

## Oligoklonalna IgG oraz podklasy IgG w chorobach układu nerwowego o podłożu immunologicznym: znaczenie w diagnostyce oraz ocenie wyników leczenia

*Oligoclonal IgG and IgG subclasses in the CNS diseases of immunological origin:  
their role in the diagnostics and treatment outcome evaluation*

JACEK LOSY

Z Katedry i Kliniki Neurologii AM w Poznaniu

**STRESZCZENIE.** *W pracy przedstawiono współczesne poglądy na zmiany w zakresie IgG płynu mózgowo-rdzeniowego w przebiegu niektórych chorób układu nerwowego, głównie o podłożu immunologicznym. Omówiono zmiany w podklasach IgG oraz praktyczne znaczenie badania oligoklonalnych pasm w obrębie tej immunoglobuliny. (red.)*

**SUMMARY.** *Current views on the cerebrospinal fluid IgG changes in the course of some CNS diseases of immunological origin mostly, are overviewed. Changes in IgG subclasses are discussed, as well as the practical value of examination of oligoclonal bands within this immunoglobulin (ed.)*

---

**Słowa kluczowe:** choroby immunologiczne o.u.n. / diagnostyka / OIGG / podklasy IgG

**Key words:** immunological diseases of the CNS / diagnostics / OIGG / IgG subclasses

---

Wśród współczesnych metod w diagnostyce chorób układu nerwowego istotną rolę odgrywają badania immunologiczne. Przedmiotem niniejszego opracowania jest znaczenie wykrywania oligoklonalnej IgG, jak również oceny stężenia podklas IgG w diagnostyce oraz ocenie wyników leczenia niektórych chorób układu nerwowego o podłożu immunologicznym.

### OLIGOKLONALNA IgG (OIGG)

Oligoklonalna IgG jest wynikiem syntezy IgG w obrębie ośrodkowego układu nerwowego (o.u.n.) [25]. Kilka klonów komórkowych (stąd nazwa oligoklonalna) jest stymulowanych do syntezy IgG przez antygen, którym może być zarówno czynnik infekcyjny, jak i czynnik pochodzący z układu nerwowego w chorobach o podłożu autoimmunologicznym. Wynikiem syntezy OIGG

w ośrodkowym układzie nerwowym jest wzrost jej stężenia w płynie mózgowo-rdzeniowym, gdzie może być wykrywana przy pomocy metod rozdziału białek płynu mózgowo-rdzeniowego, takich jak elektroforeza czy izoelektroogniskowanie.

Podczas izoelektroogniskowania białka rozdzielane są w gradiencie pH zgodnie z ich punktem izoelektrycznym. Porównując z elektroforezą, izoelektroogniskowanie ma większą czułość w wykrywaniu OIGG. Badanie przeprowadzane jest w poliakrylamidzie lub agarozie, przy czym ta ostatnia metoda bywa preferowana z uwagi na toksyczność poliakrylamidu. Po izoelektroogniskowaniu przeprowadza się immunofiksację, w celu odróżnienia OIGG od pasm nie będących IgG, które mogą pojawić się w tym samym rejonie pH. Rozdzielone białka uwiadaczają się przy pomocy czułych metod ich wykrywania, takich jak srebrzenie

lub *immunoblotting* [21, 23]. W *immunoblotting*, po rozdziale białek przy pomocy elektroforezy lub izoelektroogniskowania, przenosi się je na błonę nitrocelulozową i wykrywa OI<sub>g</sub>G przy pomocy przeciwciał przeciwko IgG. Czulość systemu można zwiększyć wprowadzając drugie – biotynylowane przeciwciało oraz kompleks awidyna-biotyna w sprzężeniu z enzymem, np. peroksydazą lub alkaliczną fosfatazą. Umożliwia to wykrycie OI<sub>g</sub>G przy użyciu zaledwie 5  $\mu$ l płynu mózgowo-rdzeniowego zawierającego 125 ng IgG [13]. Zaleca się równoczesne badanie płynu mózgowo-rdzeniowego i surowicy, w celu uniknięcia fałszywie pozytywnych rezultatów. Zdarza się, że OI<sub>g</sub>G pojawia się w czasie ogólnoustrojowej infekcji i z surowicy przenika do płynu mózgowo-rdzeniowego i może być mylnie interpretowana jako odzwierciedlenie syntezy w obrębie o.u.n.

