

# Клинико-иммунологические закономерности при разных патогенетических вариантах синдрома Рейно

\*А.И.Романов, Л.Н.Шилова, Н.Н. Емельянов, И.П.Гонтарь

\*ФГУ "Центр Реабилитации" УД Президента РФ,

Волгоградский государственный медицинский университет, г.Волгоград  
НИИ Клинической и Экспериментальной Ревматологии РАМН, г.Волгоград

Механизмы развития синдрома Рейно (СР) сложны и недостаточно изучены, доказана его многофакторная природа с участием нейрогенной, сосудистой, медиаторной и иммунной систем. Подчеркивается роль реперфузии и свободных кислородных радикалов в генезе ишемии при СР. Нами рассмотрены иммунологические, капилляроскопические особенности различных форм синдрома Рейно. В крови больных системной склеродермией нами выявлены антитела к ферментам антиоксидантной системы, которые могут быть что одним из механизмов нарушения работы ферментных систем.

**Ключевые слова:** системная склеродермия, синдром Рейно, вибрационная болезнь супероксиддисмутазы, антитела.

Mechanisms of developing Raynaud's syndrome (RS) are complex and not enough well studied. Its multifactor character with the involvement of neurogenic, vascular, mediator and immune systems has been proven. The role of reperfusion and free oxygen radicals in ischemia genesis in RS is underlined. We have studied immunological and capillaroscopic peculiarities in patients with RS. In the blood of patients with systemic scleroderma we have revealed antibodies to the enzymes of antioxidant system which can be one of the mechanisms of disorders in enzyme systems.

**Key word:** systemic scleroderma, Raynaud's syndrome, vibration disease, superoxidismutaza, antibodies.

Синдром Рейно (СР) — это эпизодическое нарушение периферической циркуляции, характеризующееся 3- или 2-фазным пароксизмальным вазоспазмом, проявляющимся побелением (ишемия), цианозом и реактивной гиперемией пальцев рук, реже ног в связи с воздействием холода и эмоциональных стрессов [2,3]. Различают первичный СР (или болезнь Рейно) и вторичный СР, при котором наблюдается сочетание синдрома Рейно с симптомами других заболеваний. Наиболее часто вторичный СР ассоциируется с системной склеродермией (в 70% случаев является первым признаком заболевания) [3]. Кроме того, синдром Рейно может развиваться в результате воздействия профессиональных факторов, наиболее частыми являются вибрация, охлаждение и контакт с поливинилхлоридом. Однако и другие факторы, например работа с тяжелыми металлами, кремниевой пылью, должны учитываться при сборе профессионального анамнеза у больных, страдающих СР [3]. Механизмы развития СР сложны и недостаточно изучены, доказана его многофакторная природа с участием нейрогенной, сосудистой, медиаторной и иммунной систем. Подчеркивается роль реперфузии и свободных кислородных радикалов в генезе ишемии при СР [3,5,7]. Антиоксидантная система организма представлена целым рядом ферментов, призванных нивелировать патогенный эффект активных форм кислорода (АФК). При патологических состояниях нарушается равновесие между агрессивными и защитными факторами, что ведет к еще более глубокому повреждению тканей [4,8]. Одним из важных звеньев системы антиоксидантной защиты является супероксиддисмутазы (СОД — ЕС 1.15.1.1). Учитывая важную роль иммунологических сдвигов в развитии системного склероза [6], можно предположить, что одним из механизмов нарушения работы ферментных систем могут быть аутоантитела к ферментам.

Особый интерес представляет выявление клинико-лабораторных и инструментальных особенностей различных патогенетических форм СР, в частности СР при системном склерозе и при вибрационной болезни. Наибольшие трудности представляет дифференциальный диагноз синдрома Рейно при дебюте вибрационной болезни.

**Цель исследования:** выявление клинико-иммунологических параллелей при разных формах синдрома Рейно.

## Материалы и методы исследования

Под наблюдением находилось 30 практически здоровых лиц — доноров станции переливания крови, в возрасте от 25 до 47 лет, среди которых 17 женщин и 13 мужчин, 40 больных с достоверным диагнозом ССД, 20 — с первичным синдромом Рейно, 25 с вибрационной болезнью. У 100% больных ССД диагностирован синдром Рейно.

