

АНТИТЕЛА К ФЕРМЕНТАМ ПУРИНОВОГО МЕТАБОЛИЗМА КАК ОДИН ИЗ ФАКТОРОВ ПОРАЖЕНИЯ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ПРИ СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИИ

Шилова Л. Н., Гонтарь И. П., Зборовская И. А., Москвитина О. В.

НИИ клинической и экспериментальной ревматологии РАМН, Волгоград

Волгоградский государственный медицинский университет Росздрава

УДК 616.5-004.1: 616-097: 615.27 (04)

РЕЗЮМЕ

В крови больных системной склеродермией нами выявлены антитела к аденозиндеаминазе и гуаниндеаминазе, уровень специфических иммуноглобулинов возрастал по мере увеличения активности заболевания. Достоверно более высокие значения антител определялись у больных с симптомами поражения ЖКТ, особенно печени и поджелудочной железы, в то время как активность АДА в крови снижалась, а ГДА — увеличивалась. Одной из причин изменения активности ферментов пуринового метаболизма при ССД, вероятно, могут явиться аутоантитела к ферментам. Антитела определяли в сыворотке крови больных по разработанной нами методике непрямого иммуноферментного анализа с использованием иммобилизованных антигенных форм ферментов.

Ключевые слова: системная склеродермия, аденозиндеаминаза, гуаниндеаминаза, антитела.

SUMMARY

Antibodies to Adenosine Deaminase (AD) and Guanin Deaminase (GDA) were founded in sera of systemic sclerosis (SS) patients, their concentration positive correlated with activity of disease. Increased levels of antibodies to AD and GDA correlated with the severity of gastrointestinal tract injury (especially pancreatitis and hepatitis). It is shown that level of antibodies to AD and GDA differs reliable from contents of these antibodies in sera of healthy persons. It is shown that AD enzymatic activity was decreased, while activity of GDA was increased. The antibodies to enzymes may be one of the possible causes of change of enzymes activity in sera of SS patients. The method of immunoenzyme determination of level of antibodies to AD, G on the basis of immobilized form of magnet sorbent was developed for immune diagnostics of SS.

Keywords: systemic sclerosis, autoantibodies, gastrointestinal tract, Adenosine Dismutase, Guanin Deaminase.

Системная склеродермия (ССД), или системный склероз, — аутоиммунное заболевание соединительной ткани, основные проявления которого связаны с ишемией и фиброзом органов и тканей, характеризуется полисиндромностью поражения и распространенными вазоспастическими нарушениями по типу синдрома Рейно [1].

Поражение желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) развивается у 90 % больных ССД и имеет столь четко очерченную и своеобразную клинико-рентгенологическую картину, что по своей диагностической

значимости иногда выходит на первый план среди других висцеральных проявлений ССД [1, 2]. Дисфункция дистальных отделов пищевода — наиболее часто встречающееся проявление поражения ЖКТ — наблюдается у 80-90 % больных и нередко служит одним из первых симптомов заболевания. Вовлечение пищевода проявляется дисфагией, стойкой изжогой, которая усиливается после приема пищи. Менее известна патология поджелудочной железы и печени при ССД. По данным литературы, в поджелудочной железе при ССД наблюдаются

различные изменения, определяющие нарушение функции органа: фиброз органа, васкулит малых артерий, кровоизлияния, очаговый некроз, утолщение соединительнотканых прослоек и развитие фиброзной соединительной ткани между дольками, атрофия секреторного аппарата железы, склероз сосудов среднего калибра, разрастание и гиалиноз соединительной ткани [3]. Согласно разным источникам, от 40 до 60 % больных ССД имеют признаки хронического панкреатита при ультразвуковом исследовании. Данные об изменении общепринятых лабораторных тестов (например, уровень амилазы) противоречивы. Сведения о патологии печени немногочисленны, по данным литературы, ССД может сочетаться с первичным билиарным циррозом. Таким образом, представляет интерес определение возможных механизмов развития патологии при ССД, а также изучение различных диагностических подходов к определению степени поражения ЖКТ при данной болезни.

В настоящее время известно, что пуриновый обмен, играющий важную роль в поддержании многих функций организма (участие в метаболизме нуклеиновых кислот, регуляции сосудистого тонуса, свертываемости крови и т. д.), участвует в поддержании хронического ревматического воспаления, поэтому важно определить возможные причины нарушения функционирования пуринового метаболизма в организме больных со склеродермическим процессом [4]. Одной из причин нарушения пуринового обмена могут быть аутоантитела к ферментам. Известно, что влияние антител на ферменты неоднозначно: с одной стороны, возможно усиление их функции [5], с другой — полное или частичное угнетение. Одним из ведущих ферментов адениловой ветви пуринового метаболизма является аденозиндезаминаза (АДА, ЕС 3.5.4.4), гуаниловой — гуаниндезаминаза (ГДА, ЕС 3.5.4.3). Изменение активности данных ферментов играет важную роль в организме, отражая нарушения иммунной системы, а также поражение некоторых органов и систем, например увеличение активности ГДА при поражении печени [6].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ: выявление антител к АДА, ГДА в крови больных ССД с поражением ЖКТ с использованием иммобилизированной формы магнитоуправляемого сорбента, определение возможной роли антител к ферментам в развитии патологии при ССД.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением находилось 35 больных с достоверным диагнозом ССД, поставленным на основании критериев АРА и отечественной классификации болезни (Н. Гусева, 1975) и 30 практически здоровых лиц — доноров станции переливания крови, в возрасте от 25 до 47 лет, среди которых 17 женщин и 13 мужчин.

