

КАТАЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ IGG ПРИ ИЗОЛИРОВАННОМ КОЖНОМ ПСОРИАЗЕ, ПСОРИАТИЧЕСКОЙ ОНИХОДИСТРОФИИ И АРТРОПАТИЧЕСКОМ ПСОРИАЗЕ

КУНДЕР Е.В., ЛИТВЯКОВ А.М., ЗЫКОВА О.С., ГЕНЕРАЛОВ И.И.,
ВОЛКОВА М.В.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский
университет»*

Резюме. В статье приводятся результаты обследования больных различными клиническими формами псориаза (изолированным кожным псориазом, псориатической ониходистрофией и артропатическим псориазом) на наличие каталитической активности препаратов поликлональных иммуноглобулинов G, выделенных из сыворотки крови. Исследовалась абзимная деполимеризующая (ДНКазная и БАПНА-амидазная) и оксидоредуктазная (супероксиддисмутазная) активность. Выполнены эксперименты, подтверждающие принадлежность изучаемых видов активностей непосредственно препаратам иммуноглобулинов, выделенных из крови больных и доноров крови. Установлено, что уровни ДНКазной, БАПНА-амидазной и супероксиддисмутазной активности при различных клинических формах псориаза достоверно превышают аналогичные показатели у доноров. Полученные величины различных уровней каталитической активности были сопоставлены с клиническими данными и результатами лабораторного и инструментального обследования пациентов. Результаты проведенного исследования доказывают роль абзимов в патогенезе изучаемых заболеваний, а также могут служить основой для разработки новых иммунологических критериев их диагностики.

Ключевые слова: псориаз, псориатическая ониходистрофия, псориатическая артропатия, поликлональные IgG, абзимная активность.

Abstract. The results of polyclonal IgG catalytic activity assessment in patients with different clinical variants of psoriasis (isolated skin psoriasis, onychodystrophy and psoriatic arthropathy) are summarized in this work. The DNase, BAPNA-amidase and superoxydismutase activities of IgG were evaluated. The experiments proved the abzyme activity to be the essential quality of polyclonal IgG derived from patients and donors sera were performed. The levels of DNase, BAPNA-amidase and superoxydismutase activities were significantly higher in patients with different clinical variants of psoriasis in comparison with healthy controls. The correlation analysis between DNase, BAPNA-amidase and superoxydismutase activities with some clinical and laboratory findings were revealed. The detection of high IgG catalytic activities levels in patients with psoriasis confirms autoimmune origin of this disease and indicates the role of abzymes in its immune pathogenesis. The evaluation of catalytic activity levels may have additional diagnostic significance.

Key words: psoriasis, psoriatic onychodystrophy, psoriatic arthropathy, polyclonal IgG, abzyme activity.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный медицинский университет

Псориаз представляет собой хронический рецидивирующий папулёзный дерматоз мультифакториальной природы, который характеризуется гиперпролиферацией и нарушением дифференцировки эпидермоцитов, воспалительной реакцией дермы. Псориаз относится к группе наиболее распространённых в популяции дерматозов и имеет внушительный удельный вес в структуре дерматологической заболеваемости. Клиническая картина поражения кожного покрова при псориазе разнообразна. За медицинской помощью к врачу-дерматовенерологу обращаются, как правило, больные с распространённым и диссеминированным, а также часто рецидивирующим поражением кожи, которое в свою очередь может иметь различные клинические варианты: обыкновенный, экссудативный, эритродермический, пустулёзный, каплевидный и другие. Однако клиника псориаза не ограничивается только лишь поражением кожного покрова. В настоящее время в клинической и научной ревматологии по-прежнему является актуальной проблема псориатического артрита в разделе воспалительных поражений опорно-двигательного аппарата в группе серонегативных артритов. По данным Gladman D.D. [12] распространённость поражения суставов при псориазе колеблется от 13,5% до 47%. Широко известно поражение ряда внутренних органов и систем при псориазе. В этой связи псориаз является заболеванием, который не только существенно ухудшает качество жизни пациента, но и нередко является инвалидизирующим состоянием.

