

ИММУНОАНАЛИЗ ЕСТЕСТВЕННЫХ НЕЙРОТРОПНЫХ АУТОАНТИТЕЛ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ С COVID-19-АССОЦИИРОВАННЫМИ ИШЕМИЧЕСКИМИ ИНСУЛЬТАМИ

Расулова Х.А., Расулова М.А.

Термезский филиал Ташкентской медицинской академии, г. Термез, Республика Узбекистан

Резюме. Цель исследования заключалась в проведении сравнительного анализа содержания естественных нейротропных аутоантител (еАТ) в сыворотке крови больных с COVID-19-ассоциированными ишемическими инсультами (ИИ) в динамике заболевания.

Всего в проспективное исследование были включены 150 больных с впервые возникшим ИИ, из которых 100 пациентов были с ИИ на фоне COVID-19 пневмонии (основная или 1-я группа) и 50 больных с острым ИИ без симптомов и положительного теста на COVID-19 (группа сравнения или 2-я группа). Тяжесть инсульта и сознание оценивались по шкале NIHSS и шкале ком Глазго. Методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови больных (n = 110) были изучены уровни е-АТ IgG к белкам NF-200, GFAP, S100β, ОБМ, рецепторам к дофамину, серотонину, холину, глутамату, ГАМК. Анализ проводили на 5-й, 14-й и 28-й день заболевания.

В 1-й группе (n = 80) увеличились уровни еАТ к NF-200 (132,9±4,1 усл. ед.) в 1,09 и 1,8 раза, GFAP (118,9±3,9 усл. ед.) в 1,4 и 2 раза, S100β (129,5±10,2 усл. ед.) в 1,05 и 1,6 раза, ОБМ (97,3±4,5 усл. ед.) в 1,14 и 1,6 раза, к рецепторам к дофамину (77,9±4,4 усл. ед.) в 1,2 раза и 1,6 раза, серотонину (81,96±3,25 усл. ед.) в 1,2 и 1,4 раза, холину (61,42±3,6 усл. ед.) в 1,4 и 1,8 раза, глутамату (85,28±4,25 усл. ед.) в 1,19 и 1,4 раза, ГАМК (82,4±5,2 усл. ед.) в 1,5 и 1,8 раза соответственно по сравнению с аналогичными показателями во 2-й группе и контроле. Изучение уровня е-АТ у больных с COVID-19-ассоциированными ИИ в динамике заболевания показал наибольший прирост уровня е-АТ на 28-е сутки к белку S-100, NF-200 и ОБМ.

У больных с COVID-19-ассоциированными ишемическими инсультами выявлена более усиленная продукция сывороточных аутоантител к нейробелкам и рецепторам нейромедиаторов, что сопровождало более худшее течение ИИ и может рассматриваться как предиктор неблагоприятного исхода заболевания.

Ключевые слова: COVID-19, нейроиммунология, ишемический инсульт, нейротропные аутоантитела, сыворотка крови, динамика заболевания

Адрес для переписки:

Расулова Хуршидахон Абдубориевна
Термезский филиал Ташкентской медицинской академии
132000, Республика Узбекистан, г. Термез,
ул. И. Каримова, 64.
Тел.: +998 90 9101550.
E-mail: khurshidakhon@gmail.com

Address for correspondence:

Khurshidakhon A. Rasulova
Termez Affiliation of Tashkent Medical Academy
64 I. Karimov St
Termez
132000 Republic of Uzbekistan
Phone: +998 90 9101550.
E-mail: khurshidakhon@gmail.com

Образец цитирования:

Х.А. Расулова, М.А. Расулова «Иммуноанализ естественных нейротропных аутоантител в сыворотке крови больных с COVID-19-ассоциированными ишемическими инсультами» // Медицинская иммунология, 2024. Т. 26, № 6. С. 1257-1268.
doi: 10.15789/1563-0625-IAO-2888

© Расулова Х.А., Расулова М.А., 2024

Эта статья распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

Kh.A. Rasulova, M.A. Rasulova "Immune analysis of natural neurotropic autoantibodies in blood serum of patients with COVID-19 associated ischemic stroke", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2024, Vol. 26, no. 6, pp. 1257-1268.
doi: 10.15789/1563-0625-IAO-2888

© Rasulova Kh.A., Rasulova M.A., 2024

The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-IAO-2888

IMMUNE ANALYSIS OF NATURAL NEUROTROPIC AUTOANTIBODIES IN BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH COVID-19 ASSOCIATED ISCHEMIC STROKE

Rasulova Kh.A., Rasulova M.A.

Termez Affiliation of Tashkent Medical Academy, Termez, Republic of Uzbekistan

Abstract. The aim of the present study was to perform a comparative quantitative analysis of natural neurotropic autoantibodies (Nabs) in blood serum of patients with COVID-19 associated ischemic strokes (IS) in dynamics of disease.

A total of 150 consecutive patients with acute primary IS were included, being divided in two groups: 100 patients with IS on the background of COVID-19 pneumonia (main group No. 1) and 50 patients with IS without COVID-19 symptoms and positive viral test (comparison group No. 2). The stroke severity and consciousness were measured by NIHSS and Glasgow coma scale. In blood serum of patients ($n = 110$), we have studied the levels of IgG Nabs to NF-200, GFAP, S100 β , MBP, receptors to dopamine, serotonin, choline, glutamate, GABA by means of ELISA technique. The blood samples for analyses were taken at the 5th, 14th and 28th days of disease.

In group 1 ($n = 80$), the Nabs levels have been increased as follows: antibodies to NF-200 (132.9 ± 4.1 CU), by 1.09 and 1.8 times; for GFAP (118.9 ± 3.9 CU), by 1.4 and 2 times; S100 β antibodies (129.5 ± 10.2 CU), by 1.05 and 1.6 times; MBP antibodies (97.3 ± 4.5 CU) were 1.14 and 1.6 times higher; antibodies to dopamine receptors (77.9 ± 4.4 CU) in 1.2 and 1.6 times; to serotonin receptors (81.96 ± 3.25 CU) in 1.2 and 1.4 times; choline receptor antibodies (61.42 ± 3.6 CU) were increased 1.4- and 1.8-fold; to glutamate (85.28 ± 4.25 CU) by 1.19 and 1.4 times; to GABA (82.4 ± 5.2 CU) the increase was 1.5- and 1.8-fold, respectively, when compared with group 2 and controls. The time-dependent monitoring of Nabs level in patients with COVID-19 associated ischemic stroke showed the highest increase in Nabs to the S-100, NF-200 and MBP proteins at the day +28 following the brain stroke.

In patients with COVID-19 associated IS, more enhanced production of serum autoantibodies to neuroproteins and neurotransmitter receptors was detected, which accompanied a worse course of IS and can be considered as a predictor of unfavorable outcome of disease.