### Stwardnienie rozsiane

U pacjentów z klinicznie pewnym stwardnieniem rozsianym (SM), OI<sub>g</sub>G wykrywa się u 90–95% chorych. Rozkład oligoklonalnych pasm w rozdziale elektroforetycznym lub w następstwie izoelektroogniskowania nie zmienia się w czasie choroby i jest charakterystyczny dla danego pacjenta z SM. Nie stwierdzono korelacji między występowaniem OI<sub>g</sub>G a wiekiem chorych i długością trwania choroby [5].

U około 10% pacjentów z SM nie stwierdza się OI<sub>g</sub>G w płynie mózgowo-rdzeniowym. Zjawisko to koreluje, jak wykazał Farrell i wsp. [8], z niewielką liczbą lub brakiem plazmocytoów w obrębie ognisk demielinizacji lub opon mózgowo-rdzeniowych pacjentów z SM. Ta grupa pacjentów rokuje, zdaniem niektórych badaczy, lepiej niż pacjenci z obecnością OI<sub>g</sub>G w płynie mózgowo-rdzeniowym. Znaczenie prognostyczne OI<sub>g</sub>G przejawia się również w ocenie ryzyka rozwoju SM u pacjentów z pozagąłkowym zapaleniem nerwów wzrokowych. Ci pacjenci, u których stwierdza się obecność OI<sub>g</sub>G, mają większe ryzyko rozwoju SM, niż ci, u których nie stwierdza się

tej zmiany [10]. Znaleziono korelację pomiędzy częstością występowania oligoklonalnych pasm IgG w płynie mózgowo-rdzeniowym a zmianami w układzie nerwowym wykrywanymi przy pomocy magnetycznego rezonansu jądrowego [9]. Obecność OI<sub>g</sub>G w badaniach Pirtil i wsp. [24] korelowała pozytywnie z odsetkiem limfocytów T pomocniczych oraz negatywnie z odsetkiem limfocytów T supresorowych w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów z SM.

Wykazano także związek pomiędzy niektórymi antygenami układu HLA: HLA-Dw2, HLA-DR2 a występowaniem OI<sub>g</sub>G w SM, choć dane te w niektórych badaniach nie zyskały potwierdzenia [30].

Poza płynem mózgowo-rdzeniowym oraz rzadziej surowicą, występowanie OI<sub>g</sub>G stwierdzono także we łzach pacjentów z SM. W badaniach Coyle i wsp. [6], oligoklonalne pasma IgG były obecne we łzach u 14 wśród 21 badanych pacjentów z SM.

### Inne choroby o.u.n

Występowanie IgG nie jest zjawiskiem swoistym dla SM. Jej występowanie stwierdza się z różną częstotliwością u pacjentów z innymi chorobami układu nerwowego. Ma to ważne znaczenie w diagnostyce różnicowej SM, przy posługiwaniu się w rozpoznaniu badaniami płynu mózgowo-rdzeniowego z uwzględnieniem OI<sub>g</sub>G.

Choroby, w których stwierdzano obecność OI<sub>g</sub>G można podzielić na dwie grupy: choroby związane ze zmianami zapalnymi, jak np. SSPE, gruźlicze zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, kiła układu nerwowego, toczeń układowy oraz bez zmian zapalnych, wśród których najpowszechniejszy jest udar mózgu. W przeciwieństwie do sytuacji w stwardnieniu rozsianym, gdzie specyficzność przeciwciał w obrębie OI<sub>g</sub>G jest nadal niewyjaśniona, OI<sub>g</sub>G w SSPE, kile układu nerwowego czy gruźliczym zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych zawiera głównie przeciwciała skierowane specyficznie odpowiednio w stosunku do wirusa odry, *Treponema pallidum* czy *Mycobacterium tuberculosis*.