В настоящее время считается, что причиной возникновения и развития псориаза являются как генетические, так и средовые факторы [15]. Наряду с наличием в геноме ряда характерных антигенов гистосовместимости, у больных псориазом установлен ряд иммунологических сдвигов: активация Т-лимфоцитов, изменение продукции многочисленных цитокинов – регуляторов воспаления, Т- и В-клеточного иммунного ответа, интерлейкинов – регуляторов саногенеза [18]. Установлено наличие специфических изменений сосудов микроциркуляторного русла [9]. В реализации патогенетических факторов заболевания большую роль могут играть травмы, инфекции, стрессовые ситуации, особенности профессиональной деятельности и другие внешнесредовые воздействия [11].

Согласно современным представлениям псориаз рассматривается как системное аутоиммунное заболевание, при котором происходят нарушения клеточного и гуморального иммунитета [18], что сопровождается образованием

большого спектра иммунных комплексов и аутоантител. При псориазе и псориатическом артрите изучается содержание антиперинуклеарных антител [15], антител к глиадину [5], отмечено повышение уровней IgA антител к цитокератину 18 и эпидермальному кератину [13].

При артропатическом псориазе выявлены такие аутоантитела, как антинуклеарные (14%), антитела к двухспиральной ДНК (3%), антитела к РНП (1%) [14], антиперинуклеарные антитела [7].

Несмотря на достигнутые успехи, нельзя определить те аутоантитела, которые были бы специфичны и могли бы стать определяющими иммунологическим маркерами различных клинических форм псориаза и псориатического артрита. До настоящего времени при данном заболевании остаются неизученными некоторые свойства антител, а именно каталитическая активность, существование которой доказано при разнообразной аутоиммунной патологии [3].

Целью настоящей работы являлась оценка роли каталитических антител в патогенезе псориаза и возможность использования абзимной активности для иммунологической диагностики данного заболевания.

Методы

Обследована группа больных псориазом в количестве 39 человек, из которых мужчин было 34 (87%), женщин – 5 (13%). Средний возраст всех обследованных пациентов составил $36,95 \pm 2,14$ лет, мужчин – $36,8 \pm 2,26$, женщин – $38 \pm 7,15$ лет.

Группу больных с установленным диагнозом артропатического псориаза из 18 человек составили 3 женщины (17%) и 15 мужчин (83%) в возрасте от 30 до 59 лет. Средний возраст в группе составил $44,79 \pm 2,02$ года. Стаж псориаза колебался от 8 до 39 лет и в среднем составил $20,63 \pm 2,06$ года. Обыкновенная клиническая форма псориаза установлена у 7 пациентов, что составило 37%. У 63% больных диагностированы особые и осложнённые клинические формы поражения кожи: крупнобляшечная – у 1, экссудативная – у 2, экссудативная крупнобляшечная – у 4, субэритродермическая – у 2 пациентов (в том числе у 1 больного – с ладонно-подошвенным пустулёзом), эритродермическая – у 1, лентикулярная – у 1 больного. Значения индекса PASI варьировали от 4,8 до 70,8, составив в среднем $30,08 \pm 4,02$. У подавляющего большинства пациентов (84%) ониходистрофия развивалась на фоне кожного синдрома в среднем через $12,21 \pm 2,6$ года. Наиболее часто регистрировались дефекты типа «масляных пятен» и пунктиформные, наряду с которыми встречались койлонихии, гипертрофия в дистальных зонах, продольная исчерченность и шелушение поверхности, а также очаговые дефекты, напоминающие поверхностные перфорации или расслоение ногтевых пластин. Появление болей в суставах 15 пациентов группы отметили в сроки от 9 лет до и до 23 лет после появления первых признаков поражения ногтей (в среднем – через $3,06 \pm 2,06$ лет). У 3 больных боли в суставах предшествовали изменению ногтевых пластин на 2-9 лет. У 3 больных со стажем «кожного» псориаза признаки ониходистрофии и артралгии возникли синхронно. У 15 больных (84%) артралгии возникали в сроки от 1 до 35 лет после появления папул. У всех больных установлена

синовиально-костная форма поражения суставов с минимальной (16 больных) или умеренной (2 больных) активностью 1-2 степени и 0-1 степенью нарушения функции, в том числе у 14 - полиартритическая, у 4 – олигоартритическая. Из них у 3 больных (16%) установлена рентгенологически подтверждённая безболевая форма артропатии на фоне распространённого поражения кожи и ногтевых пластин.