Keywords: COVID-19, neuroimmunology, ischemic stroke, neurotropic autoantibodies, blood serum, disease dynamics

Введение

Неврологические синдромы, обусловленные продукцией антител к нервной ткани при коронавирусной инфекции COVID-19, являются новой областью современной клинической неврологии, вызывающей большой интерес с теоретических и практических позиций. Заметно влияя на иммунную систему, COVID-19 обуславливает аутоиммунные и метаболические перестройки, которые происходят в организме человека при попадании инфекции как в остром, так и отдаленном (постковидном) периоде [9, 23, 24, 26].

Одним из хорошо задокументированных дополнительных клинических проявлений COVID-19 являются острые нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) [7, 21]. Ишемический инсульт (ИИ), вторичный по отношению к тяжелому COVID-19, является распространенным явлением и часто приводит к летальному ис-

ходу. Изучение механизмов, с помощью которых SARS-CoV-2 вызывает ИИ, стало популярной темой исследований. Еще первым L. Мао и соавт. (2020) продемонстрировали, что у пациентов с тяжелым течением COVID-19 чаще развивались осложнения ИИ, которые были связаны с более высокими показателями смертности [23].

Известно, что различные функциональные состояния организма сопровождаются сдвигами в содержании естественных аутоантител (e-АТ), связанными с изменением обменных процессов ключевых эндогенных мишеней развития заболевания или обеспечивающих физиологическую норму. Подобные исследования по анализу содержания e-АТ проводились при различных неврологических и психиатрических заболеваниях: ишемический [2, 11, 15, 16] и геморрагический инсульт [29], эпилепсия [14], шизофрения и психозы [10], деменции, болезнь Альцгеймера [5, 6], хроническая алкогольная интоксикация [1], ней-

родегенеративные заболевания [17, 18], энцефалиты [19] и другие.

Значительная вариабельность патогенетических событий, возникающих при COVID-19, обуславливает полиорганность поражения, в развитии которой определенную роль могут играть и иммунопатогенные свойства SARS-CoV-2. Аутоантитела, встречающиеся при ряде аутоиммунных заболеваний, были обнаружены у пациентов с COVID-19 [20, 22, 25, 27]. Исследователи выявили наличие антинуклеарных антител (ANA), антицитоплазматических нейтрофильных антител (ANCA) и антиантифосфолипидных (APL) антител у пациентов с COVID-19. Результаты показали, что 45% пациентов были положительными по крайней мере на одно аутоантитело, а пациенты с положительными аутоантителами имели тенденцию иметь худший прогноз и значительно более высокую частоту дыхания при поступлении. Положительный показатель для ANA составил 33%, положительный показатель для антикардиолипидных антител (IgG и/или IgM) составил 24%, а у трех пациентов были получены положительные результаты на антитела против β 2-гликопротеина-I (IgG и/или IgM) (9%). Однако ANCA был отрицательным у всех пациентов [13, 20, 28].

Анализ содержания e-AT, которые сохраняют все изменения системы эндогенных биорегуляторов у больных с COVID-19-ассоциированными ИИ, позволят решить задачу диагностики и лечения неврологических синдромов при COVID-19.

Цель исследования заключалась в проведении сравнительного анализа содержания естественных нейротропных аутоантител в сыворотке крови больных с COVID-19-ассоциированными ИИ в динамике заболевания.

Материалы и методы

В основу клинического исследования вошли результаты наблюдения за 150 больными в остром и раннем восстановительном периодах ИИ, из которых 100 пациентов были с ИИ на фоне COVID-19-пневмонии (основная группа, или 1-я группа) и 50 больных – с острым ИИ без симптомов и положительного теста на COVID-19 (группа сравнения, или 2-я группа). Клинические исследования проводились в отделениях реанимации и интенсивной терапии, неврологии Специализированных многопрофильных инфекционных больниц Зангиота-1 и Зангиота-2, а также Городской клинической больницы № 5 г. Ташкента в период 2020-2022 гг.

Возраст пациентов 1-й группы составил от 41 до 89 лет (средний возраст – $68,3 \pm 9,8$ года) и во

2-й группе – от 42 до 83 лет (средний возраст – $64,2 \pm 10,2$ года).

Контрольная группа состояла из 16 лиц без инсульта и COVID-19 в возрасте от 50 до 68 лет (средний возраст $61,2 \pm 5,7$ года) с дисциркуляторной энцефалопатией 1-й стадии, данные которых применялись для сравнения иммунологических показателей.

Критериями включения в исследование больных основной группы явились впервые возникший острый ИИ, перенесенная коронавирусная инфекция COVID-19 в течение до 1 месяца; группы сравнения: впервые возникший острый ИИ, отсутствие клинических симптомов и положительного теста на COVID-19, отсутствие COVID-19 инфекции до начала ИИ (включены больные, заболевшие ИИ до марта 2020 г.).

Критерии исключения больных из исследования: геморрагический инсульт, поздний восстановительный период и последствия ИИ, повторный инсульт, наличие нейрокогнитивных расстройств до COVID-19 и инсульта, нейродегенеративные и экстрапиримидные заболевания, тяжелая ЧМТ, эпилепсия, психические и онкологические болезни, тяжелые соматические заболевания в стадии декомпенсации.

Все больные подвергались детальному клинико-неврологическому обследованию по классической методике. Оценка сознания и степень выраженности его нарушения проводилась по шкале ком Глазго. Выраженность неврологического дефицита и степень тяжести ИИ оценивалась по Шкале тяжести инсульта Национальных институтов здоровья США (National Institutes of Health Stroke Scale – NIHSS). Оценка состояния больных проводилась однократно на момент первичного осмотра в клиниках на 1-5-е, 14-е, 28-е сутки заболевания.

Формулировка диагноза «COVID-19-ассоциированный ИИ» осуществлялась на основании результатов эпидемиологического анамнеза, клинико-неврологического осмотра и данных лабораторно-инструментального исследования в соответствии с критериями МКБ-10 (U07.1 – U07.2), Национального руководства по неврологии и общепринятых документов (European Stroke Organisation (ESO) Executive Committee; ESO Writing Committee, Guidelines for management of ischemic stroke and transient ischemic attack, 2008), Временных методических рекомендаций Минздрава России «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции COVID-19» [3, 4]. Для выявления COVID-19 пневмоний, их осложнений, дифференциальной диагностики с другими заболеваниями легких, а также для определения степени выраженности

и динамики изменений, оценки эффективности проводимой терапии проводилась МСКТ грудной клетки. Согласно стандартам обследования для уточнения характера патологического процесса и исключения геморрагического инсульта всем пациентам при поступлении в клиники выполнялась КТ головного мозга.

Базовое лабораторное исследование стационарных пациентов включало стандартные общеклинический и биохимический анализы крови, развернутую коагулограмму, общий анализ мочи. Согласно Протоколам диагностики COVID-19, также исследовали уровни С-реактивного белка (СРБ), прокальцитонина, D-димера, ферритина, фибриногена, триглицеридов. Основное значение для этиологической лабораторной диагностики COVID-19 имело выявление иммуноглобулинов классов М и G (IgM и IgG) с применением иммунохимических методов. Основным видом биоматериала для лабораторного исследования методом ПЦР на РНК SARS-CoV-2 являлся материал, полученный при заборе мазка из носоглотки (из двух носовых ходов) и ротоглотки. Мазки со слизистой оболочки носоглотки и ротоглотки собирались в одну пробирку для большей концентрации вируса.

