

УДК 616-018.2-008-097

АНТИТЕЛООБРАЗОВАНИЕ К ЭЛАСТИНУ И ЭЛАСТАЗЕ У БОЛЬНЫХ ДИФFUЗНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

И.П. Гонтарь¹, Н.В. Ненашева¹, Н.А. Матасова¹, Э.Р. Аветисова¹,
Л.И. Кочнева², О.В. Парамонова³, И.А. Зборовская¹,

¹Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии РАМН,

²МУЗ «Городская больница № 2», г. Волгоград, ³ГОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет»

Парамонова Ольга Владиславовна – e-mail: Stella243@mail.ru

В статье представлены результаты исследования зависимости между образованием аутоантител к компонентам соединительной ткани – эластину и эластазе, и особенностями течения ревматических заболеваний. Определение уровня антител проводилось методами непрямого иммуноферментного анализа (ELISA-тест) с использованием иммобилизованных магнитосорбентов, что представляет собой полиакриламидные гранулы, содержащие магнитный материал, эластин и эластазу в качестве антигена. Показано, что по изменению уровня АТ к эластазе и эластину можно судить о тяжести патологического процесса, в частности, повышенный уровень АТ к компонентам эластинового обмена при ССД может свидетельствовать о выраженности воспалительного процесса, что имеет значение для практикующих врачей.

Ключевые слова: аутоантитела, эластин, эластаза, магнитосорбенты, системная склеродермия.

In clause results of research of dependence between formation autoantibodies (AB) to components of a connecting fabric are presented: to elastin and elastase, and features of current of rheumatic diseases. Definition of a level of antibodies was spent by methods indirect ELISA-test with use immobilized magnetosorbents, that represents polyacrilic granules containing a magnetic material, elastin and elastase as an antigen. It is shown, that on change of level AB to elastase and to elastin, it is possible to judge weight of pathological process, in particular, raised level AB to elastin components an exchange at systemic sclerosis can testify to expressiveness of inflammatory process that matters for practising doctors.

Key words: antibodies, immobilized magnetosorbents, elastin, elastase, the systemic sclerosis.

Введение

Эластин, белок из группы склеропротеинов, составляет основную массу эластичных волокон соединительной ткани. Особенно богаты эластином шейные связки, стенки аорты (до 40% на сухую массу); в тканях лёгких количество эластина увеличивается с возрастом от 0,05 до 15% (на сухую массу). Эластин нерастворим в воде, разбавленных растворах солей, кислот и щелочей даже при нагревании. В эластине велико количество аминокислотных остатков с неполярными боковыми группами, что, по-видимому, обуславливает высокую эластичность его волокон. Подобно коллагену, эластин богат глицином и пролином. Эластин трудно поддаётся расщеплению протеолитическими ферментами; его деградация, главным образом, происходит под влиянием фермента эластазы [1, 2].

Эластаза – фермент класса гидролаз, вырабатываемый поджелудочной железой животных и человека, катализирует расщепление пептидных связей в белках, главным образом между остатками нейтральных аминокислот. Особенно активен в отношении эластина. Выделяется в форме неактивной проэластазы, которая под действием фермента трипсина превращается в эластазу.

Чрезмерная активность этого ферментов может играть важную роль при некоторых заболеваниях. Установлено, что в очагах воспаления из лизосомных гранул гранулоцитов выделяются эластаза и нейтрофильная протеиназа [1, 2].

Уровень аутоантител к эластазе и эластину определяется состоянием здоровья. Следствием гуморального иммунологического ответа на пептиды эластина может стать повреж-

дение ткани с последующей деградацией эластических волокон. Так, на ограниченном количестве больных без всестороннего клинического анализа было установлено повышение содержания антител к эластину у больных системной красной волчанкой (СКВ) [3, 4], системной склеродермией (ССД) [5], а также к эластазе у больных СКВ [6]. Изучению антител (АТ) к эластазе посвящены единичные работы без исследования корреляционных связей с уровнем АТ к эластину.

Цель исследования: изучение корреляции между уровнями антител (АТ) к эластину и эластазе в сыворотке крови больных системной красной волчанкой (СКВ) и системной склеродермией (ССД).

Материалы и методы

АТ к эластину и эластазе определяли в сыворотке крови больных методом непрямого иммуноферментного анализа (ELISA-тест) с использованием иммобилизованных магнитосорбентов (МС) [7]. МС представляли собой полиакриламидные гранулы размером от 10 до 100 микрон, содержащие магнитный материал, эластин и эластазу в качестве антигена. Иммобилизацию проводили методом эмульсионной полимеризации в потоке газообразного азота [8]. В качестве антигена при определении АТ к эластазе использовали коммерческий препарат компании «SIGMA-ALDRICH» (США) эластазы панкреатической из поджелудочной железы свиньи с активностью 4 Ед/мл, при определении АТ к эластину – коммерческий препарат компании «SIGMA-ALDRICH» (США) эластина из легких человека. Результаты иммуноферментного определения АТ к эластазе и эластину

выражали в единицах оптической плотности (е.о.п.). Положительными считались результаты, превышающие на два стандартных отклонения показатели, полученные при обследовании здоровых лиц.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программных пакетов «STATISTICA 6.0», «Биостатистика», «SPSS 12.0» [9]. Результаты проведенных исследований выражались в виде $M \pm m$ (где M – среднее арифметическое, m – среднеквадратическое отклонение).