В группу больных псориазом с псориатической ониходистрофией вошли 9 мужчин в возрасте от 18 до 63 лет ($41,1 \pm 4,66$ года) с длительностью псориаза от 1 до 32 лет ($12,00 \pm 3,57$ лет). Обыкновенный псориаз установлен у 3 больных (37%), у остальных пациентов (63%) - экссудативный, экссудативный крупнобляшечный, интертригинозный и крупнобляшечный, каплевидный, себорейный, себорейный в сочетании с обыкновенным. Ногти были поражены по типу «масляного пятна» и пунктиформно, иногда в сочетании с гипертрофией дистальных зон на нижних конечностях или исчерченностью и шелушением. У одного больного установлено наличие единичных петехий. Ониходистрофия развилась на фоне поражения кожи у 4 больных (55%), одновременно с ним – у 2 (22,5%), предшествовала таковому у 2 больных (22,5%). На умеренные непостоянные боли в суставах коленей и кистей жаловались 2 больных, у которых рентгенологически обнаружены явления остеоартроза и посттравматические изменения соответственно.

Группу больных с изолированным псориазом составили 12 пациентов – 10 мужчин и 2 женщины в возрасте от 18 до 38 лет ($22,69 \pm 1,63$ года). У 5 больных (38%) псориаз был выявлен впервые, у остальных длительность заболевания составляла от 1 до 15 лет. Средний возраст пациентов в группе - $22,69 \pm 1,63$ года. У большинства пациентов (9 больных или 70%) диагностирован обыкновенный псориаз, у остальных – соответственно лентикулярный, каплевидный, себорейный, себорейный в сочетании с обыкновенным псориазом.

Контрольной группой послужили 39 доноров Витебской областной станции переливания крови, из которых мужчин было 23 (59%), женщин – 16 (41%). Средний возраст доноров составил $37 \pm 1,38$ лет, мужчин – $36,4 \pm 1,88$ лет, женщин – $38,6 \pm 1,86$ лет.

Материалом для исследования послужили IgG подклассов 1, 2 и 4. Препараты поликлональных иммуноглобулинов получали из сыворотки крови больных и доноров комбинированным риванол-аффиннохроматографическим методом [2]. Концентрацию белка в препарате определяли спектрофотометрически на длине волны 280 нм. Контроль чистоты полученных иммуноглобулинов проводили с помощью электрофореза в полиакриламидном геле в системе буферов по Laemmli с использованием 10% или 12% разделяющего геля в присутствии додецилсульфата натрия по методам, изложенным в [2].

Изучались следующие виды абзимной активности: деполимеризующая (ДНКазная и БАПНА-амидазная) и окислительно-восстановительная (супероксиддисмутазная (СОД)). Постановка реакций ДНКазной, БАПНА-амидазной и СОД активностей осуществлялась согласно методикам,

разработанным и апробированным нами при оценке абзимной активности у больных с различной аутоиммунной патологией [2,3,4].

Величины ДНКазной активности выражали в баллах, при этом сгусток ДНК оценивался как 0 баллов; рыхлый сгусток – 1 балл; рыхлый сгусток, хлопья, нити – 2 балла; хлопья, нити – 3 балла; хлопья, нити, распад – 4 балла; полный распад – 5 баллов.

Уровни СОД активности выражали в условных единицах (УЕ), БАПНА-амидазной – в единицах оптической плотности (ЕОП). Результаты определения абзимной активности выражали следующим образом:

для СОД реакции формула расчета активности имела следующий вид:

$$A = (E_k - E_o) / E_k * 100\%,$$

где А - активность препарата, Ек - средняя оптическая плотность контрольных проб, Ео - средняя оптическая плотность опытных проб.