В образцах сыворотки крови всех наблюдавшихся пациентов с ИИ, а также в образцах крови контрольной группы ($n = 16$) проводилось количественное определение сывороточной иммунореактивности нейротропных аутоантител класса IgG (естественных нейротропных аутоантител — е-АТ1 и их функциональных противовесов — антиидиотипических антител — АиАТ2), направленных к белкам нервной ткани NF-200, GFAP, S-100, ОБМ, рецепторам к дофамину Доф-Р, серотонину Сер-Р, холину Хол-Р, глутамату Глу-Р и ГАМК-Р, а также к вольтажзависимым кальциевым каналам.

Определение содержания нейротропных аутоантител (НААТ) проводилось с помощью стандартных процедур твердофазного иммуноферментного анализа ЭЛИ-Н-Тест и одноименных тест-наборов производства МИЦ «Иммункулус» (Россия) по методике А.Б. Полетаева [11, 12]. Уровень сывороточного содержания е-АТ к каждому из нейроантигенов выражался в условных единицах (усл. ед.): процентах отклонений от ИР сыворотки-стандарта. За норму принимали значения иммунореактивности аАТ от 80 до 140 усл. ед., индекс иммунореактивности АТ1/АиАТ2 от 0,8 до 1,2 [14].

Полученные результаты фиксировались в индивидуальных регистрационных картах пациентов и затем вносились в электронную базу данных программы Microsoft Excel 2010. Применялись

общепринятые методы вариационной статистики. Результаты представлены в виде M (среднее значение) $\pm m$ (ошибка) и μ (среднее значение) \pm (стандартное отклонение). После подтверждения нормальности распределения данных анализ количественных показателей проводился с помощью t -критерия Стьюдента. Различия считались статистически достоверными при уровне значимости не менее 95% ($p < 0,05$). Степень связи между полученными показателями определяли по уравнению регрессии, учитывая силу связи и ее направление с помощью вычисления коэффициента корреляции (r) по Пирсону.

Результаты и обсуждение

В таблице 1 представлены сравнительные данные измерения нейротропных е-АТ в кровотоке обследованных лиц с COVID-19-ассоциированными ИИ, включая контрольную группу и группу ИИ без COVID-19. Анализ образцов сыворотки крови в перечисленных группах проводили в соответствии срокам сбора крови больных (5-й, 14-й и 28-й день).

При изучении особенностей сывороточной иммунореактивности наблюдавшихся нами больных мы использовали тест-систему, представленную четырьмя белками, непосредственно связанными с функциями нервных клеток: белком NF-200, белком GFAP (белок промежуточных филаментов астроцитов), белком S-100 (кальций-зависимый регулятор многих клеточных функций, метаболических процессов в нервной ткани, в частности нейротрофический фактор серотонинергических нейронов, регулятор апоптоза) и основным белком миелина (ОБМ).

Белок NF-200 является специфическим белком аксонов. Рост е-АТ нему сопровождается процессы дегенерации нервных волокон (в том числе при диабетической нейропатии) [12]. Проведенный анализ результатов иммунологического мониторинга позволил установить достоверное увеличение уровня е-АТ к белку NF-200 у всех обследованных больных 1-й и 2-й группы ($132,9 \pm 4,1$ vs $121,56 \pm 2,8$ усл. ед. соответственно) в 1,8 и 1,6 раза соответственно по сравнению с параметрами, полученными для лиц контрольной группы ($72,88 \pm 6,83$ усл. ед.) ($p < 0,001$) (табл. 1). При этом отмечалась тенденция к более высокому приросту е-АТ у больных 1-й группы в 1,09 раза ($p < 0,05$) от значений 2-й группы, что может свидетельствовать о выраженных дегенеративных изменениях аксонов при ИИ на фоне COVID-19 (рис. 1).

Астроглиальный белок GFAP является главным структурным компонентом промежуточных

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ЕСТЕСТВЕННЫХ НЕЙРОТРОПНЫХ АУТОАНТИТЕЛ ($M \pm m$) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ОБСЛЕДОВАННЫХ БОЛЬНЫХ С ИИ (УСЛ. ЕД.)

TABLE 1. INDICATORS OF NATURAL NEUROTROPIC AUTOANTIBODIES ($M \pm m$) IN THE BLOOD SERUM OF THE EXAMINED PATIENTS WITH ISCHEMIC STROKES (CU)

Значения е-АТ Value of autoantibodies	COVID-19 + ИИ COVID-19 + IS (n = 50)	ИИ IS (n = 30)	Контроль Control (n = 16)	p
NF-200	132,9±4,1	121,56±2,80	72,88±6,83	< 0,001
GFAP	118,9±3,9	82,70±3,42	57,88±5,49	< 0,001
S-100	129,5±10,2	122,8±4,9	77,47±7,32	< 0,001
ОБМ MBP	97,3±4,5	85,56±3,40	58,76±5,36	< 0,001
Доф-Р Dop-R	77,9±4,4	63,16±3,80	46,94±4,79	< 0,001
Сер-Р Ser-R	81,96±3,25	63,8±2,8	56,16±4,49	< 0,001
Хол-Р Chol-R	61,42±3,60	42,23±1,80	33,89±3,15	< 0,001
Глу-Р Glu-R	85,28±4,25	71,26±4,00	57,19±4,77	< 0,001
ГАМК-Р GABA-R	82,4±5,2	53,3±3,3	45,38±4,77	< 0,001
Ca²⁺-каналы Ca²⁺ channel	105,08±4,00	87,7±3,8	45,5±2,5	< 0,001

Примечание. p – достоверность значений по отношению к контрольной группе.

Note. p, the reliability of the values relative to the control group.

филаментов астроцитов. Изменения его экспрессии наблюдаются при различных патологических процессах, вовлекающих глию головного мозга (глиоз как следствие ишемических поражений, следствие кровоизлияний, травмы, токсических воздействий и др.) [2, 8, 12]. Уровень иммунореактивности белка GFAP и количества GFAP-позитивных клеток является маркером нейрональной потери в разных молекулярных слоях гиппокампа вплоть до зубчатой извилины, указывая на тесную связь между нейрональной и глиальной дисфункцией [11]. У всех больных ИИ происходило достоверное увеличение уровня е-АТ к белку GFAP в отличие от группы контроля (57,88±5,49 усл. ед.) в 2 и 1,1 раза соответственно 1-й и 2-й группы (p < 0,001) (табл. 1). Наибольший прирост е-АТ отмечался в 1-й группе (118,9±3,9 усл. ед.) в 1,4 раза в сравнении с показателями 2-й группы (82,7±3,42 усл. ед.) (p < 0,05) (рис. 1). Увеличение уровня GFAP является чувствительным маркером повреждения мозга, степень повышения которого была связана с тяжестью инсульта и развитием COVID-19-

пневмонии. Рост антител к GFAP сопровождается аномально активной пролиферацией клеток астроглии (глиоз), что может являться исходом перенесенного инфаркта (повреждения) мозга и воспалительных процессов в центральной нервной системе.