БОЛЬНЫЕ С СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ

Среди обследованных больных ССД было 33 (94,3 %) женщины и 2 (5,7 %) мужчин. Средний возраст больных — $38 \pm 3,3$ года, продолжительность болезни — $14 \pm 2,6$ года. 24 (68,6 %) из наблюдавшихся больных имели лимитированную форму болезни, 11 (31,4 %) — диффузную.

I степень активности установлена у 13 (37,1 %), II — у 21 (60 %), III — у 1 (2,9 %) больного. Хроническое течение выявлено у 14 (40 %) пациентов, подострое — у 20 (57,1 %), острое — у 1 (2,9 %). Больные с подострым и острым течением заболевания, II и III степенями активности в дальнейшем будут рассматриваться в одной группе вследствие малого количества больных с острым течением и III степенью активности. I стадия заболевания (начальная) диагностирована у 9 (25,7 %) больных, II (генерализованная) — у 23 (65,7 %), III (терминальная) — у 3 (8,6 %).

В качестве антигена использовались коммерческие препараты АДА и ГДА производства Sigma, США, с активностью 130 ЕД/мг и концентрацией белка 95,6 и 94,5 мг/мл соответственно. Для определения активности АДА в сыворотке крови использовалась методика R. G. Martinek (1963), ГДА-методика W. T. Caraway (1966). Антитела к ГДА, АДА определяли в сыворотке крови больных по разработанной нами методике непрямого иммуноферментного анализа с использованием иммобилизованных антигенных форм ферментов (И. П. Гонтарь, 2001). Иммобилизацию проводили методом эмульсионной полимеризации в потоке газообразного азота с включением магнитного материала в структуру полиакриламидного геля. Положительными считались результаты, превышающие 2 стандартных отклонения показателей, полученных при обследовании здоровых лиц.

Всем больным проводилось ультразвуковое исследование органов брюшной полости, эзофагогастродуоденоскопия, кроме этого, биохимическое исследование крови: билирубин, трансаминазы, амилаза крови, сахар крови; копрологическое исследование. Все анализы проводились при поступлении и выписке из стационара после завершения лечения.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программных пакетов *Statistica 6.0*, *Excel 5.0*, *Statgraphics 3.0*.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

ЗДОРОВЫЕ ЛИЦА

При исследовании сывороток здоровых лиц уровень антител к АДА составил $0,05 \pm 0,004$, к ГДА — $0,04 \pm 0,002$. Показатели, превышающие эти значения на величину двух стандартных отклонений, были



приняты за верхнюю границу нормы: для АТ к АДА — 0,094, к ГДА — 0,062. Общая активность АДА в группе здоровых лиц составила $8,5 \pm 0,2$ МЕ, ГДА — $1,16 \pm 0,2$ нмоль/мин/мл. Существенных различий уровня антител к энзимам в зависимости от пола, возраста не выявлено.

При поступлении на стационарное лечение у больных ССД (группа в целом) наблюдалось незначительное снижение активности АДА ($8,3 \pm 0,4$, $p > 0,2$), причем отмечалась тенденция к более выраженному снижению активности по мере нарастания активности процесса. У больных ССД (группа в целом) антитела к АДА выявлены у 13 больных (37,14 %). Активность ГДА в крови больных ССД (группа в целом) достоверно отличалась от здоровых лиц ($p < 0,05$) и составила $1,83 \pm 0,02$, причем при минимальной активности практически не отличалась от здоровых и значительно увеличивалась по мере возрастания активности патологического процесса. Антитела к ГДА обнаружены у 12 больных ССД (34,3 %).

В группе больных ССД у 28 (80 %) человек отмечалось поражение ЖКТ, основные симптомы, отмечавшиеся в клинической картине этих пациентов, представлены в табл. 1. При проведении ультразвукового исследования органов брюшной полости у 14 больных (40 %) выявлены признаки поражения печени и поджелудочной железы, в то время как лабораторные тесты (амилаза крови, трансаминазы) изменялись лишь у 7 человек (20 %).

Нами была изучена связь между активностью изучаемых ферментов и уровнем антител к ним (табл. 2) в группе больных с поражением ЖКТ.

