

лечении вирусно-бактериальных инфекций у детей. Пособие для врачей. — М., — 2002. — 16 с.

21. Феклисова Л.В., Афанасьев С.С., Мескина Е.Р. и др. // *Вопр. современной педиатрии*. — 2003. — Т. 2, № 2. — С. 40—44.

22. Феклисова Л.В., Шебекова В.И., Целипанова Е.Е. и др. // *Вопр. современной педиатрии*. — 2003. — Т. 2, № 6. — С. 81—84.

23. Феклисова Л.В., Мескина Е.Р., Галкина Л.А. и др. // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. — 2003. — № 4. — С. 54—57.

24. Феклисова Л.В., Мескина Е.Р., Афанасьев С.С., Алёшкин В.А. *Препараты интерферона в лечении острых кишечных инфекций у детей. Пособие для врачей*. — М., — 2005. — 21 с.

25. Феклисова Л.В., Каражас Н.В., Савицкая Н.А. и др. // *Детские инфекции*. — 2005. — Том 4, № 1. — С. 66—69.

Прикладные аспекты определения антител к фибронектину у больных коллагенозами на стационарном этапе реабилитации

И.И. Гонтарь, О.В. Старова, Л.Н. Шилова, Л.А. Маслакова, А.И. Романов

ГУ НИИ клинической и экспериментальной ревматологии РАМН; Волгоградский ГМУ;

Центр реабилитации Управления делами Президента РФ

Интерес к изучению ревматических заболеваний (РЗ) на протяжении последних десятилетий не ослабевает. Преимущественное поражение лиц трудоспособного возраста, хроническое и часто прогрессирующее течение этих заболеваний обуславливают высокую временную и стойкую нетрудоспособность, поэтому их изучение имеет, помимо медицинского, важное социально-экономическое значение. Несмотря на достигнутые успехи в диагностике и лечении указанной патологии, задача своевременной постановки диагноза, назначения адекватной терапии и контроля за ее эффективностью часто бывает осложнена. Вариативность клинической картины осложняет диагностику, что, в свою очередь, не позволяет выработать оптимальную терапевтическую тактику.

В числе основных задач инициированной под эгидой ВОЗ Всемирной декады по заболеваниям, поражающим двигательный аппарат человека (2000—2010 гг.), были названы дальнейшее изучение патогенетических механизмов ревматических заболеваний, совершенствование и внедрение в практику новых методов ранней диагностики и лечения с учетом не только клинической, но и экономической эффективности и целесообразности.

Как показали новейшие разработки, иммуноферментные методы анализа (ИФА) с использованием иммобилизованных магнитосорбентов (МС) на основе антигенов нуклеиновой, липидной и белковой природы в полной мере отвечают указанным требованиям. Неоспоримые преимущества метода заключаются, в первую очередь, в повышении стабильности иммобилизованного биополимера, а также возможности регенерировать сорбент, что ведет к значительному экономическому эффекту. Кроме того, иммобилизация биологически активных веществ в поверхностном слое гранулы создает высокую концентрацию антигена именно в реакционно-активной зоне, что повышает чувствительность твердофазных методов анализа. Включение магнитного материала в гранулы дает возможность ускорить и упростить манипуляции на всех этапах исследования, улучшая качественные характеристики определений и увеличивая число обрабатываемых проб. Указанные преимущества делают этот метод экономичным и легко применимым в практической медицине [1].

Антителообразование к фибронектину (ФН) при РЗ представляет собой малоизученную проблему. Выбор этого высокомолекулярного гликопротеида в качестве объекта исследования не случаен. Благодаря многообразию свойств, ФН

принимает участие во многих жизненно важных процессах, таких, как фагоцитоз, гемостаз, модулирование проницаемости сосудистой стенки, формирование внеклеточного соединительнотканного матрикса [2, 3, 4, 7, 10].

На сегодняшний день участие ФН в патогенезе РЗ не вызывает сомнений. В основе большинства клинических проявлений данной группы болезней лежит васкулярная недостаточность. Среди возможных причин ее возникновения определенная роль отводится снижению опсонизирующей и антитромботической способности ФН. Было предположено, что, наряду с перенасыщением активных доменов продуктами тканевой деградации, одним из факторов функциональной недостаточности ФН при РЗ может являться образование антител к нему. Имеющиеся сообщения о выявлении антител (АТ) к системной красной волчанке (ФН) у больных СКВ варьируют в пределах 28,7—43,1%, что связано с применением различных методик исследования и существованием разновидностей ФН [2, 3, 7, 10, 11].

Целью нашего исследования являлось усовершенствование иммунологической диагностики СКВ, системной склеродермии (ССД) и ревматоидным артритом (РА) на стационарном этапе реабилитации путем определения АТ к ФН с использованием иммобилизованной формы магнитоуправляемого сорбента.

Материал и методы исследования

Исследовалась сыворотка 36 практически здоровых лиц (доноров Областной станции переливания крови), 94 больных РА, 53 — СКВ и 34 — ССД. Обследованные нами больные являлись пациентами ревматологических отделений МУЗ ГБ № 25 г. Волгограда и МУЗ ГБ № 1 г. Волжского.

АТ к ФН определяли иммуноферментным методом с использованием иммобилизованных магнитосорбентов [1]. Полученные значения выражали в единицах оптической плотности (е.о.п.) и считали положительными при превышении величин экстинкции, найденных для здоровых лиц, более чем на 25.

Для окончательной интерпретации результатов применяли поправку на неспецифическое связывание, обусловленную взаимодействием Fc-фрагмента IgG с клеточным доменом ФН. Для этого выделяли из исследуемых сывороток IgG, подвергали его папаиновому гидролизу и проводили фракционирование Fc- и Fab-фрагментов методом ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе [5, 6, 8]. Каждый из фрагментов впоследствии подвергали ИФА.