Белок S-100 – нейроспецифическая изоформа белка S-100, является Ca²⁺-связывающим белком и трофическим фактором для серотонинергических нейронов. Синтезируется глией и имеет преимущественную локализацию в цитоплазме астроцитов. Имеются данные о том, что функции S-100 связаны с регуляцией проницаемости ионных каналов (стимулирует увеличение уровня внутриклеточного кальция в нейронах), а также с механизмами обучения, памяти, эмоционально-мотивационных реакций, т. е. интегративной деятельностью мозга [8, 10, 11]. Кроме того, поскольку S-100 белки во внеклеточном секторе проявляют свойства цитокинов и взаимодействуют с RAGE-рецепторами, которые экспрессируются в нервной системе не только нейронами, микроглией и астроцитами, но и

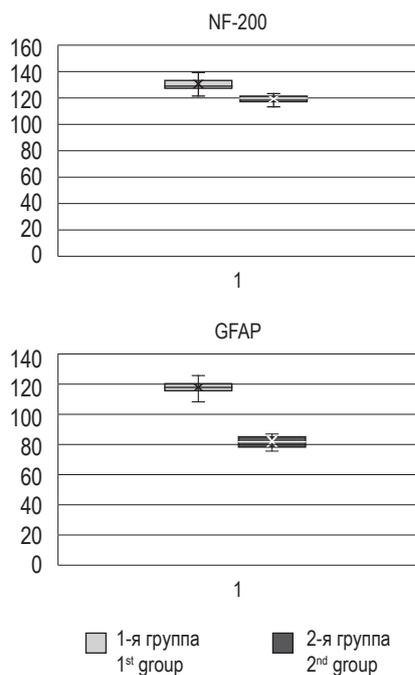


Рисунок 1. Сравнительное содержание аутоантител к белкам NF-200 и GFAP в сыворотке крови обследованных больных (усл. ед.)

Figure 1. Comparative content of autoantibodies to proteins NF-200 and GFAP in the blood serum of the examined patients (CU)

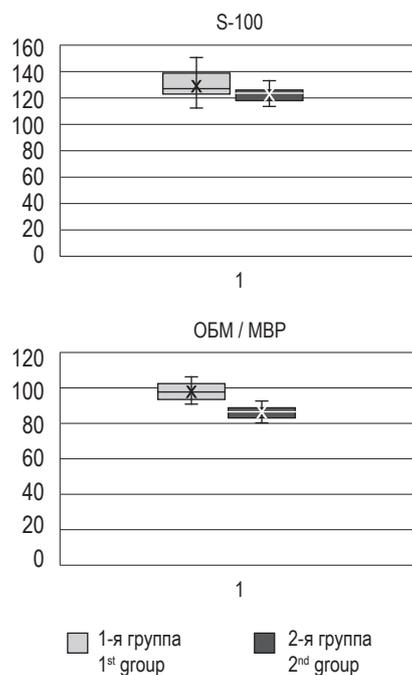


Рисунок 2. Сравнительное содержание аутоантител к белкам S-100 и ОБМ в сыворотке крови обследованных больных (усл. ед.)

Figure 2. Comparative content of autoantibodies to proteins S-100 and MBP in blood serum of the examined patients (CU)

клетками сосудистой стенки, можно предположить вовлеченность в воспалительную реакцию и сосудистой сети [18]. Больные с COVID-19-ассоциированными ИИ достоверно отличались по индивидуальному сывороточному уровню е-АТ к белку S-100 ($129,5 \pm 10,2$ усл. ед.) с тенденцией к увеличению их содержания в 1,05 и 1,6 раза по сравнению со 2-й группой ($122,8 \pm 4,9$ усл. ед.) и контролем ($77,47 \pm 7,32$) ($p < 0,001$) (табл. 1). При этом уровень е-АТ к S-100 во 2-й группе был выше значений контроля в 1,5 раза ($p < 0,05$) (рис. 2).

Основной белок миелина (ОБМ) — белок миелиновых оболочек нервных волокон. ОБМ является основной мишенью патологических аутоиммунных процессов, сопровождающих демиелинизирующие заболевания нервной системы. Рост АТ к нему типичен для невритов (радикулоневритов). ОБМ обеспечивает быстрое проведение нервного импульса по аксонам, которые он окружает [20, 29]. Нами был выявлен наибольший разброс показателей иммунореактивности по уровню е-АТ к ОБМ. Так, наибольшее достоверное ($p < 0,001$) повышение титра е-АТ к ОБМ наблюдали в 1-й группе ($97,3 \pm 4,5$ усл. ед.) в 1,6 раза в сравнении с контро-

лем ($58,76 \pm 5,36$ усл. ед.) и в 1,14 раза по сравнению со 2-й группой ($85,56 \pm 3,4$ усл. ед.) (табл. 1). Во 2-й группе было зарегистрировано увеличение уровня е-АТ к ОБМ в 1,4 раза в сравнении с контролем ($p < 0,001$) (рис. 2).

С помощью ЭЛИ-Н-теста производилась недифференцированная оценка сывороточного содержания е-АТ к разным изоформам соответствующих рецепторов (А- и В-ГАМК-рецепторы; глутаматные NMDA- и AMPA-рецепторы; D1...D5 дофаминовые рецепторы; 5-N1...5-N7 рецепторы серотонина, холинорецепторы). Зафиксировано повышение индивидуального уровня сывороточной иммунореактивности всех е-АТ к рецепторам нейромедиаторов. Так, в 1-й группе титры е-АТ к Доф-Р повышались ($77,9 \pm 4,4$ усл. ед.) в 1,2 раза и 1,6 раза, Сер-Р ($81,96 \pm 3,25$ усл. ед.) в 1,2 и 1,4 раза, Хол-Р ($61,42 \pm 3,6$ усл. ед.) в 1,4 и 1,8 раза соответственно по сравнению с аналогичными показателями во 2-й группе ($63,16 \pm 3,8$ усл. ед.; $63,8 \pm 2,8$ усл. ед. и $42,23 \pm 1,8$ усл. ед. соответственно) и контроле ($46,94 \pm 4,79$ усл. ед.; $56,16 \pm 4,49$ усл. ед. и $33,89 \pm 3,15$ усл. ед. соответственно) ($p < 0,001$) (табл. 1). При этом уровни е-АТ к Доф-Р, Сер-Р и Хол-Р во 2-й группе и контроле достоверно различались в 1,3; 1,1 и 1,2 раза со-

