

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МЕТАЛЛОСОДЕРЖАЩИХ ФЕРМЕНТОВ В ДИАГНОСТИКЕ РАЗНЫХ ВАРИАНТОВ СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИИ

DIAGNOSTIC ROLE OF METALLOENZYMES IN DIAGNOSTICS OF DIFFERENT VARIANTS OF SYSTEMIC SCLERODERMA

Е.М. Нейко, Р.И. Ячишин*, Ю.В. Дельва, Я.В. Сандурская

E.M. Neyko, R.I. Yatsyshyn*, Yu.V. Del'va, Ya.V. Sandurskaya

Ивано-Франковский государственный медицинский университет, кафедра факультетской терапии, Ивано-Франковск, Украина

Ivano-Frankivsk State Medical University, Chair of Faculty Therapy, Ivano-Frankivsk, Ukraine

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: системная склеродермия, антиоксидантная система, церулоплазмин, трансферрин

KEYWORDS: system scleroderma, antioxidant system, ceruloplasmin, transferrin

РЕЗЮМЕ: Обследовано 110 больных системной склеродермии (ССД). Изучены не только изменения общеклинических показателей, но и сдвиги в системе антиоксидантной защиты (АОЗ). С этой целью исследованы главные антиоксиданты плазмы — церулоплазмин и трансферрин. Изучена активность церулоплазмина, насыщение трансферрина железом и индекс церулоплазмин/трансферрин среди больных ССД. Определение перечисленных показателей является объективным отображением состояния АОЗ. Результаты исследований свидетельствуют, что среди больных ССД наблюдается истощение резервов АОЗ, особенно при длительном течении болезни и при присоединении висцеральной патологии.

ABSTRACT: 110 patients with systemic scleroderma (SSD) were inspected. Changes in common clinical parameters, and shifts in the antioxidant protection system were studied. On this purpose, the main plasma antioxidants: ceruloplasmin and transferrin were studied. Activity of ceruloplasmin, transferrin saturation with iron, and the ceruloplasmin/transferrin ratio were examined in patients with SSD. Determination of the mentioned parameters objectively reflects condition of the antioxidant system. Outcome of the researches testify, that among pa-

tients with SSD antioxidant depletion is observed, especially at long illness flow and at apposition of a visceral pathology.

ВВЕДЕНИЕ

В основе развития системных заболеваний соединительной ткани (ДЗСТ) лежит воспалительный синдром. Одним из классических представителей ДЗСТ является системная склеродермия — уникальная модель системного фиброза. Процессы усиленного коллагено- и фиброзообразования занимают центральное место в патогенезе и определяют нозологическую специфику заболевания. По существу ССД — единственная клиническая форма ДЗСТ, которую и сегодня по праву можно отнести к коллагеновым болезням или коллагенозам. Принимая во внимание центральную роль патологического коллагенообразования в патогенезе ССД, интересной представляется роль меди в этих преобразованиях. Неудивительно, что в литературе описано немало доводов того, что именно при ССД наблюдается избыточный уровень меди в тканях организма при дефиците цинка. В данном случае медь исполняет одну из своих физиологических функций в организме — принимает участие в синтезе коллагена, продукция которого рез-

* Адрес для переписки: Ячишин Роман Иванович; Украина, 76018, Ивано-Франковск, ул. П. Орлика, 5, кв. 3.

ко возрастает. Но только ли поэтому уровень меди при ССД повышен?

Системная склеродермия как заболевание с хроническим, прогрессирующим ходом сопровождается активацией свободнорадикальных процессов с образованием высокоактивных форм кислорода (Гусева, 1993). Избыточная активация реакций свободнорадикального окисления представляет типовой патологический процесс, встречающийся при самых различных заболеваниях и повреждающих воздействиях на организм. Свободные радикалы — молекулы с неспаренными электронами, находящимися на внешней оболочке атома или молекулы, обладающие очень высокой реакционной способностью и, как следствие, выраженным повреждающим действием на клеточные макромолекулы. В понятие свободного радикала не включаются ионы металлов переменной валентности, неспаренные электроны которых находятся на внутренних оболочках. Доказано участие свободных радикалов в патогенезе очень многих заболеваний (шок различного генеза; атеросклероз; нарушения мозгового, коронарного и периферического кровообращения; сахарный диабет и диабетическая ангиопатия; ревматоидные, воспалительные и дегенеративные заболевания опорно-двигательной системы; поражения глаз; легочные заболевания; онкологическая патология; термические поражения; различные интоксикации; реперфузионные поражения) и преждевременного старения. Кроме того, к повышенному образованию свободных радикалов в организме приводят прием препаратов с прооксидантными свойствами, проведение ряда лечебных процедур (кислородотерапия, гипербарическая оксигенация, ультрафиолетовое облучение, лазерная коррекция зрения, лучевая терапия, цитотоксические препараты, которые часто используются именно в ревматологии), а также различные экологически неблагоприятные факторы окружающей среды.