для БАПНА-амидазной реакции формула расчета активности имела следующий вид:

$$A = E_o - E_k,$$

где А - активность препарата, Ек - средняя оптическая плотность контрольных проб, Ео - средняя оптическая плотность опытных проб.

Для обработки результатов использовались параметрические (Стьюдента) и непараметрические (Манна-Уитни) критерии статистики.

Результаты и обсуждение

Результаты определения абсолютных уровней и частот встречаемости каталитической активности антител при различных клинических формах псориаза представлены в таблицах 1-2.

Таблица 1

Уровни абзимной активности у обследованных больных

Виды каталитической активности	ДНК-азная активность, баллы	БАПНА-амидазная активность, ЕОП	СОД активность, УЕ
Все обследованные больные	2,78±0,21; n=39 (p<0,001)	0,019±0,0025; n=39 (p<0,05)	12,6±1,27; n=39 (p<0,001)
Пациенты с артропатическим псориазом	2,77±0,2; n=18 (p<0,001)	0,022±0,0045; n=18 (p<0,05)	11,24±1,94; n=18 (p<0,001)
Пациенты с псориазической ониходистрофией	3,55±0,31; n=9 (p<0,001)	0,014±0,0043; n=9 (p>0,05)	14,1±3,19; n=19 (p<0,001)
Пациенты с изолированным кожным псориазом	2,2±0,39; n=12 (p<0,001)	0,019±0,0034; n=12 (p<0,05)	13,52±1,88; n=12 (p<0,001)

Виды каталитической активности	ДНК-азная активность, баллы	БАПНА-амидазная активность, ЕОП	СОД активность, УЕ
Здоровые лица	0,19±0,0725; n=39	0,01±0,0009; n=39	ИГ не влияют на дисмутацию супероксида

Таблица 2

Частоты встречаемости абзимной активности у обследованных больных

Виды каталитической активности	ДНК-азная активность	БАПНА-амидазная активность	СОД активность
Все обследованные больные	87,18%±0,054; n=39 (p<0,001)	64%±0,078; n=39 (p<0,05)	69,2%±0,075; n=39 (p<0,001)
Пациенты с артропатическим псориазом	88,9%±0,076; n=18 (p<0,001)	66,7%±0,114; n=18 (p<0,05)	66,7%±0,114; n=18 (p<0,001)
Пациенты с псориазической ониходистрофией	100%±0,0001; n=9 (p<0,001)	55,6%±0,175; n=9 (p<0,05)	66,7%±0,167; n=19 (p<0,001)
Пациенты с изолированным кожным псориазом	75%±0,13; n=12 (p<0,001)	83,3%±0,112; n=12 (p<0,001)	75%±0,13; n=12 (p<0,001)
Здоровые лица	5,13%±0,036; n=39	12,8%±0,054; n=39	19%±0,067; n=36

Таким образом, у больных с различными клиническими формами псориаза уровни и частоты встречаемости каталитической активности поликлональных иммуноглобулинов достоверно превышают аналогичные показатели у здоровых лиц. ДНКазная активность у больных артропатическим псориазом превышает донорские значения в 14 раз, у пациентов с ониходистрофией – в 18 раз, у лиц с изолированным кожным псориазом – в 11,5 раз. Уровень ДНКазной активности у пациентов с ониходистрофией достоверно (p<0,05) отличается от величины данной активности у больных артропатическим и изолированным кожным псориазом (3,55±0,31; n=9 по сравнению с 2,77±0,2; n=18 и 2,2±0,39; n=12 соответственно).

