева В.Г., Ковеленова И.В., Соломатина М.В., и др. Серологическое картирование антител при первичной открытоугольной глаукоме // Практическая медицина. — 2016. — № 2—1. — С. 60–64. [Likhvantseva VG, Kovelonova IV, Solomatina MV, et al. Serological mapping of antibodies in primary open-angle glaucoma. *Prakticheskaya Meditsina*. 2016;(2-1):60-64. (In Russ.)]
- Рукина Д.А., Догадова Л.П., Маркелова Е.В., и др. Иммунологические аспекты патогенеза первичной открытоугольной глаукомы // РМЖ. Клиническая офтальмология. — 2011. — Т. 12. — № 4. — С. 162–165. [Rukina DA, Dogadova LP, Markelova EV, et al. Immunological aspects of the pathogenesis of primary open-angle glaucoma. *RMZh. Klinicheskaya oftalmologiya*. 2011;12(4):162-165. (In Russ.)]
- Рубанович А.В., Хромов-Борисов Н.Н. Теоретический анализ показателей предсказательной эффективности бинарных генетических тестов // Экологическая генетика. — 2013. — Т. 11. — № 1. — С. 77–90. [Rubanovich AV, Khromov-Borisov NN. Theoretical analysis of the predictability indices of the binary genetic tests. *Ecological genetics*. 2013;11(1):77-90. (In Russ.)]. doi: 10.17816/ecogen11177-90.
- Слепова О.С., Фролов М.А., Морозова Н.С., и др. Маркеры FAS-опосредованного апоптоза при первичной открытоугольной глаукоме и возможности их фармакологической коррекции // Вестник офтальмологии. — 2012. — Т. 128. — № 4. — С. 27–31. [Slepova OS, Frolov MA, Morozova NS, et al. Markers of Fas-mediated apoptosis in primary open-angle glaucoma and opportunities of their pharmacological correction. *Annals of ophthalmology*. 2012;128(4):27-31. (In Russ.)]
- Fawcett T. An introduction to ROC analysis. *Pattern Recognit Lett*. 2006;27(8):861-874. doi: 10.1016/j.patrec.2005.10.010.

13. Grus FH, Joachim SC, Bruns K, et al. Serum autoantibodies to alpha-fodrin are present in glaucoma patients from Germany and the United States. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47(3): 968-976. doi: 10.1167/iovs.05-0685.
14. Ikeda Y, Maruyama I, Nakazawa M, Ohguro H. Clinical significance of serum antibody against neuron-specific enolase in glaucoma patients. *Jpn J Ophthalmol.* 2002;46(1):13-17.
15. Porciatti V, Ventura LM. Retinal ganglion cell functional plasticity and optic neuropathy: a comprehensive model. *J Neuroophthalmol.* 2012;32(4):354-358. doi: 10.1097/WNO.0b013e3182745600.
16. Tezel G, Hernandez R, Wax MB. Immunostaining of heat shock proteins in the retina and optic nerve head of normal and glaucomatous eyes. *Arch Ophthalmol.* 2000;118(4):511-518. doi: 10.1001/archophth.118.4.511.
17. Yang J, Tezel G, Patil RV, et al. Serum autoantibody against glutathione S-transferase in patients with glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42(6):1273-1276.

Сведения об авторах

Нина Львовна Чередниченко — канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой офтальмологии с курсом дополнительного профессионального образования (ДПО). ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставрополь. E-mail: r6hn@bk.ru.

Сергей Михайлович Карпов — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики. ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставрополь. E-mail: karpov25@rambler.ru.

Владимир Александрович Батурин — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой клинической фармакологии с курсом ДПО. ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставрополь. E-mail: prof.baturin@gmail.com

Юлиана Александровна Барбос — заочный аспирант кафедры офтальмологии с курсом ДПО. ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставрополь. eLibrary SPIN: 4430-2577. E-mail: juliana_alex-na@mail.ru.

Information about the authors

Nina L. Cherednichenko — MD, PhD, Assistant Professor, Head of Department. Ophthalmology Department with Additional Professional Education Course. Stavropol State Medical University of the Ministry of Healthcare of Russia. Stavropol, Russia. E-mail: r6hn@bk.ru.

Sergey M. Karpov — MD, PhD, DMedSc, Professor, Head of Department. Neurology, Neurosurgery and Medical Genetics Department. Stavropol State Medical University of the Ministry of Healthcare of Russia. Stavropol, Russia. E-mail: karpov25@rambler.ru.

Vladimir A. Baturin — MD, PhD, DMedSc, Professor, Head of Department. Clinical Pharmacology Department with Additional Professional Education Course. Stavropol State Medical University of the Ministry of Healthcare of Russia. Stavropol, Russia. E-mail: prof.baturin@gmail.com.

Yuliana A. Barbos — MD, aspirant. Ophthalmology Department with Additional Professional Education course. Stavropol State Medical University of the Ministry of Healthcare of Russia. Stavropol, Russia. eLibrary SPIN: 4430-2577. E-mail: juliana_alex-na@mail.ru.