Начальным этапом развития окислительного стресса является избыточное образование высокоактивных свободнорадикальных форм кислорода. Причинами этого могут быть как нарушение функций митохондрий, например при гипоксии (тканевая гипоксия — классический признак ССД), с прекращением образования молекул воды — конечного продукта кислородного метаболизма — и накоплением промежуточных свободнорадикальных форм кислорода, так и подавление эндогенных антиоксидантных систем, нейтрализующих свободные радикалы. Образовавшиеся свободнорадикальные формы кислорода воздействуют на фосфолипиды, точнее, на ненасыщенные жирные кислоты, входящие в их состав и высвобождающиеся при распаде фосфолипидов, и подвергают

их перекисному окислению. В ходе этого окисления образуются свободнорадикальные формы указанных кислот с повреждающими свойствами и токсичные продукты окисления. В результате происходит деструкция клеточных структур вплоть до гибели клеток.

Процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ) является очень агрессивным. Он может приводить к разрушению лизосомальных мембран с выделением деструктивных гидролитических ферментов: лизоцима, кислых и нейтральных гидролаз, катепсинов (Бурлакова, Храпова, 1985; Санина, Бердинских, 1986). В многочисленных работах исследователи многих стран указывают, что активация ПОЛ не в последнюю очередь связана со снижением системы антиоксидантной защиты (АОЗ) (Бурлакова, Храпова, 1985; Санина, Бердинских, 1986; Blake, Lunec, 1985; Gutteridge, 1986; Halliwell, Gutteridge, 1990). В частности, доказана роль в защите от окислительного повреждения ферментов супероксиддисмутазы, глютатионпероксидазы, каталазы. Нас заинтересовали изменения со стороны активности церулоплазмина и насыщенности трансферрина железом у больных на ССД как возможный маркер состояния систем АОЗ больного организма.

Церулоплазмин — медьсодержащий белок альфа-глобулиновой фракции крови человека и животного (Санина, Бердинских, 1986). Впервые выделен в чистом виде и описан в 1948 г. Как и другие медьсодержащие белки, церулоплазмин способен принимать участие в окислительно-восстановительных реакциях. Он окисляет *in vitro* много субстратов: железо, ароматические амины, фенолы, аскорбиновую кислоту и другие. В зависимости от типа окислительного субстрата его называют ферроксидазой, аминооксидазой, аскорбатоксидазой и т.д. (Halliwell, Gutteridge, 1990). Большого внимания заслуживает описанная в работах J.M.C. Gutteridge (1984) способность церулоплазмина «перехватывать» свободные радикалы супероксидов. Церулоплазмин проявляет больший антиоксидантный эффект, чем супероксиддисмутаза. Кроме того, этот белок способен ингибировать редукцию цитохрома С. Вот только некоторые из известных функций церулоплазмина: 1 — транспорт меди; 2 — мобилизация сывороточного железа для кроветворения; 3 — сывороточный антиоксидант; 4 — реагент острой фазы воспаления; 5 — регулятор уровня биогенных аминов в сыворотке крови больных: окисление катехоламинов, оксииндолов и др. (Бурлакова, Храпова, 1985; Санина, Бердинских, 1986; Blake, Lunec, 1985; Gutteridge, 1986; Halliwell, Gutteridge, 1990).

Одной из важных функций церулоплазмина является транспорт меди. В его состав входит 90—93% всей меди, что содержится в плазме крови.

Как медиатор транспорта меди, он обеспечивает поддержку уровня меди в тканях, особенно в печени. Частично эта медь используется для наполнения медьсодержащих ферментов (Blake, Lunec, 1985).

Некоторыми авторами установлено, что уровень церулоплазмина в сыворотке крови значительно увеличивается при разнообразных инфекционных заболеваниях, остром или хроническом воспалительных процессах, которые сопровождаются дистрофическими и некротическими изменениями в тканях (Санина, Бердинских, 1986). Вероятно, церулоплазмин принимает участие в специфической защите организма от повреждений. Повышение уровня этого фермента в острой фазе воспаления напоминает изменение уровня других альфа-глобулинов, которое происходит при тканевых повреждениях и воспалительных состояниях. Поэтому его называют эндогенным модулятором воспалительного ответа. Активность церулоплазмина возрастает при системных и диссеминированных процессах, к которым принадлежит и ССД.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами обследовано 110 больных системной склеродермией, которые находились на стационарном лечении в ревматологическом отделении Ивано-Франковской областной клинической больницы. Диагноз верифицировался на основе диагностических критериев, предложенных Н.Г. Гусевой (1993). Для оценки состояния больных проводились общеклинические лабораторные и инструментальные исследования. С целью выяснения состояния антиоксидантных систем организма проводилось изучение активности церулоплазмина и насыщения трансферрина железом по методу Г.О. Бабенко (1968). Уровень указанных показателей оценивался как в целом по группе больных ССД, так и в зависимости от степени активности патологии, стадии и длительности болезни. Для объективизации полученных данных нами обследовано 20 практически здоровых лиц, которые по полу и среднему возрасту были идентичны опытной группе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Среди обследованных пациентов преобладали женщины — 92 больных (83,6%). Возраст пациентов колебался от 31 до 59 лет в среднем $39,8 \pm 1,9$ года. Длительность заболевания от 1 до 9 лет, в среднем $4,6 \pm 0,9$ года. Абсолютное большинство составляли больные с I и II степенью активности патологического процесса. В частности, минимальная активность воспалительного синдрома выявлена у 36 (32,7%) пациентов, сред-

няя — у 54 (49,1%), максимальная — у 20 (18,2%) больных ССД. Среди обследованных I стадия ССД диагностирована у 39 лиц (35,5%), II — у 54 (49,1%), III — у 17 (15,5%). Висцеральную патологию определили у 91 больного (82,7%).

В своих предыдущих работах мы указывали на то, что при ССД наблюдается рост уровня первичных и вторичных продуктов свободнорадикального окисления липидов и основных показателей хемилюминограмм сыворотки крови. Это свидетельствует о снижении антиоксидантных свойств сыворотки. Для подтверждения этой идеи мы определяли у больных ССД активность антиоксидантной системы церулоплазмин-трансферрин.

Как свидетельствует таблица 1, активность церулоплазмина (Цп) у больных ССД составляет $38,28 \pm 3,42$ усл.ед., что выше соответствующего показателя здоровых доноров на 41,7% ($p < 0,01$). Активация Цп указывает на компенсаторную, защитную реакцию организма в результате снижения активности антиоксидантных резервов организма. В данном случае Цп выступает как мессенджер свободных радикалов. Его активность пропорциональна количеству свободных радикалов в сыворотке крови.

Уровень этого металлопротеида изменяется в зависимости от степени активности патологического процесса. Так, при минимальной активности воспалительного синдрома у больных ССД активность Цп достоверно возрастает на 20,5% ($p < 0,05$) сравнительно с условной нормой, при средней степени — на 37,0% ($p < 0,01$), при максимальной активности болезни — на 67,7% ($p < 0,01$).

Насыщенность трансферрина (Тф) железом у больных ССД ниже среднего уровня в контрольной группе в 1,75 раза ($p < 0,01$). При минимальной активности ССД этот показатель снижен на 40% ($p < 0,05$), при средней — на 75%, а при максимальной — в 2,2 раза ($p < 0,01$).

Нами также проведено изучение показателя соотношения Цп/Тф, который дает наиболее яркое представление о состоянии АОЗ Цп-Тф. Мы определили, что этот показатель повышается при ССД в 2,5 раза ($p < 0,01$). Наиболее весомым является такое повышение при максимальной активности патологического процесса. Установленная нами прямая корреляционная связь между уровнем активности церулоплазмина и активностью воспалительного процесса дает возможность использовать определение данного показателя в качестве одного из маркеров активности воспаления при ССД.

Как свидетельствуют полученные нами данные (табл. 2), активность АОЗ Цп-Тф зависит не только от степени активности ССД, но и от стадии патологии.

В начальной стадии ССД активность Цп и насыщенность Тф железом являются максимальными. В частности, активность Цп увеличивается на 79,6% в сравнении со здоровыми донорами ($p<0,01$), Тф — остается на уровне нормальных показателей ($p<0,001$). При прогрессе патологии ко II стадии эти показатели уменьшаются соответственно на 27,3% ($p<0,05$) и 64,7%. А вот в III, дистрофической, стадии исследуемые показатели являются наименьшими. Они становятся даже ниже, чем во всей группе обследованных больных. Такие изменения указывают на истощение антиоксидантных резервов организма при длительном течении болезни. Хотя следует указать, что при многолетнем течении ССД активность ПОЛ также снижается.

Нас также заинтересовали изменения исследуемых показателей в зависимости от формы ССД. В частности, мы хотели выяснить, как влияет присоединение к клинике ССД висцеральной патологии.

Приведенные в таблице 3 данные свидетельствуют, что уровень исследуемых показателей растет при появлении висцеритов. В частности, при присоединении к клинике ССД поражения внутренних органов активность Цп возрастает на 59,2% в сравнении с контролем ($p<0,05$). Этот же показатель является на 12,4% выше среднего по опытной группе больных. Уровень же Тф у таких пациентов является в 2,5 раза меньшим по сравнению с контрольными показателями ($p<0,001$). Таким образом, резкое повышение Цп при одновременном снижении Тф при ССД может указывать на опасность присоединения висцеральной патологии. Такие результаты можно объяснить тем, что при резком увеличении процессов ПОЛ с одновременным снижением активности антиоксидантных систем создаются условия для длительной персистенции мембранно- и цитотоксичных веществ. Это приводит к токсическому повреждению внутренних органов,

что усугубляется истинно склеродермическим прогрессированием болезни.

ВЫВОДЫ

1. У больных ССД наблюдается активация свободнорадикальных процессов окисления липидов.

2. Активность церулоплазмина и насыщение трансферрина железом возрастают при ССД как компенсаторная реакция организма на активацию ПОЛ.

3. Уровень активности церулоплазмина и трансферрина зависит от степени активности ССД и ее стадии.

4. Активность церулоплазмина и трансферрина резко повышается при прогрессировании висцеральной патологии.

5. Определение активности медиодержащего фермента церулоплазмина может служить одним из маркеров активности и тяжести ревматических болезней.

Литература

Бурлакова Е.В., Храпова Н.А. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты // Успехи химии. 1985. Т. 54, вып. 9. С. 1540—1558.

Гусева Н.Г. Системная склеродермия и псевдосклеродермические синдромы. М.: Медицина, 1993. 269 с.

Санина О.Л., Бердинских Н.К. Биологическая роль церулоплазмина и возможность его клинического применения // Вопросы медицинской химии, 1986. № 5. С. 7—14.

Blake D.C., Lunec J. Copper, iron, free radicals and arthritis // Brit J Rheumatol. 1985, 24(1):123—125.

Gutteridge J.M.C. Antioxidant properties proteins caeruloplasmin, albumin and transferrin // Biochem et Biophys Act. 1986, 869(2):119—127.

Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Antioxidant human extracellular fluids // Arch Biochem and Biophys. 1990, 200(1):1—8.

Таблица 1. Активность антиоксидантной системы церулоплазмин-трансферрин у больных ССД в зависимости от степени активности болезни

Клинические группы	Церулоплазмин, усл. ед.	Насыщенность трансферрина железом, усл. ед.	Цп/Тф, усл. ед.
Здоровые (n=20)	27,01±1,02	0,28±0,02	96,5±27,3
Больные ССД (n=110)	38,28±3,42*	0,16±0,04*	239,3±28,1**
I степень активности (n=36)	30,55±1,25*	0,20±0,03*	152,8±15,6*
II степень активности (n=54)	37,01±1,36*	0,16±0,03*	231,3±17,3**
III степень активности (n=20)	45,29±1,26*	0,13±0,04*	348,4±17,5**

Примечание: * — p < 0,01; ** — p < 0,001 в сравнении с контролем.

Таблица 2. Активность антиоксидантной системы церулоплазмин-трансферрин у больных ССД в зависимости от стадии болезни

Клинические группы	Церулоплазмин, усл. ед.	Насыщенность трансферрина железом, усл. ед.	Цп/Тф, усл. ед.
Здоровые (n=20)	27,01±1,02	0,28±0,02	96,5±27,3
Больные ССД (n=110)	38,28±3,42*	0,16±0,04*	239,3±28,1**
I стадия (n=39)	48,51±1,42*	0,24±0,02	202,1±16,2*
II стадия (n=54)	38,11±1,24*	0,17±0,03*	224,2±18,5*
III стадия (n=17)	28,67±1,79*	0,11±0,04*	260,6±15,0**

Примечание: * — p < 0,01; ** — p < 0,001 в сравнении с контролем.

Таблица 3. Активность антиоксидантной системы церулоплазмин-трансферрин у больных ССД в зависимости от формы болезни

Клинические группы	Церулоплазмин, усл. ед.	Насыщенность трансферрина железом, усл. ед.	Цп/Тф усл. ед.
Здоровые (n=20)	27,01±1,02	0,28±0,02	96,5±27,3
Больные ССД (n=110)	38,28±3,42*	0,16±0,04*	239,3±28,1**
Кожно-суставная форма (n=19)	33,89±1,69*	0,26±0,03	130,3±28,1*
ССД с висцеритами (n=91)	43,01±1,19**	0,11±0,02**	391,0±16,4**

Примечание: * — p < 0,01; ** — p < 0,001 в сравнении с контролем.