Выявление высоких значений ДНКазной активности антител подтверждают представление о псориазе как о прогрессирующем системном аутоиммунном заболевании, при котором наблюдаются выраженные иммунопатологические сдвиги. Принимая во внимание данные о выявлении

при псориазе антинуклеарных антител, антител к двухспиральной ДНК, к РНП, а также антиперинуклеарных антител, нельзя исключить, что абзимы с ДНКазной активностью, появляясь на ранних этапах заболевания, имеют приспособительное значение, разрушая избыток нуклеиновых кислот, появляющихся в процессе цитолиза. На дальнейших этапах развития заболевания, обладающие ДНКазной активностью антитела могут оказывать непосредственное повреждающее воздействие на ткани, реализуя свои цитотоксические эффекты. Кроме того, фрагменты антител могут достигать ядра клетки и, связываясь с нуклеопротеидами, непосредственно влиять на внутриклеточный метаболизм. Существует также версия о том, что каталитические антитела могут регулировать клеточное развитие, участвуя в процессах апоптоза, что особенно интересно, принимая во внимание нарушения апоптотического процесса, происходящие при псориазе и являющиеся одной из причин гиперпролиферации в эпидермисе [1].

БАПНА-амидазная активность при изученных клинических формах псориаза хоть и достоверно отличается от значений у здоровых лиц, однако демонстрирует однообразные и достаточно низкие значения, вследствие чего на наш взгляд не может претендовать на диагностическую значимость до проведения дальнейших экспериментов.

Что касается окислительно-восстановительной активности, то прежде всего надо упомянуть о результатах многочисленных исследований, доказывающих значительные нарушения в оксидантной и противооксидантной системе при псориазе [16]. Обнаружено повышение функциональной активности Mn-СОД, а также Cu, Zn-СОД в фибробластах кожи, пораженной псориазическим процессом [8], выявлены высокие уровни сывороточной каталазной активности в крови пациентов, снижение уровней СОД и глутатионпероксидазы в эритроцитах, а также каталазной активности в эритроцитах [6].

Обнаружено снижение СОД активности в клетках кожи [17] и в полиморфноядерных лейкоцитах [10].

У обследованных больных нами выявлена супероксиддисмутазная активность иммуноглобулинов, на порядок превышающая донорские уровни. Антитела, обладающие СОД активностью, могут являться акцептором свободных кислородных радикалов, осуществляя торможение перекисного окисления липидов и белков. Следовательно, данные абзимы способны защитить клетку от свободно радикального повреждения. Вероятно, при псориазе СОД активность имеет протективное значение, разрушая избыточное количество супероксида. Основными источниками супероксидных радикалов являются лейкоциты в процессе фагоцитоза, цепи переноса электронов (митохондрии), некоторые флавиносодержащие оксидоредуктазы, а также процессы автоокисления белков и метаболитов. При разнообразной патологии (в том числе и при псориазе) увеличение активности СОД может рассматриваться как защитный противовоспалительный механизм. В настоящее время создан ряд лекарственных препаратов, содержащих СОД, причем

некоторые исследователи характеризуют данный фермент как возможную альтернативу глюкокортикоидным гормонам.

Таким образом, анализ уровней ДНКазной, БАПНА-амидазной и СОД абзимной активности обнаруживает новые, ранее не изученные закономерности действия каталитических антител при псориазе, указывает на наличие у антител кроме традиционного патогенетического значения дополнительных регуляторных функций, модулирующих гомеостатические процессы, происходящие в организме при хроническом воспалительном процессе. Результаты проведенного исследования абзимной активности создают новые возможности для лабораторной диагностики псориаза (в частности с использованием методов определения ДНКазной и супероксиддисмутазной активности).

Выводы

1. При различных клинических формах псориаза в крови пациентов определяются ДНКазная, БАПНА-амидазная и супероксиддисмутазная активности, уровни и частоты встречаемости которых достоверно превышают донорские значения.
2. Величина ДНКазной активности и СОД активности антител при псориазе более чем на порядок превышают уровни данной активности у здоровых лиц.
3. Наибольшие уровни ДНКазной и СОД активности характерны для больных псориазом с ониходистрофией с поражением кожи, но без суставного синдрома.