Нами получены достоверные изменения уровня антител к ферментам в группе больных с поражением печени и поджелудочной железы при сравнении с группой пациентов, не имеющих подобных поражений ($p < 0,05$) (см. табл. 2). Причем нами получено снижение активности АДА на фоне нарастания уровня антител к ферменту (см. табл. 2). Эти изменения связаны, вероятно, с блокированием активного центра фермента, являющегося одновременно и антигенной детерминантой. Выявленное нами увеличение активности ГДА (см. табл. 2) можно объяснить, вероятно, тем, что антигенные детерминанты и активный центр фермента не совпадают, а в процессе взаимодействия антиген — антитело происходят значительные конформационные изменения молекулы фермента, способствующие более полному присоединению субстрата.

Нами были отдельно выделены группы больных с высоким уровнем антител к изучаемым ферментам (АДА — 13 человек, ГДА — 12) и не имеющих их (АДА — 22 человека, ГДА — 23), а затем проанализирована частота поражения печени и поджелудочной железы в этих группах (табл. 3).

В группах больных с высоким уровнем антител к изучаемым ферментам получено достоверно более частое поражение печени и поджелудочной железы, чем в негативных по изучаемым показателям (табл. 3). Полученные результаты могут свидетельствовать о возможности участия антител к ферментам пуринового метаболизма в развитии тяжелых поражений ЖКТ.

Таблица 1

РАСПРОСТРАНЕНИЕ СИМПТОМОВ ПОРАЖЕНИЯ ЖКТ В ГРУППЕ БОЛЬНЫХ ССД								
Симптомы	Изжога	Дисфагия	Тошнота	Рвота	Боль	Метеоризм	Диарея	Запоры
Кол-во больных	14 (40 %)	28 (80 %)	16 (45,7 %)	6 (17,1 %)	16 (45,7 %)	10 (28,6 %)	7 (20 %)	8 (22,9 %)

Таблица 2

ПОКАЗАТЕЛИ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ (АДА, ГДА) И УРОВНИ АНТИТЕЛ К НИМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ ПОРАЖЕНИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ПЕЧЕНИ						
Контингент	N	Стат. показ.	Активность АДА	АТ к АДА	Активность ГДА	АТ к ГДА
Здоровые	30	M	8,5	0,05	1,16	0,04
		σ	1,1	0,022	1,1	0,011
		m	0,2	0,004	0,2	0,002
С поражением	14	M	5,3*	0,16*	1,7	0,19*
		σ	0,85	0,044	0,29	0,074
		m	0,23	0,012	0,08	0,02
Без поражения	21	M	10,6	0,09	1,3	0,064
		σ	2,48	0,04	0,74	0,023
		m	0,54	0,009	0,16	0,005

* достоверные различия с больными, не имеющими поражений печени и поджелудочной железы.

Таблица 3

ЧАСТОТА ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ, ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У БОЛЬНЫХ ССД С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ АНТИТЕЛ К АДА И ГДА		
Группа больных	Частота выявления (абсолютное значение и процент)	Достоверность
Позитивные по АТ к АДА	11 (84,6 %)	$\chi^2 = 14,3; p < 0,002$
Негативные по АТ к АДА	3 (13,6 %)	
Позитивные по АТ к ГДА	9 (75 %)	$\chi^2 = 7,2; p = 0,007$
Негативные по АТ к ГДА	5 (21,7 %)	

Таким образом, в крови больных с системной склеродермией выявляются антитела к АДА, ГДА, продукция которых увеличивается в крови больных с поражением ЖКТ, особенно печени и поджелудочной железы, и сопровождается снижением активности АДА и увеличением ГДА. Следовательно, одной

из причин изменения активности ферментов пуринового метаболизма при ССД, вероятно, могут явиться аутоантитела к ферментам. Выявленные закономерности могут иметь прогностическую и диагностическую значимость для определения тяжести поражения ЖКТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусева, Н. Г. Системная склеродермия и склеродермическая группа болезней/Гусева Н. Г.//РМЖ. — 2000. — С. 9.
2. Малахов, А. Б. Системная склеродермия: современные аспекты проблемы/А. Б. Малахов, В. Г. Давтян, Н. А. Геппе и др.//Consilium medicum. — 2006. — С. 2.
3. Гребенев, А. Л. Диагностическая информативность ферментных тестов для выявления поражения поджелудочной железы при системной склеродермии/А. Л. Гребенев, Л. Н., Делекторская Н. П. Макаева и др.//Клин. лаборат. диагностика. — 1994. — Т. 1. — С. 23-25.
4. Рябов, Г. А. Оценка гипоксии по метаболизму пуриновых соединений/Г. А. Рябов, С. С. Ладыгин, Ю. М. Азизов и др.//Вестн. АМН СССР. — 1991. — Т. 7. — Р. 3-7.
5. Jabeen, R. Inactivation and modification of superoxide dismutase by glyoxal: prevention by antibodies/R. Jabeen, M. Saleemuddin, J. Petersen et al.//Biochimie. — 2007. — Vol. 89, № 3. — Р. 311-318.
6. Matsunaga, H. Clinical value of the determination of serum guanase activity in patients with chronic hepatitis type/H. Matsunaga, H. Honda, K. Kubo et al.//C. J. Med. Invest. — 2003. — Vol. 50, № 1-2. — Р. 64-71.