Под наблюдением находились 30 практически здоровых лиц – доноров станции переливания крови МУЗ ГКБ № 25, г. Волгоград, в возрасте от 26 до 60 лет, среди которых 18 женщин и 12 мужчин, а также 35 больных с достоверным диагнозом СКВ, поставленным на основании критериев АРА (1982), рабочей классификации клинических вариантов течения СКВ (Насонова В.А., 1972–1986), классификаций SLAM, SLEDAI, SLICC-ACR, 28 больных с достоверным диагнозом ССД, поставленным на основании критериев АРА (1980) и отечественной классификации болезни (Гусева Н.Г., 1975, с доп. 1993).

Больные СКВ. Среди обследованных больных СКВ было 5 мужчин (14,3%) и 30 (85,7%) женщин в возрасте от 19 до 55 лет. Активность процесса в исследуемой группе больных определялась в соответствии с клиническими и лабораторными критериями по В.А. Насоновой, при этом у 11,4% (4 человека) была первая степень активности патологического процесса, у 68,6% больных (24 человека) – вторая, у 20% (7 человек) – третья. У 20% больных (7 человек) имело место острое течение СКВ, у 74,3% (26 человек) – подострое, у 5,7% (2 человека) – хроническое.

Больные ССД. Среди больных ССД было 25 (89,3%) женщин и 3 (10,7%) мужчин. Средний возраст больных $25,4 \pm 4,6$ года, средняя продолжительность болезни $12,0 \pm 3,6$ года. 19 (67,9%) больных из наблюдавшихся имели лимитированную форму болезни, 9 (32,1%) – диффузную. I степень активности установлена у 3 (10,7%), II – у 21 (75%), III – у 4 (14,7%) больных. Хроническое течение выявлено у 12 (42,9%) пациентов, подострое – у 13 (46,4%), острое – у 3 (10,7%). I стадия заболевания (начальная) диагностирована у 6 (21,4%) больных, II (генерализованная) – у 18 (64,3%), III (терминальная) – у 4 (14,3%) больных.

Результаты исследования

Средняя величина оптической плотности при определении АТ к эластазе у доноров составила 0,095 е.о.п., а верхняя граница этих значений равна 0,112 е.о.п. Средняя величина оптической плотности для АТ к эластину в группе здоровых лиц составила $0,130 \pm 0,050$ е.о.п. Показатели, превышающие эти значения на величину двух стандартных отклонений, были приняты за верхнюю границу нормы: 0,180 е.о.п. В дальнейшем все величины оптической плотности, превосходящие верхнее значение, считались повышенными.

Больные СКВ. Повышение уровня антител к эластазе наблюдалось у 28 (80%), а повышение уровня антител к эластину – у 12 (42,9%) больных СКВ.

В результате проведенной работы выявлено, что у больных СКВ I степени активности процесса (4 человека) повышено количество АТ ко всем исследуемым антигенам – эластазе и эластину, при II степени активности распределение больных выглядело следующим образом: одновременное

повышение уровня АТ к эластазе и эластину наблюдалось у 9 (37,5%) больных, изолированное повышение содержания АТ к эластазе – у 11 (45,8%), отсутствие повышения уровня АТ к обоим антигенам – у 4 (16,7%), в группе больных с III степенью активности (7 человек) повышения уровня АТ к изучаемым антигенам не наблюдалось (таблица 1).

ТАБЛИЦА 1.

Уровень АТ к эластазе и эластину у больных СКВ в зависимости от активности патологического процесса

Контингент	Число наблюдений	Статистические показатели	АТ к эластазе, е.о.п.	АТ к эластину, е.о.п.
Здоровые	30	$M \pm m$	$0,095 \pm 0,002$	$0,130 \pm 0,005$
Больные с I степенью активности	4	$M \pm m$ p	$0,131 \pm 0,007$ <0,001	$0,198 \pm 0,007$ <0,001
Больные со II степенью активности	24	$M \pm m$ p	$0,119 \pm 0,002$ 0,04	$0,189 \pm 0,002$ <0,001
Больные с III степенью активности	7	$M \pm m$ p	$0,096 \pm 0,002$ 0,081	$0,132 \pm 0,005$ 0,1

В группах по течению заболевания среди больных наблюдалась следующая картина. У больных с острым течением заболевания (7 человек) 2 (28,6%) человека имели повышенный уровень АТ к эластазе при нормальном значении АТ к эластину, остальные больные этой группы не обнаружили увеличения содержания АТ ни к эластазе, ни к эластину (таблица 2).