## Больные с системной склеродермией

Среди обследованных больных ССД было 38 (95%) женщин и 2 (5%) — мужчин. Средний возраст больных —  $38 \pm 3.3$  г, продолжительность болезни —  $14 \pm 2,6$  г. 27 (67,5%) из наблюдавшихся больных имели лимитированную форму болезни, 13 (32,5%) — диффузную. I степень активности установлена у 16 (40%), II — у 23 (57,5%), III — у 1 (2,5%) больных. Хроническое течение выявлено у 16 (40%) пациентов, подострое — у 23 (57,5%), острое — у 1 (2,5%). 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 ст. активности. I стадия заболевания (начальная) диагностирована у 10 (25%) больных, II (генерализованная) — у 26 (65%), III (терминальная) — у 4 (10%). У 80% больных ССД отмечалась выраженная форма синдрома Рейно (II, III, IV степени). Характеристика больных представлена в таблице №1.

## Больные с первичным синдромом Рейно

В этой группе больных также преобладали женщины — 18 (90%), средний возраст больных —  $27 \pm 2.4$ , продолжительность клинических проявлений синдрома Рейно, в основном, не превышала 3 лет, составив в среднем  $3,5 \pm 2.3$  (лишь в двух случаях продолжительность превышала 5 лет). При первичном СР (на момент осмотра) — в более 50% случаев диагностирован синдром Рейно I и II степени.

Таблица 1

## Клинико-лабораторная характеристика больных ССД

Клинические и лабораторные признаки	ССД N (%)
Синдром Рейно I степени	40 (100%)
II степени	8 (20%)
III степени	16 (40%)
IV степени	10 (25%)
Гиперпигментация	6 (15%)
Гиперпигментация	12 (30%)
Телеангиоэктазии	21 (52,5%)
Суставной синдром	40 (100%)
Мышечный синдром	2 (5%)
Поражение ЖКТ	32 (80%)
Поражение сердца	20 (50%)
Поражение легких	36 (90%)
Hb < 115 г/л	5 (12,5%)
СОЭ > 20 мм/час	14 (35%)
АНФ	28 (70%)
СРБ	7 (17,5%)
At Scl-70	16 (40%)

**Больные с вибрационной болезнью**

Под наблюдением находилось 25 больных с локальной вибрационной болезнью, из них мужчины – 100%. Средний возраст пациентов –  $42 \pm 3,1$ , продолжительность болезни –  $3,5 \pm 1,2$  лет, длительность работы, связанной с вибрацией, составила в среднем  $6,3 \pm 3,1$  лет. У 70% больных отмечалась выраженная форма синдрома Рейно (II, III, IV степени).

Всем больным проводились общеклинические лабораторные исследования: общий анализ крови, мочи, уровень мочевой кислоты, иммунологические тесты: АНФ, антитела к СОД.

Антитела к СОД определяли в сыворотке крови больных по разработанному нами варианту непрямого иммуноферментного анализа [1], с использованием иммобилизованных антигенных форм фермента и иммунопероксидазного конъюгата производства НИИ ЭМИ им. Гамалеи. 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. Все исследования проводились при поступлении и при выписке из стационара после завершения лечения. В качестве антигена при определении антител к СОД использовали коммерческий препарат СОД из эритроцитов человека производства НПО «Биопрепарат» с активностью 30 Ед/мг. Активность СОД определяли по методу Чевари С.и соавт. (1993).

Всем больным ССД, вибрационной болезнью и с первичным синдромом Рейно проводилась капилляроскопия сосудов ногтевого ложа.

Изучение влияния антител к СОД на ее активность проводили в опытах *in vitro* с растворимой и иммобилизованной формами фермента. Источником специфических иммуноглобулинов служили сыворотки больных ССД с заранее высоким титром антител (экстинкция 0,2 – 0,6 е.о.п.). «Чистые» антитела к ферменту получали с помощью

соответствующего антигенного иммуносорбента. После диализа против забуференного физиологического раствора и последующего концентрирования через полупроницаемую мембрану системы «Sartorius» до первоначального объема сыворотки, антитела использовали в эксперименте по изучению их взаимодействия с ферментом. Количество фермента в иммобилизованной и растворимой формах было сопоставимо. В качестве контроля использовали физиологический раствор и сыворотки доноров.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программных пакетов «STATISTICA 6.0».