W toczeniu układowym z towarzyszącymi zmianami w układzie nerwowym, obecność OIGG w płynie mózgowo-rdzeniowym wykazano w około 40% przypadków. W zespole Guillain-Barré, u jednej trzeciej pacjentów stwierdzano oligoklonalne pasma IgG w płynie mózgowo-rdzeniowym i stosunkowo często także w surowicy. W kile układu nerwowego prowadzone przez nas badania wykazały obecność OIGG w płynie mózgowo-rdzeniowym u 7 wśród 15 badanych pacjentów [19]. Obecność OIGG specyficznej w stosunku do wirusa HIV stwierdzono w płynie mózgowo-rdzeniowym u 14 wśród 16 badanych pacjentów z zespołem AIDS [3]. OIGG specyficzną dla wirusa HTLV-1 wykazano zarówno w płynie mózgowo-rdzeniowym, jak i surowicy u pacjentów z tropikalnym spastycznym niedowładem kończyn, potwierdzając rolę wirusa HTLV-1 w etiologii tej choroby [4].

OIGG stwierdza się również, choć znacznie rzadziej, w niezapałnych chorobach układu nerwowego. Wymienić tu można padaczkę, guzy mózgu, chorobę Parkinsona, syringomyelię, stwardnienie boczne zanikowe. Nasuwa to podejrzenie, że w części przypadków w przebiegu tych chorób mogą być obecne zaburzenia o charakterze autoimmunologicznym.

Kostulas i wsp. [13] obserwowali występowanie OIGG u 11% pacjentów z chorobami naczyniowymi układu nerwowego. OIGG zanika w tych przypadkach po kilku miesiącach. Inna sytuacja ma miejsce w przypadku niepowikłanego świnkowego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych [11], gdzie OIGG może utrzymywać się nawet powyżej 2 lat od wystąpienia choroby.

### Wpływ leczenia

W chorobach takich, jak stwardnienie rozsiane, badania dotyczące wpływu leczenia steroidami na OIGG przyniosły niejednoznaczne wyniki. Część badaczy nie obserwowwała żadnych zmian, tak co do liczby, jak też intensywności oligoklonalnych prążków w płynie mózgowo-rdzeniowym [1, 2].

Inni [7, 31] donosili o zmniejszeniu intensywności lub nawet zaniku niektórych oligoklonalnych prążków pod wpływem zastosowanego leczenia. W prowadzonych przez nas badaniach [18], w grupie 15 pacjentów z SM leczonych wysokimi dawkami Encortonu, począwszy od 200 mg na dobę, u trzech obserwowano wyraźne zmniejszenie intensywności oligoklonalnych prążków w płynie mózgowo-rdzeniowym. W grupie 20 pacjentów z SM leczonych azatiopryną przez 3 miesiące, tylko u jednego pacjenta zauważono zmniejszenie intensywności OIGG. W obu grupach pod wpływem leczenia liczba prążków nie uległa zmianie, a także nie zmienił się wzór rozdziału prążków. Leczenie SSPE izoprinozyną lub interferonem alfa także nie miało wpływu na oligoklonalne pasma IgG [22].

Tak więc, o ile znaczenie OIGG w diagnostyce chorób układu nerwowego jest wyraźne, to nie jest ona czułym miernikiem wpływu zastosowanego leczenia [18].

### PODKLASY IgG

W 1964 roku Terry i Fahey [30] oraz Gray i Kunkel [12] wykazali, że IgG składa się z czterech podklas. Poszczególne podklasy: IgG1, IgG2, IgG3 oraz IgG4 różnią się budową, właściwościami fizyko-chemicznymi oraz biologicznymi [15]. Największą masę cząsteczkową posiada podklasa IgG3 – 170 000, w odróżnieniu od pozostałych podklas o masie cząsteczkowej 146 000. O ile istnieje duża zgodność pomiędzy stałymi domenami poszczególnych podklas IgG, największe różnice strukturalne między nimi dotyczą tzw. regionów zawiasowych i polegają na ich odmiennej długości oraz zmiennej liczbie mostków dwusiarczkowych. Poszczególne podklasy różnią się także miejscem przyłączenia łańcucha lekiego do ciężkiego.

W cząsteczce IgG1 łańcuch lekki łączy się z ciężkim w pobliżu środka tego łańcucha, w pozostałych podklasach łańcuch lekki łączy się z łańcuchem ciężkim bliżej końca

aminowego. Podklasy IgG różnią się też stosunkiem łańcuchów kappa do lambda, punktem izoelektrycznym oraz wrażliwością na działanie enzymów trawiących: papainy, pepsyny oraz trypsyny.