Среди больных с подострым течением 9 (35,3%) пациентов имели повышенные значения по АТ как к эластазе, так и к эластину, 11 (42,3%) человек – только к эластазе, а у 4 (22,4%) человек определены нормальные значения АТ к обоим антигенам. В группе больных с хроническим течением заболевания (2 человека) сочетанное обнаружение повышенного уровня АТ и к эластазе, и к эластину выявлено у 2 (100%) пациентов.

ТАБЛИЦА 2.

Уровень АТ к эластазе и эластину у больных СКВ в зависимости от течения заболевания

Контингент	Число наблюдений	Статистические показатели	АТ к эластазе, е.о.п.	АТ к эластину, е.о.п.
Здоровые	30	$M \pm m$	$0,095 \pm 0,002$	$0,130 \pm 0,005$
Больные с острым течением	7	$M \pm m$ p	$0,101 \pm 0,003$ 0,04	$0,132 \pm 0,007$ 0,05
Больные с подострым течением	26	$M \pm m$ p	$0,117 \pm 0,001$ 0,01	$0,140 \pm 0,002$ 0,05
Больные с хроническим течением	2	$M \pm m$ p	$0,121 \pm 0,005$ 0,001	$0,146 \pm 0,007$ 0,045

В группе больных с повышенным уровнем АТ к эластазе (28 человек) 26 (92,9%) больных имели поражения кожи, 24 (85,7%) – суставов, 19 (67,9%) – центральной нервной системы, 13 (46,4%) – сердца, 11 (39,3%) – почек, 9 (32,1%) – мышц, 6 (21,4%) – легких, по 4 (14,3%) – поражение сосудов и ретикулоэндотелиальной системы.

Больные ССД. У больных ССД (группа в целом) повышение уровня антител к эластазе наблюдалось у 22 (78,6%) больных, к эластину – у 10 (35,7%), сочетанное повышение уровня АТ и к эластазе, и к эластину выявлено у 8 (28,6%) больных.

При средней степени активности патологического процесса (21 человек) высокие уровни антител к эластазе обнаружены у 19 (90,5%) больных, к эластину – у 9 (42,9%). При ССД с I степенью активности (3 больных) по сравнению со здоровыми отмечается увеличение уровня антител к эластазе – у 2 (66,7%) больных ($p < 0,001$), к эластину – у 1 (33,3%) больного ($p = 0,035$). В группе больных с III степенью активности (4 больных) достоверных различий с группой здоровых лиц не обнаружено (таблица 3).

ТАБЛИЦА 3.
Уровень АТ к эластазе и эластину у больных ССД в зависимости от активности

Контингент	Число наблюдений	Статистические показатели	АТ к эластазе, е.о.п.	АТ к эластину, е.о.п.
Здоровые	30	$M \pm m$	$0,095 \pm 0,002$	$0,130 \pm 0,005$
Больные с I степенью активности	3	$M \pm m$ p	$0,121 \pm 0,003$ $< 0,001$	$0,139 \pm 0,007$ $0,035$
Больные со II степенью активности	21	$M \pm m$ p	$0,120 \pm 0,002$ $< 0,001$	$0,138 \pm 0,002$ $0,048$
Больные с III степенью активности	4	$M \pm m$ p	$0,102 \pm 0,002$ $0,02$	$0,131 \pm 0,003$ $0,8$

У больных ССД с различным характером течения заболевания были выявлены достоверно более высокие уровни АТ к эластазе и эластину по сравнению со здоровыми ($p = 0,035$), при подостром и остром течении процесса ($p = 0,017$) по сравнению с хроническим. Высокие значения АТ к эластазе обнаружены у 2 (66,7%) пациентов с острым, у 8 (61,5%) с подострым, у 6 (50%) с хроническим течением. Высокие уровни АТ к эластину выявлены у 1 (33,3%) больного с острым, у 4 (30,8%) с подострым, у 3 (25%) с хроническим течением.

Поражение органов и систем при ССД носит различный характер. Из 22 человек с повышенным уровнем антител к эластазе 21 (95,5%) больной имел поражение кожи, по 18 пациентов (81,8%) – сосудов и суставов, 15 (68,2%) – легких, по 12 (54,5%) – центральной нервной системы и сердца, 10 (45,5%) – мышц, у 7 человек (31,8%) наблюдалось поражение желудочно-кишечного тракта. При этом стоит отметить, что в группе больных с высоким содержанием АТ к эластазе (22 человека) выявлено более частое поражение легких (у 15 больных – 68,2%), чем в группе с низкими цифрами АТ к эластазе (из 6 человек 2 человека – 33,3%).