Обработка данных проводилась с использованием программного пакета STATISTICA FOR WINDOWS.

Результаты исследования и их обсуждение

Значения экстинции при постановке ИФА с Fab-фрагментами IgG больных РЗ были сопоставимы с таковыми в контрольных пробах. Показатели оптической плотности с Fc-фрагментами составили 5,6 — 15% от полученных результатов. Повышенные уровни АТ к ФН при применении ELISA-теста с использованием иммобилизованных магнитосорбентов и поправкой на неспецифическое связывание выявлены у 37 (39,4%) больных РА, 11 (32,4%) больных ССД и 22 (41,6%) больных СКВ, при этом во всех случаях исследуемый показатель коррелировал со степенью активности заболевания ($p < 0,05$). В связи с этим АТ к ФН можно рассматривать как своеобразный серологический маркер РЗ и использовать их в качестве дополнительных индикаторов тяжести патологического процесса.

Была установлена связь между концентрацией АТ к ФН и некоторыми клиническими проявлениями указанных заболеваний. Так, при РА максимальные значения исследуемых АТ выявлялись у пациентов с висцеральными проявлениями и, в особенности, при поражении ретикуло-эндотелиальной системы (РЭС) ($p < 0,01$). Данный факт подтверждает то, что антителообразование к ФН, снижая его опсоническую активность, может являться одной из причин блокады РЭС при суставно-висцеральных формах РА.

Проведенные ранее исследования на животных показали, что ФН в составе ИК может являться одним из факторов почечного повреждения при СКВ. Выявленная нами ассоциация между наличием АТ к ФН и волчаночной нефропатией подтверждает гипотезу об участии ФН-содержащих иммунных комплексов в развитии люпус-нефрита.

Вовлечение в патологический процесс нервной системы при ССД и сердечно-сосудистой системы при ССД и СКВ, имеющих в своей основе сосудистую недостаточность, также ассоциировались с высокими значениями исследуемых показателей ($p < 0,05$). В качестве дополнительного фактора сосудистого повреждения у таких пациентов может выступать отложение в эндотелии ФН-содержащих иммунных комплексов, стимулирующих рост его пролиферативной способности и секрецию молекул адгезии. Развивающееся в результате этого снижение реологических свойств крови и повышение тромбообразования может способствовать возникновению клиники церебрального васкулита и коронарита. Возможно, не последнюю роль в развитии ишемических повреждений играет ослабление антитромботических функций ФН, связанное с конформационными изменениями молекулы и блокадой его активных центров антителами.

Клинико-лабораторное улучшение, отражавшее уменьшение остроты патологического процесса, в большинстве случаев сопровождалось снижением уровня исследуемых антител. При этом более выраженная динамика наблюдалась при СКВ, что, скорее всего, связано с длительным применением

иммуносупрессивных препаратов и более частым назначением плазмафереза.

Выводы

1. В сыворотках крови значительной части больных РА, СКВ и ССД методом ИФА с применением иммобилизованной формы магнитоуправляемого сорбента выявляются АТ к ФН.

2. Уровень АТ к ФН при СКВ, ССД и РА коррелирует со степенью активности заболевания, что позволяет использовать его определение в качестве дополнительного критерия активности патологического процесса.

3. Обнаруженные закономерности поражения тех или иных органов у больных СКВ, ССД и РА с повышенными титрами АТ к ФН дают возможность прогнозировать клинический вариант заболевания и проводить своевременную коррекцию начинающихся нарушений.

4. Снижение концентрации АТ к ФН на фоне проводимой терапии на стационарном этапе реабилитации, позволяет использовать ее определение для оценки эффективности проводимой терапии наряду с традиционными клинико-лабораторными показателями.

5. Изучение антителообразования к ФН расширяет имеющиеся представления о патогенезе РЗ и намечает направления для дальнейших научных изысканий.

Работа выполнена при поддержке Регионального общественного фонда содействия отечественной медицине.

Литература

1. Гонтарь И.П., Зборовский А.Б., Левкин С.В., Сычева Г.Ф. Способ получения магнитных полиакриламидных гранул // Авт. Свид. На изобретение № 15882657. - 1990.
2. Дранник Т.Н., Романенко А.М., Ена Я.М. // Врачебное дело. - 1988. - №3. - С. 102-106.
3. Ена Я.М., Коноплева Л.Ф., Чаяло А.А. и др. // Клин. Медицина. - 1991. - № 2. - С. 24-30.
4. Ермолин Г.А., Овчарук И.Н., Федотов А.В. и др. // Вестник академии мед. наук СССР. - 1991. - №2. - С. 55-60.
5. Иммунологические методы / Фримель Х., пер. с нем. - М.: Мир, 1987. - 472 с.
6. Кульберг А.Я. Антииммуноглобулины. - М.: Медицина, 1978. - 184 с.
7. Муминов Т.А. // Пат. физиология и экспериментальная терапия. - 1985. - №6. - С. 82-87.
8. Остерман Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот — М.: Наука, 1985. — 536 с.
9. Таова М.Х., Курданов Х.А. // Клин. Медицина. — 1996. - №7. - С. 50-51.
10. Am M.S., Lim K.L., Ala'deen D.A. et al. // Ann. Rheum. Dis. - 1995. - Vol. 54. - № 2. - P. 117-124.
11. Voskuyl A.E., Emeis J.J., Hazes J.M. et al. // Clin. Exp. Rheumatol. - 1998. - Vol. 16. - №4- P. 429-434.