IgG1 stanowi około 70% całkowitej IgG w surowicy, IgG2 około 20%, IgG3 – 6%, IgG4 – 4% [26]. Wszystkie podklasy IgG przechodzą przez łożysko z matki do płodu, zapewniając odporność na kilka pierwszych miesięcy życia dziecka. Proces ten wymaga aktywnego transportu i odbywa się z udziałem receptorów na powierzchni syncytiotrofoblastu. Dużą zdolność aktywacji dopełniacza posiadają podklasy IgG1 oraz IgG3, niewielką IgG2, a nie posiada jej podklasa IgG4. Podklasy IgG1 oraz IgG3 posiadające największą zdolność do aktywacji dopełniacza, mogą brać udział w zjawiskach autoimmunologicznych, wiążąc się z własnymi antygenami ustroju i tworząc kompleksy antygen-przeciwciała, odkładane w różnych tkankach ustroju. Istnieje przybliżona zależność pomiędzy rodzajem antygeny a syntezą określonych podklas IgG, stymulowaną przez ten antygen. Pod wpływem niektórych antygenów, tzw. T niezależnych, przede wszystkim osłonek wielocukrowych bakterii, w wyniku stymulacji limfocytów B, powstają przeciwciała głównie podklasy IgG2. Antygeny białkowe bakterii stymulują powstawanie przeciwciał w podklasie IgG1. W infekcjach wirusowych, np. wirusem świnki, półpaśca, cytomegalowirusem, stymulowana jest synteza przeciwciał głównie IgG1 oraz IgG3 [28]. Pod wpływem czynników alergicznych stymulowane są głównie przeciwciała podklasy IgG4. W początkowym okresie badań nad podklasami IgG, w ich oznaczeniach stosowano przeciwciała poliklonalne zwrócone przeciwko tym podklasom. Przeciwciała te charakteryzowały się jednak małą swoistością. Istotny przełom w badaniach nad podklasami IgG nastąpił, kiedy stało się możliwe wyprodukowanie przeciwciał monoklonalnych przeciwko podklasom IgG, które reagują tylko z jedną determinantą antygenową danej podklasy. Przeciwciała te w połą-

czeniu z czułymi metodami radioimmunologicznymi, względnie immunoenzymatycznymi, umożliwiają dokładną ocenę stężenia poszczególnych podklas IgG w płynach ustrojowych.

### Stwardnienie rozsiane

W stwardnieniu rozsianym obserwuje się istotny wzrost stężenia podklas IgG1 i IgG3 w płynie mózgowo-rdzeniowym. W prowadzonych przez nas badaniach [14] stężenie IgG1 w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów z SM było dziesięciokrotnie, a IgG3 trzykrotnie większe niż w grupie kontrolnej. IgG1 była dominującą podklasą stanowiącą 86% całkowitej IgG płynu mózgowo-rdzeniowego pacjentów z SM. Wzrost stężenia IgG1 oraz IgG3 był związany z intratekalną syntezą tych podklas u pacjentów z SM. Wskaźnik IgG1 był podwyższony u 86% chorych (u 84% pacjentów z postacią choroby z rzutami i remisjami i u 90% chorych z postacią choroby przewlekłe postępującą). Wskaźnik IgG3 był podwyższony u 89% chorych (u 92% pacjentów z postacią choroby z rzutami i remisjami i u 80% chorych z postacią choroby przewlekłe postępującą). Ogólny wskaźnik IgG był podwyższony u 69% chorych. Tak więc wskaźniki IgG1 oraz IgG3 okazują się być znacznie czulsze w ocenie syntezy immunoglobulin w ośrodkowym układzie nerwowym pacjentów z SM, niż ogólny wskaźnik IgG, co ma istotne znaczenie diagnostyczne, zważywszy, że ocena wskaźnika IgG odgrywa istotną rolę w diagnozie choroby.

Podklasy IgG1 i IgG3 są związane z patogenezą SM. Obie podklasy silnie aktywują dopełniacz [27]. Mogą się one także wiązać z jednej strony z makrofagami i monocytami, a z drugiej strony z antygenami osłonki mielinowej, biorąc udział w immunofagocytocie mielinowej.