Обсуждение

Эластин, как структурный компонент соединительной ткани, а также эластаза, как фермент, участвующий в его обмене, несомненно, вовлекаются в аутоиммунный процесс при развитии ревматических заболеваний. При СКВ с увеличением степени активности отмечается тенденция к нарастанию уровня АТ к эластазе и эластину, однако, у больных с III степенью активности уровень АТ к этим антигенам находится в пределах нормальных величин. Это можно объяснить тем, что у наблюдаемых нами больных с максимальной активностью заболевания отсутствует поражение суставов (у 3 из 7 наблюдаются лишь артралгии), а в суставной ткани эластин представлен в большем объеме, чем в коже, которая чаще всего и повреждается при СКВ. При ССД если I и II степени активности могут сопровождаться как изолированным повышением АТ к тому или другому антигену, то III степень ассоциируется с увеличением в сыворотке крови боль-

ных АТ и к эластазе, и к эластину. И при ССД, и при СКВ среди больных с повышенным уровнем АТ к эластазе и эластину в структуре клинических проявлений преобладает поражение кожи. Второе место у пациентов с СКВ занимает суставной синдром, третье – васкулопатии. У больных с ССД, напротив, чаще выявляется сосудистая патология, а затем поражение суставов. При ССД очень интересной представляется связь повышенного уровня АТ к эластазе и эластину с поражением легких. Можно предположить, что АТ к эластазе, снижая активность фермента, могут участвовать в патологическом обмене эластина, вызывая повреждение органов дыхания.

Выводы

Так образом, у больных СКВ и ССД выявлены достоверно более высокие уровни АТ к эластазе и эластину, чем у здоровых лиц.

Учитывая, что чаще всего у больных СКВ и ССД определялось повышение содержания АТ к эластазе уже на начальных стадиях заболевания, можно считать, что аутоиммунный процесс в одном из звеньев обмена эластина начинается с образования аутоантител к эластазе. Эти аутоантитела, снижая активность эластазы, препятствуют нормальному обмену эластина, который приобретает свойства аутоантигена, провоцируя синтез АТ к нему.

Помимо патогенетического звена, уровень данных антител имеет и значение для применения в клинике. Так, по изменению уровня АТ к эластазе и эластину можно судить о тяжести патологического процесса, в частности, повышенный уровень АТ к компонентам эластинового обмена при ССД может свидетельствовать о выраженности воспалительного процесса.

Исследование уровня АТ к эластазе и эластину в сыворотке крови больных СКВ и ССД иммуноферментным методом с использованием иммобилизированной формы магнитоуправляемого сорбента позволит улучшить диагностику этих ревматических заболеваний, а также углубить знания о патогенезе ряда ревматических заболеваний.



ЛИТЕРАТУРА

1. Клинические рекомендации. Ревматология /под ред. Е.Л. Насонова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 752 с.
2. Ревматология: национальное руководство //под ред. Е.Л. Насонова, В.А. Насоновой. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 720 с.
3. Colburn K.K., Langga-Shariffi E., Kelly G.T. et. al. Abnormalities of serum antielastin antibodies in connective tissue diseases. J Investig Med. 2003. Mar. № 51 (2). P. 104-109.
4. Gminski J., Poborski W., Kasprzak A., et al. Anti-elastin antibodies in systemic lupus erythematosus. Pol Tyg Lek. 1990. Jun. 18-25. № 45 (25-26). P. 513-515.
5. Colburn K.K., Kelly G.T., Malto M.C., et. al. Serum anti-tropo:anti-elastin antibody ratio assessing elastin turnover in scleroderma. Clin Rheumatol. 1992. Jun. № 11 (2). P. 206-210.
6. Dunphy J., Oliver M., Rands A.L. et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies and HLA class II alleles in minocycline-induced lupus-like syndrome. Br. J. Dermatol. 2000. Mar. № 142 (3). P. 461-467.
7. Гончарь И.П. Иммобилизованные гранулированные антигенные препараты с магнитными свойствами в диагностике и лечении ревматоидного артрита, системной красной волчанки и системной склеродермии (клинико-экспериментальное исследование): Дисс. ...д-ра мед. Наук. Волгоград. 2006. 413 с.
8. Александров А.В., Шилова Л.Н., Емельянов Н.Н. и др. Иммуноапогетические аспекты современной лабораторной диагностики системной красной волчанки, системной склеродермии и ювенильного ревматоидного артрита. International Journal on Immunorehabilitation (Международный журнал по иммунореабилитации). 2010. Т. 12. № 2. С. 150а-151а.
9. Зайцев В.М., Лифляндский В.М., Маринкин В.И. Прикладная медицинская статистика. С.-Пб.: «Издательство Фолиант», 2003. С. 432.