Литература

1. Антилевский, В.В. Морфофункциональная характеристика кожи больных псориазом / В.В. Антилевский, О.Д. Мяделец, В.В. Саларев // Актуальная дерматология / под общ. ред. проф. В.П. Адашкевича. – М.: Медицинская книга, Н. Новгород: Изд. НГМА, 2000. – С. 133-153.
2. Генералов, И.И. Абзимная активность иммуноглобулинов / И.И. Генералов. – Витебск, 2000. – 167с.
3. Генералов, И.И. Поликлональные каталитические иммуноглобулины: причины появления, механизмы действия, патогенетическое и клиническое значение / И.И. Генералов // Иммунология, аллергология, инфектология. - 2002. - №2. – С. 19-37.
4. Генералов, И.И. Абзимная активность препаратов IgG у больных ревматоидным артритом и системной красной волчанкой / И.И. Генералов, Е.В. Сидорская // Иммунология. – 1998. - №3. – С. 54-56.
5. Рахматов, А.Б. Взаимоотношение между обычной и артропатической формами псориаза / А.Б. Рахматов, Ш.И. Ибрагимов // Новости дерматологии и венерологии. – 1998. - №2. – С.1-14.
6. Activity of superoxide dismutase and catalase and the level of lipid peroxidation products reactive with TBA in patients with psoriasis / G. Drewa [et al.] // Med. Sci. Monit. – 2002. – Vol.8. – P. 338-343.

7. Calzavara-Pinton, P.G. Incidence of antiperinuclear factor in patients with psoriatic arthritis / P.G. Calzavara-Pinton, F. Franceschini, C. Manera // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 1999. – Vol. 455. – P. 215-220.
8. Creamer, D. Angiogenesis in psoriasis / D. Creamer, D. Sullivan, R. Bicknell // *Angiogenesis.* - 2002. – Vol. 5. – P. 231-236.
9. Differential regulation of Cu, Zn- and Mn-superoxide dismutases by retinoic acid in normal and psoriatic human fibroblasts // P. Gerbaud [et al.] // *J. Autoimmun.* – 2005. – Vol.24. – P. 69-78.
10. Dogan, P. Superoxide dismutase and myeloperoxidase activity in polymorphonuclear leukocytes, and serum ceruloplasmin and copper levels, in psoriasis / P. Dogan, U. Soyuer, G. Tanrikulu // *Br. J. Dermatol.* – 1989. – Vol. 120. – P. 239-244.
11. Fearon, U. Pathogenesis of psoriatic arthritis // U. Fearon, D.J. Veale // *Clin. Exp. Dermatol.* – 2001. – Vol. 26. – P. 333-337.
12. Psoriatic arthritis: epidemiology, clinical features, course, and outcome // D. D. Gladman [et al.] // *Ann Rheum Dis.* – 2005. – Vol. 64. – P. 1114-1117.
13. Helliwell, P.S. Classification and diagnostic criteria for psoriatic arthritis / P.S. Helliwell, W.J. Taylor // *Ann. Rheum. Dis.* – 2005. – Vol. 64. – P. 113-118.
14. Johnson, S.R. Autoantibodies in biological agents naïve patients with psoriatic arthritis / S.R. Johnson, C.T. Schentag, D.D. Gladman // *Rheum. Dis.* - 2005. – Vol. 64, №5. – P. 770-772.
15. Mease, P. Diagnosis and treatment of psoriatic arthritis / P. Mease, B.S. Goffe // *J. Am. Acad. Dermatol.* - 2005. – Vol. 52, №1. – P. 1-19.
16. Oxidant / antioxidant status in patients with psoriasis / K. Baz [et al.] // *Yonsei Med. J.* – 2003. - Vol.44. – P. 987-990.
17. Superoxide dismutase in psoriasis, squamous cell carcinoma and basal cell epithelioma: an immunohistochemical study / T. Kobayashi [et al.] // *Br J. Dermatol.* – 1991. – Vol.124, №6. – P. 555-559.
18. Veale, D.J. Immunopathology of psoriatic arthritis / D.J. Veale, C. Ritchlin // *Ann. Rheum Dis.* – 2005. – Vol. 64. – P. 2126-2129.