**Результаты исследования и их обсуждение**

**Здоровые лица.** При исследовании сывороток здоровых лиц уровень антител к СОД составил  $0,07 \pm 0,004$ . Показатели, превышающие эти значения на величину 2 стандартных отклонений, были приняты за верхнюю границу нормы: 0,114. Общая активность СОД в группе здоровых лиц составила  $38,2 \pm 1,2$  МЕ, амплитуда колебаний величины активности составила 25,1 – 51,28 МЕ. Существенных различий уровня антител к энзиму в зависимости от пола, возраста – не выявлено.

**Больные с первичным синдромом Рейно.** При исследовании сывороток: у 1(5%) пациента выявлены антитела к СОД. Активность фермента имела тенденцию к снижению по сравнению со здоровыми лицами ( $p > 0,02$ ) (см. табл. 2), что, вероятно, связано с большим напряжением антиоксидантной системы при наличии синдрома Рейно, приводящего к гипоксии тканей. Выраженность уменьшения активности энзимов достоверно меньше, чем в группе больных ССД ( $p < 0,005$ ).

**Больные вибрационной болезнью.** При исследовании сывороток больных антитела к изучаемому энзим обнаружены у 2 пациентов (8%), что, вероятно, связано с выраженной прогрессией их заболевания (III стадия). Активность фермента в группе больных достоверно ниже по сравнению с здоровыми ( $p < 0,005$ ) и имела тенденцию к большему снижению по сравнению с больными с первичным синдромом Рейно ( $p > 0,02$ ) (см. табл.2).

**Больные ССД**

При поступлении на стационарное лечение у больных ССД наблюдалось достоверное снижение активности СОД ( $22,6 \pm 2,4$ ,  $p < 0,002$ ), причем отмечалась тенденция к более выраженному снижению активности по мере нарастания активности процесса (см. табл. 2). У больных ССД (группа в целом) антитела к СОД выявлены у 16 больных (40%).

При минимальной степени активности патологического процесса (16 человек) высокие уровни антител к СОД выявлены у 6 (37,5%) больных. При ССД со II и III ст. активности (24 больных) по сравнению со здоровыми выявлено снижение активности СОД ( $p < 0,001$ ) и увеличение уровня антител ( $p < 0,001$ ), отмечается увеличение количества больных, в сыворотке которых выявлены высокие уровни антител: к СОД – у 10 (41,6%) (см. табл. 2).

Всем больным ССД была проведена капилляроскопия сосудов ногтевого ложа, выявлены характерные изменения разной степени выраженности: у 22 пациентов (55%) – значительные нарушения (уменьшение количества капилляров, их деформация, наличие нескольких аваскулярных зон) – активный тип капилляроскопической картины, у 10 (25%) умеренные, у 8 (10%) – невыраженные – неактивный тип.

Таблица 2

Показатели активности СОД и содержание антител к ферменту в сыворотке крови здоровых лиц, больных ССД, вибрационной болезнью, с первичным СР

Контингент	N	Статист. показатели	Акт. СОД	АТ к СОД
Здоровые	30	M m	38,2 1,2	0,07 0,004
Больные Ист. акт.	16	M m	25,1* 3,2	0,15* 0,003
Больные со II–III ст.	24	M m	20,2* 2,7	0,21* 0,003
Больные с первичным СР	20	M m	35,1 1,4	0,08 0,003
Больные с вибрационной болезнью	25	M m	28,2* 1,1	0,084 0,002

\*достоверные отличия с донорами

У 19 (90%) больных с первичным синдромом Рейно при капилляроскопии сосудов ногтевого ложа определялись явления умеренного вазоспазма без деформации сосудов и аваскулярных зон, у 1 (10%) пациента диагностированы изменения, типичные для ССД. Учитывая полученные результаты, необходимо наблюдение в динамике, т.к. высока вероятность развития системного процесса.