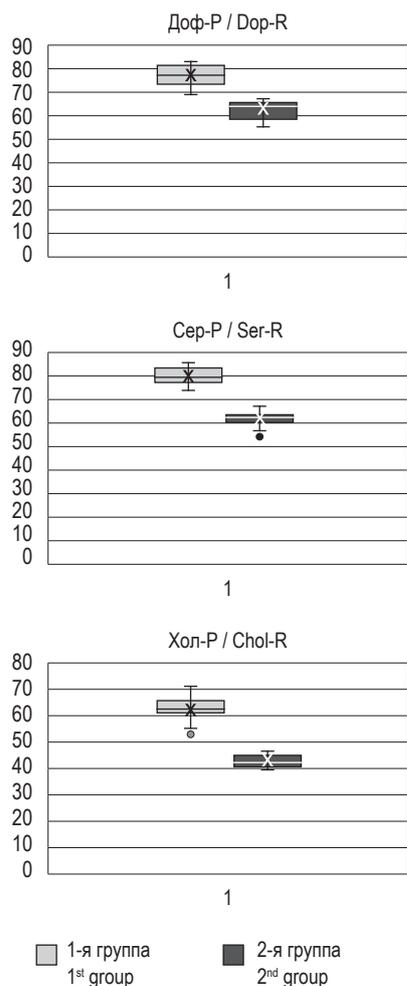


Рисунок 3. Сравнительное содержание аутоантител к дофаминовым (Доф-Р), серотониновым (Сер-Р) и холинорецепторам (Хол-Р) в сыворотке крови обследованных больных (усл. ед.)

Figure 3. Comparative content of autoantibodies to dopamine (Dop-R), serotonin (Ser-R) and cholinergic receptors (Chol-R) in the blood serum of the examined patients (CU)

ответственно ($p < 0,05$) (рис. 3). Аномальное повышение e-АТ к лиганд-связывающему сайту рецепторов нейромедиаторов указывает на изменения в соответствующих системах нейронов. В частности, Хол-Р участвуют в регуляции вегетативных функций, а также когнитивных функций и памяти.

Известно, что медиаторами физиологических процессов возбуждения и торможения являются глутаминовая (глутамат) и гамма-аминомасляная кислоты (ГАМК). Именно эти аминокислоты обеспечивают гуморальную связь иммунной и нейроэндокринной систем с головным мозгом [8, 17]. Указанные биомолекулы имеют наибольшее значение при возникновении стрес-

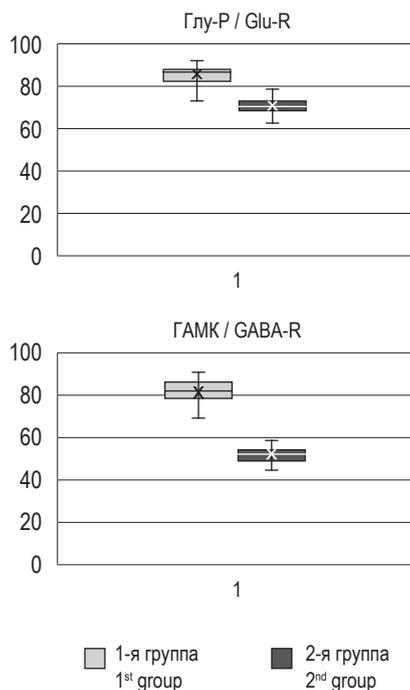


Рисунок 4. Сравнительное содержание аутоантител к глутаматным (Глу-Р) и ГАМК рецепторам (ГАМК-Р) (усл. ед.)

Figure 4. Comparative content of autoantibodies to glutamate (Glu-R) and GABA receptors (GABA-R) (CU)

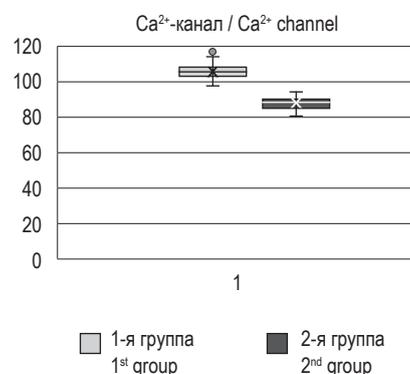


Рисунок 5. Сравнительное содержание аутоантител к белку вольтажзависимых кальциевых каналов (усл. ед.).

Figure 5. Comparative content of autoantibodies to the protein of voltage-dependent calcium channels (CU)

совых реакций организма, передаче импульсов боли, отвечают за полноценное дыхание, сохранение памяти, способности к обучению и др. [17, 19]. Проведенный иммуноанализ позволил установить достоверное увеличение уровня e-АТ к Глу-Р и ГАМК-Р у обследованных больных ИИ

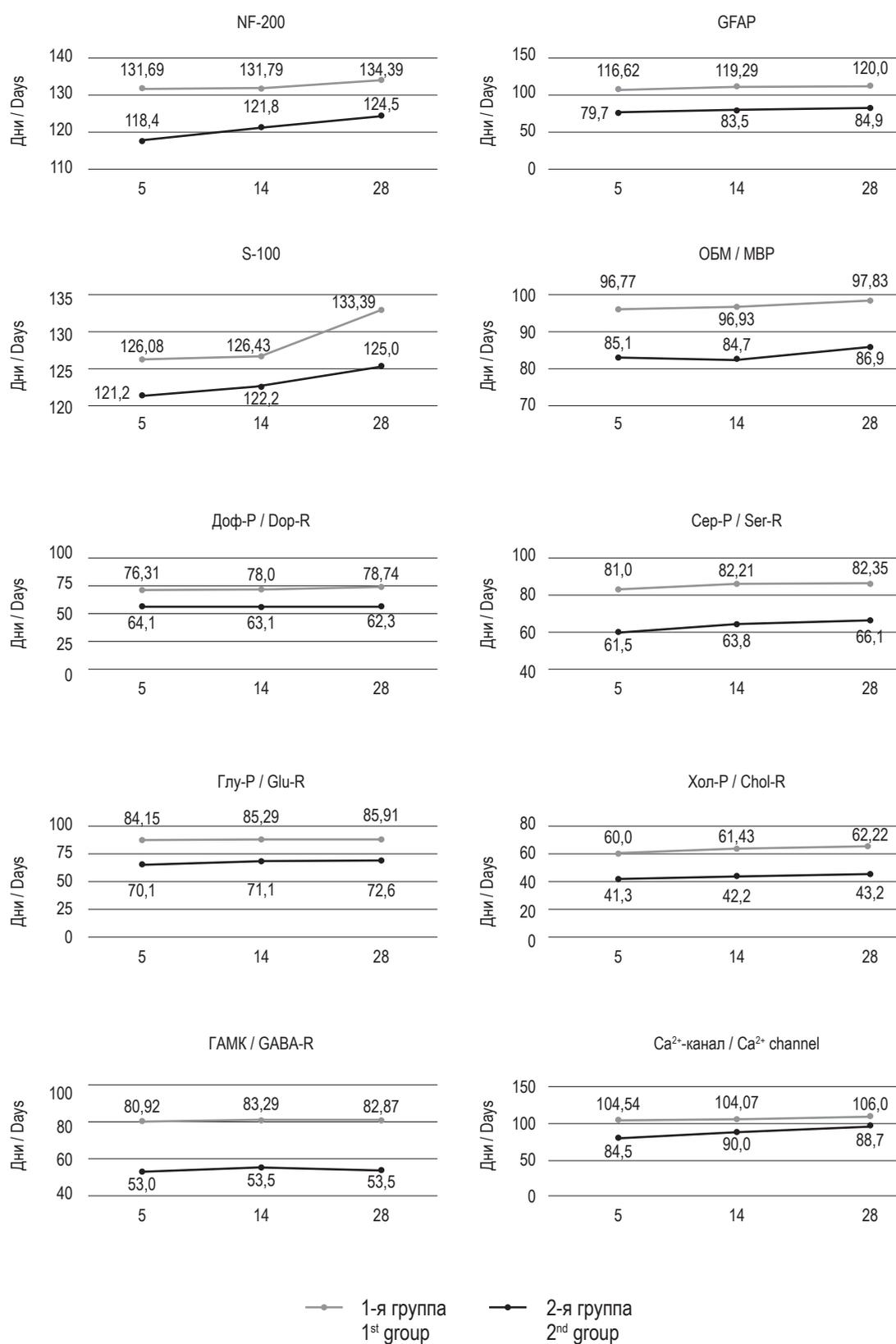


Рисунок 6. Динамика изменений сывороточного уровня нейротропных аутоантител у больных с COVID-19-ассоциированными ИИ (усл. ед.)

Figure 6. Dynamics of changes in the serum level of neurotropic autoantibodies in patients with COVID-19 associated IS (CU)

по сравнению с параметрами, полученными для лиц контрольной группы. Наибольший прирост е-АТ к исследованным биомолекулам отмечался у больных с COVID-19-ассоциированными ИИ: к Глу-Р ($85,28 \pm 4,25$ усл. ед.) в 1,19 и 1,4 раза, ГАМК-Р ($82,4 \pm 5,2$ усл. ед.) в 1,5 и 1,8 раза соответственно по сравнению с аналогичными показателями во 2-й группе ($71,26 \pm 4,0$ усл. ед. и $53,3 \pm 3,3$ усл. ед. соответственно) и контроле ($57,19 \pm 4,77$ усл. ед. и $45,38 \pm 4,77$ усл. ед. соответственно) ($p < 0,001$) (табл. 1). При этом уровни е-АТ к Глу-Р и ГАМК-Р во 2-й группе были достоверно выше значений контроля в 1,2 и 1,1 раза соответственно ($p < 0,05$) (рис. 4). Возрастание содержания е-АТ к Глу-Р и ГАМК-Р свидетельствует о нарушении процессов возбуждения и торможения в нервной системе.

Нами было выявлено достоверное повышение е-АТ к белку вольтажзависимых кальциевых каналов (Ca^{2+} -каналов) у больных ИИ, указывающее на нарушение нервно-мышечной проводимости. Причем уровни е-АТ в 1-й группе ($105,08 \pm 4,0$ усл. ед.) превышали значения 2-й группы ($87,5 \pm 3,9$ усл. ед.) в 1,2 раза ($p < 0,001$) и в 2,31 раза показатели контроля ($45,5 \pm 2,5$ усл. ед.) ($p < 0,05$) (табл. 1). Во 2-й группе было зарегистрировано увеличение уровня е-АТ к Ca^{2+} -каналам в 1,9 раза в сравнении с контролем ($p < 0,05$) (рис. 5). Можно предположить, что это объясняется нарушениями синаптической трансмиссии при инсульте, особенно на фоне COVID-19.

Изучение уровня е-АТ у больных с COVID-19-ассоциированными ИИ в динамике заболевания показал наибольший прирост уровня е-АТ на 28-е сутки к белку S-100 (возрастал в 1,1 раза в сравнении с 5-ми и 14-ми сутками и значениями 2-й группы), NF-200 (возрастал в 1,1 раза в сравнении с 5-ми сутками и значениями 2-й группы) и ОБМ (возрастал в 1,1 раза в сравнении с 5-ми сутками и значениями 2-й группы). Уровни е-АТ к другим нейромедиаторам не имели существенных различий в динамике инсульта, хотя достоверно превышали значения 2-й группы и контроля (рис. 6). На наш взгляд, повышение уровня е-АТ к белку S-100 в динамике может обуславливать спектр нейropsychических проявлений COVID-19 от обратимой активации до формирования глиального рубца, что подтверждено некоторыми исследованиями [24], с сохранением воспалительной реакции в сосудистой сети. Прирост е-АТ к белку NF-200 в динамике может свидетельствовать о прогрессировании дегенеративных изменений аксонов при ИИ на фоне COVID-19. ОБМ, являясь основной мишенью аутоиммунных нарушений, может обуславливать прогрессирование демиелинизирующих процессов в нервной си-

стеме. Это выражается более длительным сохранением двигательных, чувствительных и речевых нарушений у данной группы больных.

Таким образом, результаты иммунологического мониторинга позволили установить наличие изменения уровня естественных аутоантител к нейромедиаторам у больных с COVID-19-ассоциированными ИИ по сравнению с параметрами, полученными для больных ИИ без COVID-19 и лиц контрольной группы. Увеличение уровня нейротропных антител у больных с ИИ, особенно на фоне COVID-19-пневмонии, является косвенным доказательством усиленной выработки нейромедиаторов, задействованных в процессе стабилизации гомеостатического равновесия и нейровоспалительных, аутоиммунных процессов.

Выводы

1. У больных с COVID-19-ассоциированными ишемическими инсультами выявлены различия в содержании естественных нейротропных аутоантител в сыворотках крови в сравнении с больными с ИИ без COVID-19. У больных с ИИ на фоне COVID-19 пневмонии выявлена более усиленная продукция сывороточных аутоантител к нейробелкам и рецепторам нейромедиаторов, что сопровождало более худшее течение ИИ и может рассматриваться как предиктор неблагоприятного исхода заболевания.

2. Изучение уровня е-АТ у больных с COVID-19-ассоциированными ИИ в динамике заболевания показало наибольший прирост уровня е-АТ на 28-е сутки к белку S-100, NF-200 и ОБМ, что вполне может объяснить разнообразие симптомов COVID-19 и длительные последствия коронавирусной инфекции (постковидные синдромы) у больных, перенесших острые цереброваскулярные катастрофы.

3. Исследование нейротропных аутоантител с помощью ЭЛИ-Нейро-теста может служить дополнительным методом иммунологического мониторинга состояния нервной системы при COVID-19. Изученные аутоантитела могут служить в качестве нейровоспалительных, нейроиммунных, нейрокогнитивных, нейродегенеративных маркеров для уточнения диагноза, выявления тяжести и прогнозирования течения ишемического церебрального инсульта на фоне COVID-19.

4. Полученные свидетельства участия естественных нейротропных антител расширяют существующие в настоящее время представления о дисрегуляторных механизмах нейроиммунных взаимодействий при COVID-19 и в дальнейшем

могут являться основой для разработки дополнительной иммунотерапии при данном заболевании.

Заявление о конфликте интересов

Исследование не имело спонсорской поддержки. Конфликт интересов отсутствует. Авто-

ры несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

Список литературы / References

1. Абдуллаева М.И. Естественные нейротропные аутоантитела к нейрорецепторам при хронической алкогольной интоксикации // Вестник ТМА, 2019. № 2. С. 50-53. [Abdullayeva M.I. Natural neurotropic autoantibodies to neuroreceptors at chronic alcohol intoxication. *Vestnik TMA = Bulletin of the Tashkent Medical Academy*, 2019, Vol. 2, pp. 50-53. (In Russ.)]
2. Алферова В., Гехт Б., Поletaев А.В., Абросимова А.А., Беликова Л.П., Чумакова А.А., Николаева Т.Я., Гусев Е.И. Нейротропные естественные аутоантитела класса IgG в сыворотке крови больных с ишемическим инсультом // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова, 2008. Т. 108, № 1. С. 56-60. [Alferova V.V., Gekht A.B., Poletaev A.B., Abrosimova A.A., Belikova L.P., Chumakova A.A., Nikolaeva T.Ia., Gusev E.I. Natural neurotrophic IgG autoantibodies in the blood serum of patients with different clinical outcomes after ischemic stroke. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova = S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*, 2008, Vol. 108, no. 1, pp. 56-60. (In Russ.)]
3. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», версия 10, утверждены Минздравом России, 08.02.2021. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/054/662/original/Vremennye_MP_COVID-19_%28v.10%29.pdf. [Temporary guidelines "Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19)", version 10, approved by the Ministry of Health of Russia, 08.02.2021]. [Electronic resource]. Access mode: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/054/662/original/Vremennye_MP_COVID-19_%28v.10%29.pdf.
4. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», версия 15, утверждены Минздравом России, 22.02.2022. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/059/392/original/BMP_COVID-19_V15.pdf. [Temporary guidelines "Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19)", version 15, approved by the Ministry of Health of Russia, 22.02.2022]. [Electronic resource]. Access mode: на https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/059/392/original/BMP_COVID-19_V15.pdf.
5. Горбатов В.Ю., Фомина В.Г., Давыдова Т.В. Влияние антител к глутамату на память крыс с экспериментальной болезнью Альцгеймера // Нейроиммунология, 2009. Т. 8, № 1. С. 26-27. [Gorbatov V.Yu., Fomina V.G., Davydova T.V. The effect of antibodies to glutamate on the memory of rats with experimental Alzheimer's disease. *Neyroimmunologiya = Journal of Neuroimmunology*, 2009, Vol. 8, no. 1, pp. 26-27. (In Russ.)]
6. Давыдова Т.В., Воскресенская Н.И., Горбатов В.Ю., Фомина В.Г., Доронина О.А., Максимова И.В. Особенности образования аутоантител к глутамату при деменциях альцгеймеровского типа // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2009. Т. 147, № 4. С. 385-387. [Davydova T.V., Voskresenskaya N.I., Gorbatov V.Yu., Fomina V.G., Doronina O.A., Maksimova I.V. Features of the formation of autoantibodies to glutamate in Alzheimer's type dementia. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2009, Vol. 147, no. 4, pp. 385-387. (In Russ.)]
7. Заболотная С.В., Боголепова А.Н., Таирова Р.Т. COVID-19-ассоциированный инсульт // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски, 2021. Т. 121, № 8-2. С. 5-10. [Zabolotnaya S.V., Bogolepova A.N., Tairova R.T. COVID-19-associated stroke. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova = S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*, 2021, Vol. 121, no. 8-2, pp. 5-10. (In Russ.)]
8. Мягкова М.А., Петроченко С.Н., Орлова Е.А. Анализ естественных антител к глутамату и ГАМК для оценки тренировочного процесса спортсмена // Современные проблемы науки и образования. 2018. № 5. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=27984>. [Myagkova M.A., Petrochenko S.N., Orlova E.A. Analysis of natural antibodies to glutamate and GABA for evaluation of the training process of the athlete. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*, 2018, no. 5. [Electronic resource]. Access mode: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=27984>. (In Russ.)]
9. Насонов Е.Л., Бекетова Т.В., Решетняк Т.М., Лила А.М., Ананьева Л.П., Лисицына Т.А., Соловьев С.К. Коронавирусная болезнь 2019 (COVID-19) и иммуновоспалительные ревматические заболевания: на перекрестке проблем тромбовоспаления и аутоиммунитета // Научно-практическая ревматология, 2020. Т. 58, № 4. С. 353-367. [Nasonov E.L., Beketova T.V., Reshetnyak T.M., Lila A.M., Ananieva L.P., Lisitsyna T.A., Solov'yev S.K. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) and immunoinflammatory rheumatic diseases: at the intersection of thrombotic inflammation and autoimmunity // *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*, 2020. T. 58, No. 4. P. 353-367. (In Russ.)]

Soloviev S.K. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) and immune-mediated inflammatory rheumatic diseases: at the crossroads of thromboinflammation and autoimmunity. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*, 2020, Vol. 58, no. 4, pp. 353-367. (In Russ.)]

10. Орлова В.А., Михайлова И.И., Минутко В.Л., Симонова А.В., Погодина Е.А. Аномалии уровней сывороточных аутоантител к антигенам нервной ткани у больных шизоаффективным психозом: связь с вирусами группы герпеса // Доктор Ру, 2020. Т. 19, № 4. С. 43-49. [Orlova VA, Mikhailova II, Minutko VL, Simonova AV, Pogodina EA. Abnormal Serum Levels of Autoantibodies to Neural Tissue Antigens in Patients with Schizoaffective Psychosis: Relationship with Herpes Viruses. *Doktor Ru = Doctor.Ru*, 2020, Vol. 19, no. 4, pp. 43-49. (In Russ.)]

11. Полетаев А.Б., Алферова В.В., Абросимова А.А., Комиссарова И.А., Соколов М.А., Гусев Е.И. Естественные нейротропные аутоантитела и патология нервной системы // Нейроиммунология, 2003. № 1 (1). С. 11-17. [Poletaev A.B., Alferova V.V., Abrosimova A.A., Komissarova I.A., Sokolov M.A., Gusev E.I. Natural neurotropic autoantibodies and pathology of the nervous system. *Neuroimmunologiya = Journal of Neuroimmunology*, 2003, Vol. 1, no. 1, pp. 11-17. (In Russ.)]

12. Полетаев А.Б. Иммунофизиология и иммунопатология. М.: МИА, 2008. 207 с. [Poletaev A.B. Immunophysiology and immunopathology]. Moscow: MIA, 2008. 207 p.

13. Петриков С.С., Боровкова Н.В., Попугаев К.А., Сторожева М.В., Квасников А.М., Годков М.А. Аутоантитела к интерферону альфа и их значение при COVID-19 // Инфекция и иммунитет, 2022. Т. 12, № 2. С. 279-287. [Petrikov S.S., Borovkova N.V., Popugaev K.A., Storozheva M.V., Kvasnikov A.M., Godkov M.A. Anti-interferon alpha autoantibodies and their significance in COVID-19. *Infection and Immunity = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, Vol. 12, no. 2, pp. 279-287. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-AAA-1789.