### Inne choroby o.u.n

Wzrost stężenia podklas IgG1 i IgG3 nie jest zjawiskiem swoistym dla stwardnienia rozsianego. W płynie mózgowo-rdzeniowym u pacjentów z kiłą układu nerwowego obser-

wowaliśmy także wzrost stężenia podklasy IgG1. Wartości stężeń były tu jednak niższe w porównaniu z grupą chorych na stwardnienie rozsiane. Stężenia IgG3 nie różniły się między sobą w obu grupach istotnie.

Ogólny wskaźnik IgG był podwyższony u 46% pacjentów z kiłą układu nerwowego. U 20% pacjentów ze stwardnieniem bocznym zanikowym wskaźnik IgG był także podwyższony, co wskazuje na możliwość autoimmunologicznych reakcji przynajmniej u części pacjentów z tym schorzeniem. Także i tu obserwowano zaburzenia w zakresie podklas IgG zarówno w surowicy, jak i w płynie mózgowo-rdzeniowym [20].

### Wpływ leczenia

Wpływ leczenia SM prednizonem na podklasy IgG przejawiał się obniżeniem stężenia podklas IgG1, IgG3 i IgG4 w płynie mózgowo-rdzeniowym, co dawało statystycznie znamienne obniżenie IgG oraz obniżeniem wskaźnika IgG, wynikającym przede wszystkim z obniżenia syntezy IgG1 oraz IgG3 [17].

W odniesieniu do wpływu azatiopryny u pacjentów z SM, jej oddziaływanie sprawdzało się do obniżenia stężeń podklas IgG1 i IgG2 w płynie mózgowo-rdzeniowym, natomiast nie stwierdziliśmy wpływu na wewnątrzpłynową syntezę IgG, także analizowaną na poziomie każdej z jej podklas [16]. Dostrzega się tu wyraźną różnicę w porównaniu z leczeniem enkortonem, wpływającym w istotny sposób na zmniejszenie syntezy IgG. Wobec zauważalnych zmian na poziomie podklas IgG, nie można wykluczyć pewnego wpływu azatiopryny na humoralne procesy immunologiczne badanych chorych, niemniej jednak wpływ ten wydaje się być ograniczony.

Jak dowodzą przeprowadzone badania, oznaczanie podklas IgG w płynie mózgowo-rdzeniowym i surowicy krwi wraz z oceną ich wewnątrzpłynowej syntezy, może przyczynić się do wnikliwej oceny wpływu zastosowanego leczenia na układ immunologiczny chorych na SM oraz, jak należy sądzić, inne choroby neurologiczne o podłożu immunologicznym.

### PIŚMIENNICTWO

1. Baumhefner R. i wsp.: Modulation of de novo central nervous system synthesis with preservation of oligoclonal IgG in MS. *Neurology* 1979, 29, 549.
2. Brooks B.R. i wsp.: Cerebrospinal fluid (CSF) myelin basic protein (MBP) in multiple sclerosis (MS) – effect of prolonged high single dose alternate drug prednisone therapy. *Neurology* 1977, 29, 548.
3. Bukasa K. i wsp.: Anti-HIV antibodies in the CSF of AIDS patients. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 1988, 51, 1063.
4. Ceroni M. i wsp.: Intrathecal synthesis of IgG antibodies to HTLV-1 supports etiological role for HTLV-1 in tropical spastic paraparesis. *Ann. Neurol.* 1988, 23, 188.
5. Christensen O. i wsp.: Relationship between abnormal IgG index, oligoclonal bands, acute phase reactants and some clinical data in multiple sclerosis. *J. Neurol.* 1978, 218, 237.
6. Coyle P. i wsp.: Oligoclonal IgG in tears. *Neurology* 1987, 37, 853.
7. Durelli D. i wsp.: High-dose intravenous methylprednisolone in the treatment of multiple sclerosis: Clinical-immunologic correlations. *Neurology* 1986, 36, 238.
8. Farell M. i wsp.: Oligoclonal bands in multiple sclerosis: clinical pathologic correlation. *Neurology* 1985, 35, 212.
9. Farlow M. i wsp.: Magnetic resonance imaging in multiple sclerosis: Analysis of correlations to peripheral blood and spinal fluid abnormalities. *Neurology* 1987, 37, 1527.
10. Franciota D. i wsp.: More on oligoclonal bands and diagnosis of multiple sclerosis. *Clin. Chemistry* 1989, 35, 337.
11. Fryden A., Link H.: Predominance of oligoclonal IgG type lambda in CSF in aseptic meningitis. *Arch. Neurol.* 1979, 36, 478.
12. Grey H., Kunkel H.: H chain subgroups of myeloma proteins and normal 7S gamma globulin. *J. Exp. Med.* 1964, 120, 253.
13. Kostulas V. i wsp.: Oligoclonal IgG bands in cerebrospinal fluid. Principles for demonstration and interpretation based on findings in 1114 neurological patients. *Arch. Neurol.* 1987, 44, 104.
14. Losy J. i wsp.: Podklasy IgG1-IgG4 w płynie mózgowo-rdzeniowym i ich synteza na terenie ośrodkowego układu nerwowego u pacjentów z SM. *Neurol. Neurochir. Pol.* 1992, 3, 297.