У 20 (80%) больных вибрационной болезнью определялись выраженные явления ангиоспазма, у 4 (16%) – спастико-атонические изменения, в отличие от больных ССД не наблюдались аваскулярные зоны и «кустовидные» деформации капилляров, определялся прерывистый кровоток. У 1 (4%) больного вибрационной болезнью I стадии капилляроскопическая картина представляла особый интерес, так как имела схожие признаки с больными ССД: количество капилляров – уменьшено, отмечалась 1 аваскулярная зона. Учитывая непродолжительный анамнез заболевания, наличие профессиональных факторов, этот больной требует динамического наблюдения с целью исключения дебюта системного заболевания соединительной ткани, возможно индуцированного.

Кроме того, нами выявлено, что все больные ССД с высоким содержанием антител к изучаемым ферментам имели высокую степень синдрома Рейно (II – IV). Известно, что СР приводит к ишемии и, следовательно, гипоксии тканей [3]. В результате этих процессов происходит усиление перекисидации мембранных структур, апоптоза клеток, что при снижении антиоксидантной защиты, в том числе, вероятно, вследствие образования антител к ферментам, наблюдающейся при системных

заболеваниях соединительной ткани, способствует развитию различной висцеральной патологии [4].

В опытах *in vitro*, проведенных для определения патогенетической роли антител к изучаемому ферменту, нами были выявлены следующие закономерности, представленные в таблице 3. При проведении исследования активности иммобилизированной формы фермента после взаимодействия с антителами *in vitro*, нами выявлено снижение активности энзима на 60–70% по сравнению с исходной, кроме того, получены статистически достоверные различия с контролем (физиологический раствор) и донорами ( $p < 0,05$ ) (таблица 3). Эти изменения связаны, вероятно, с блокированием активного центра фермента, являющегося одновременно и антигенной детерминантой.

При исследовании взаимодействия растворимой формы энзима нами обнаружено снижение активности фермента на 30–40%, вероятно, это можно объяснить конформационными изменениями структуры молекулы, приводящими к неполному совпадению активного центра фермента и его антигенной детерминанты. Таким образом, можно предположить, что выявляемые нами антитела к ферменту антиоксидантной системы являются одной из вероятных причин снижения их энзиматической активности у больных с системным склерозом.

### Заключение

Итак, в крови больных с системной склеродермией выявляются антитела к СОД, продукция которых увеличивается с возрастанием активности процесса, наличием более тяжелых форм течения заболевания и сопровождается снижением активности фермента. Следовательно, одной из причин угнетения антиоксидантной активности, вероятно, могут явиться аутоантитела к энзиму. В крови больных с первичным синдромом Рейно выявлены достоверно менее выраженные изменения антиоксидантной системы и несущественная продукция антител к энзиму. Обнаружение антител к ферментам в крови больных с первичным СР может, вероятно, служить прогностически неблагоприятным фактором возможного начала системного заболевания соединительной ткани, поэтому эти больные требуют тщательного наблюдения в динамике.

В группе больных с СР на фоне вибрационной болезни отмечается выраженное угнетение активности фермента и незначительная продукция антител к СОД, по сравнению с больными ССД. Это, вероятно, связано с другими механизмами развития синдрома Рейно, меньшим участием аутоантителогенеза. Угнетение активности фермента обусловлено, видимо, высоким напряжением антиоксидантной системы на фоне выраженной гипоксии и продукции АФК.

Сравнительная характеристика активности иммобилизированной и растворимой форм фермента после взаимодействия с антителами

Фермент	Форма фермента (исходная активность)	Активность фермента после взаимодействия		
		с антителами (n=30)	с сывороткой доноров	контроль (физ. раствор)
СОД (ЕД/мг)	Иммобилизованная (34,3 ЕД/мг)	10,2±0,06*	33,4±0,14	37,3±0,05
	Растворимая (32,2 ЕД/мг)	19,3±0,07*	32,3±0,1	37,5±0,07

\* – достоверные отличия с контролем и донорами

Таблица 3

### Литература

- Гонтарь И.П. Иммобилизованные гранулированные антигенные препараты с магнитными свойствами в диагностике и лечении ревматоидного артрита, системной красной волчанки и системной склеродермии. Автореферат дис... докт. мед. наук. – Волгоград. – 2006. – С. 56.
  - Гусева Н.Г. // РМЖ. – 2000. № 9. том 8. – С. 383 – 388.
- И др. авторы.