14. Расулова Х.А., Азизова Р.Б. Естественные нейротропные аутоантитела в сыворотке крови больных, страдающих эпилепсией // Вестник Российской академии медицинских наук, 2014. № 5-6. С. 111-115. [Rasulova Kh.A., Azizova R.B. Natural neurotropic autoantibodies in blood serum of epilepsy patients. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2014, Vol. 5-6, pp. 111-115. (In Russ.)]

15. Романова Г.А., Шакова Ф.М., Горбатов В.Ю., Квашенникова Ю.Н., Давыдова Т.В. Антитела к глутамату при экспериментальном ишемическом повреждении головного мозга // Нейроиммунология, 2009. Т. 8, № 1. С. 89. [Romanova G.A., Shakova F.M., Gorbatov V.Yu., Kvashennikova Yu.N., Davydova T.V. Antibodies to glutamate in experimental ischemic brain injury. *Neuroimmunologiya = Journal of Neuroimmunology*, 2009, Vol. 8, no. 1, p. 89. (In Russ.)]

16. Черний В.И., Городник Г.А., Куглер С.Е. Оценка степени повреждения мозговой ткани методом иммунохимического анализа в острейшем периоде ишемического инсульта // Международный неврологический журнал, 2014. № 4 (66). С. 53-58. [Cherniy V.I., Gorodnik G.A., Kugler S.E. Assessment of brain tissue damage level using immuchemical assay in peracute ischemic stroke. *Mezhdunarodnyy neurologicheskiy zhurnal = International Journal of Neurology*, 2014, no. 4 (66), pp. 53-58. (In Russ.)]

17. Ariño H., Gresa-Arribas N., Blanco Y., Martínez-Hernández E., Sabater L., Petit-Pedrol M., Rouco I., Bataller L., Dalmau J.O., Saiz A., Graus F. Cerebellar ataxia and glutamic acid decarboxylase antibodies: immunologic profile and long-term effect of immunotherapy. *JAMA Neurol.*, 2014, Vol. 71, no. 8, pp. 1009-1016.

18. Arumugam T., Simeone D.M., Schmidt A.M., Logsdon C.D. S100P stimulates cell proliferation and survival via receptor for activated glycation products (RAGE). *J. Biol. Chem.*, 2004, Vol. 279, no. 7, pp. 5059-5065.

19. Boronat A., Sabater L., Saiz A., Dalmau J., Graus F. GABA(B) receptor antibodies in limbic encephalitis and anti-GAD-associated neurologic disorders. *Neurology*, 2011, Vol. 76, no. 9, pp. 795-800.

20. Crowe J.E. Jr. Human antibodies for viral infections. *Annu. Rev. Immunol.*, 2022, Vol. 40, pp. 349-386.

21. Dhamoon M.S., Thaler A., Gururangan K., Kohli A., Sisniega D., Wheelwright D., Mensching C., Fifi J.T., Fara M.G., Jette N., Cohen E., Dave P., DiRisio A.C., Goldstein J., Loebel E.M., Mayman N.A., Sharma A., Thomas D.S., Vega Perez R.D., Weingarten M.R., Wen H.H., Tuhirim S., Stein L.K.; Mount Sinai Stroke Investigators*. Acute Cerebrovascular Events With COVID-19 Infection. *Stroke*, 2021, Vol. 52, no. 1, pp. 48-56.

22. Dotan A., Muller S., Kanduc D., David P., Halpert G., Shoenfeld Y. The SARS-CoV-2 as an instrumental trigger of autoimmunity. *Autoimmun Rev.*, 2021, Vol. 20, no. 4, pp. 102792. doi: 10.1016/j.autrev.2021.102792.

23. Mao L., Jin H., Wang M., Hu Y., Chen S., He Q., Chang J., Hong C., Zhou Y., Wang D., Miao X., Li Y., Hu B. Neurologic manifestations of hospitalized patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol.*, 2020, Vol. 77, no. 6, pp. 683-690.

24. Nepal G., Rehrig J.H., Shrestha G.S., Shing Y.K., Yadav J.K., Ojha R., Pokhrel G., Tu Z.L., Huang D.Y. Neurological manifestations of COVID-19: a systematic review. *Crit. Care*, 2020, Vol. 24, no. 1, 421. doi: 10.1186/s13054-020-03121-z.

25. Pantaleo G., Correia B., Fenwick C., Joo V.S., Perez L. Antibodies to combat viral infections: development strategies and progress. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2022, Vol. 21, no. 9, pp. 676-696.

26. Sarioglu E., Yilmaz Sarialtin S., Çoban T. Neurological complications and potential effects of COVID-19: Symptoms and conceivable mechanisms. *Brain Hemorrhages*, 2023. doi: 10.1016/j.hest.2023.02.001.

27. Vabret N., Britton G.J., Gruber C., Hegde S., Kim J., Kuksin M., Levantovsky R., Malle L., Moreira A., Park M.D., Pia L., Risson E., Saffern M., Salomé B., Esai Selvan M., Spindler M.P., Tan J., van der Heide V., Gregory J.K., Alexandropoulos K., Bhardwaj N., Brown B.D., Greenbaum B., Gümüş Z.H., Homann D., Horowitz A., Kamphorst A.O., Curotto de Lafaille M.A., Mehandru S., Merad M., Samstein R.M.; Sinai Immunology Review Project. Immunology of COVID-19: Current State of the Science. *Immunity*, 2020, Vol. 52, no. 6, pp. 910-941.

28. van der Linden J., Almskog L., Liliequist A., Grip J., Fux T., Rysz S., Ågren A., Oldner A., Ståhlberg M. Thromboembolism, hypercoagulopathy, and antiphospholipid antibodies in critically ill Coronavirus disease 2019 patients: a before and after study of enhanced anticoagulation. *Crit. Care Explor.*, 2020, Vol. 2, no. 12, e0308. doi: 10.1097/CCE.0000000000000308.

29. Wąsik N., Sokół B., Hołysz M., Mańko W., Juszkat R., Jagodziński P.P., Jankowski R. Serum myelin basic protein as a marker of brain injury in aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurochir. (Wien)*, 2020, Vol. 162, no. 3, pp. 545-552.

Авторы:

Расулова Х.А. — д.м.н., доцент, заместитель директора по научным работам и инновациям, Термезский филиал Ташкентской медицинской академии, г. Термез, Республика Узбекистан

Расулова М.А. — соискатель кафедры медицинской психологии, неврологии и психиатрии, Термезский филиал Ташкентской медицинской академии, г. Термез, Республика Узбекистан

Authors:

Rasulova Kh.A., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Termez Affiliation of Tashkent Medical Academy, Termez, Republic of Uzbekistan

Rasulova M.A., Research Fellow, Department of Medical Psychology, Neurology and Psychiatry, Termez Affiliation of Tashkent Medical Academy, Termez, Republic of Uzbekistan

Поступила 05.07.2023
Отправлена на доработку 10.10.2023
Принята к печати 19.10.2023

Received 05.07.2023
Revision received 10.10.2023
Accepted 19.10.2023