15. Losy J.: Znaczenie badań podklas IgG w medycynie. *Nowiny Lekarskie* 1992, 3, 33.
16. Losy J. i wsp.: Wpływ leczenia azatiopryną na podklasy IgG w stwardnieniu rozsianym. *Neurol. Neurochir. Pol.* 1993, 1, 39.
17. Losy J. i wsp.: The effect of large-dose prednisone therapy on IgG subclasses in multiple sclerosis. *Acta Neurol. Scand.* 1994, 89, 69.
18. Losy J. i wsp.: Wpływ leczenia prednizonem i azatiopryną na oligoklonalną IgG w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów ze stwardnieniem rozsianym. *Neurol. Neurochir. Pol.* 1996, 2, 201.
19. Losy J. i wsp.: Podklasy IgG w kile układu nerwowego. *Neurol. Neurochir. Pol.* (w druku).
20. Losy J. i wsp.: IgG subclasses in amyotrophic lateral sclerosis. *Eur. J. Neurology* 1996 (w druku).
21. Mehta P., Patrick B.: Detection of oligoclonal bands in unconcentrated CSF by isoelectric focusing and silver staining. *Neurology* 1983, 33, 1385.
22. Mehta P.D. i wsp.: Effect of treatment on oligoclonal IgG bands and intrathecal IgG synthesis in sequential cerebrospinal fluid and serum from patients with subacute sclerosis panencephalitis. *J. Neurol. Sci.* 1992, 109, 64.
23. Olsson T. i wsp.: Improved detection of oligoclonal IgG in cerebrospinal fluid by agarose isoelectric focusing, double antibody peroxidase and avidin-biotin amplification. *Clin. Chemistry* 1984, 30, 1246.
24. Pirttil T. i wsp.: T lymphocyte subpopulations levels and immunoglobulin changes in the cerebrospinal fluid of patients with neurologic disorders. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1987, 496, 691.
25. Schuller E. i wsp.: IgG synthesis within the central nervous system. Comparison of three formulas. *Arch. Neurology* 1987, 44, 600.
26. Schur P.: Human gamma-G subclasses. *Prog. Clin. Immunol.* 1972, 1, 71.
27. Shakib F., Stanworth D.: Human IgG subclasses in health and disease. *La Ricerca Clin. Lab.* 1980, 10, 463.
28. Skvaril F.: IgG subclasses in viral infections. *Monogr. Allergy* 1986, 19, 134.
29. Terry W., Fahey J.: Subclasses of human gamma 2-globulin based on differences in the heavy polypeptide chains. *Science* 1964, 146, 400.
30. Tiwari J., Terasaki P.: *HLA and Disease Associations*. Springer-Verlag, New York, Berlin, Tokyo 1985.
31. Trotter J.L., Garvey W.F.: Prolonged effects of large dose methylprednisolone infusion in multiple sclerosis. *Neurology* 1980, 30, 702.

*Adres: Dr Jacek Losy, Katedra i Klinika Neurologii AM,  
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań*