

УДК 616-097  
616.8-009.7

## Маркеры изменения гуморального иммунитета у пациентов с дорсалгией и их связь с возрастом

О.Ю. Польшаная<sup>1</sup>, В.С. Морозова<sup>1</sup>, А.И. Левашова<sup>1</sup>, М.А. Мягкова<sup>1</sup>, И.А. Мосейкин<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт физиологически активных веществ РАН, г. Черноголовка, Московская обл., Россия

<sup>2</sup> Городская клиническая больница имени С.П.Боткина, Москва, Россия

## Markers changes of humoral immunity in patients with dorsalgia and their relationship with age

O.Yu. Polyvanaya<sup>1</sup>, V.S. Morozova<sup>1</sup>, A.I. Levashova<sup>1</sup>, M.A. Myagkova<sup>1</sup>, I.A. Moseykin<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Russian Academy of Science Institute for Physiologically Active Compounds, Chernogolovka, Moscow region, Russia

<sup>2</sup> Botkin hospital, Moscow, Russia

### Аннотация

Проведено определение маркеров, отражающих изменения гуморального иммунитета у больных дорсалгией в сравнении с аналогичными показателями у здоровых людей. В качестве объекта исследования выбраны естественные антитела к бета-эндорфину, орфанину, серотонину, дофамину и ангиотензину. В работе проанализированы уровни е-Ат к указанным биорегуляторам в сыворотке крови здоровых людей и пациентов, страдающих дорсалгией. Достоверные отличия выявлены ко всем исследуемым веществам. Проведен анализ зависимости уровней е-Ат от возраста пациентов. Установлена диагностическая значимость метода определения е-Ат к бета-эндорфину, орфанину, серотонину, дофамину и ангиотензину позволяющая применять данные анализа маркеров для пациентов с болями в независимости от возраста.

### Ключевые слова

Болевой синдром, боль, бета-эндорфин, серотонин, дофамин, ангиотензин, орфанин, естественные антитела.

Проблема диагностики боли не теряет своей актуальности уже долгое время, т.к. именно боль чаще всего является причиной обращения за медицинской помощью. При этом оценить степень вовлеченности организма в патологический процесс бывает довольно трудно, в том числе при

### Summary

A definition of markers reflecting the changes of humoral immunity in patient with dorsalgia was performed compared with those in healthy people. The objects of investigation chosen were natural antibodies to beta-endorphin, orphanin, serotonin, dopamine and angiotensin. In the paper the levels of n-Ab to these bioregulators in the serum of healthy individuals and patients suffering dorsalgia were analysed. Significant differences for all n-Ab were revealed. The relationship between the level of n-Ab and age of the patients was investigated. The diagnostic significance of the determination of n-Ab to beta-endorphin, orphanin, serotonin, dopamine and angiotensin allows to apply the analysis data for patients with pain, regardless the age.

### Keywords

Pain syndrome, pain, beta-endorphins, serotonin, dopamine, angiotensin, orphanin, natural antibodies.

отсутствии лабораторных исследований, так как нет установившихся объективных показателей состояния систем, участвующих в образовании и проведении болевой пульсации. Выявлены вещества, позволяющие четко отследить индивидуальные изменения в организме пациента, стра-

дающего заболеваниями, важным проявлением которых является болевой синдром. Это позволит в будущем улучшить систему формирования индивидуальных рекомендаций при неврологических болезнях [1]. Литературные данные свидетельствуют об исследованиях последних десятилетий направленных на поиск показателей-маркеров боли и внедрение их лабораторного анализа в практику. Известно, что в процессе формирования болевых ощущений значительную роль играют эндогенные биорегуляторы (ЭБ) [2]. К ним относятся гистамин, серотонин, дофамин, бета-эндорфин, относительно недавно выявлена роль орфанина, ангиотензина в этих процессах. Также установлено, что в развитии и передаче болевых импульсов активно участвуют компоненты и механизмы не только эндокринной, но и иммунной систем – то есть в основе хронической боли лежит нарушение нейронального взаимодействия, что оказывает существенное влияние на иммунную систему [3]. Следовательно, наиболее информативными будут показатели, отражающие изменения состояний обеих систем у людей с болевым синдромом. Одним из вариантов таких соединений стали естественные антитела (e-Ат). Они постоянно циркулируют в организме человека, выполняя физиологические функции иммунорегуляции. При возникновении «внештатных ситуаций», например, сильной боли различной продолжительности, изменяется уровень участвующих в реакции организма эндогенных биорегуляторов и e-Ат к ним. Сами ЭБ – вещества короткоживущие, концентрация в сыворотке постоянно меняется. Авторы работ, посвященных определению их уровней, отмечают трудности при измерении содержания [4]. Поэтому в работе мы использовали в качестве маркеров e-Ат к ряду ЭБ, которые длительное время сохраняют свою концентрацию в крови и отражают нарушения в системе регуляции нейроиммунных взаимодействий [5, 6, 7].

Для исследования были выбраны e-Ат к следующим ЭБ: серотонин – является одним из химических передатчиков импульсов в головном мозге человека, выявлено, что при пониженном содержании серотонина ослабевает эффект анальгезии, понижаются болевые пороги, чаще развиваются «болевые приступы». Существует гипотеза, что серотонин совместно с гистамином и простагландинами участвует в возникновении на месте повреждения болевой пульсации. Дофамин – «гормон удовольствия», традиционно его связывают с чувством радости и удовлетворенности, может влиять на интенсивность ощущения

боли. Бета-эндорфин – образуется в клетках центральной нервной системы человека, эндогенный лиганд опиоидных рецепторов. Показан вклад в избавление от отрицательных эмоций и болевых проявлений. Ангиотензин – гормон, прежде всего, известен как участник регуляции давления крови, предполагается значительный вклад в восприятие болезненных ощущений. Известны эксперименты [8], выявляющие возможность ангиотензина изменять уровень восприятия боли у испытуемых людей. Орфанин – нейропептид, эндогенный лиганд ноцицептиновых рецепторов. Обладает сильным анти-анальгезирующим действием.

Цель работы заключалась в выявлении изменений уровня естественных антител к бета-эндорфину, орфанину, серотонину, дофамину и ангиотензину, и установлении взаимосвязи с возрастными показателями у здоровых людей и больных дорсопатией.

### Материалы и методы

В исследовании приняли участие 36 здоровых людей, соотношение мужчин и женщин 1,1 (19 мужчин, 17 женщин), средний возраст составил  $38 \pm 9$  лет (от 22 до 58 лет). Из людей, поступающих в стационар с дорсопатией, была сформирована группа численностью 109 человек, соотношение мужчин и женщин – 0,88 (51 мужчина, 58 женщин), средний возраст  $47 \pm 12$  лет (от 16 до 72 лет). Для определения уровней e-Ат у всех собирали кровь из вены в биохимическую пробирку, утром, натощак. Затем кровь термостатировали в течение 30 минут при температуре  $37^\circ\text{C}$  с последующим центрифугированием на 3000 об/мин. Далее полученную сыворотку хранили до постановки анализа.

Методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) на полистирольных планшетах фирмы «Nunc» (Дания), выявляли в сыворотке крови испытуемых наличие e-Ат к серотонину, дофамину, бета-эндорфину, ангиотензину, орфанину. Конъюгированные антигены синтезировали по методике, описанной в работах [9]. Условия проведения ИФА описаны в работах [10, 11].

Для представления результатов расчет статистики проводили в программе «Statistica 6,0». Прежде всего, оценивался критерий нормальности. Для признаков с нормальным распределением применяли затем коэффициент Стьюдента. В случаях, когда распределение признака нельзя было отнести к нормальным, мы применяли критерий  $\chi^2$ . Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Проведен иммуноферментный анализ естественных антител к бета-эндорфину, орфанину, серотонину, дофамину и ангиотензину. Для всех перечисленных выше нейромедиаторов обнаружено достоверное повышение уровня е-Ат в группе больных по сравнению с аналогичными показателями у здоровых людей.

Ниже представлены сравнительные результаты для каждого исследуемого показателя:

К серотонину - уровень показателя е-Ат у здоровых людей – 0,68 опт.ед., у пациентов с дорсопатией – 0,86 опт.ед., отличие достоверное -  $p < 0,01$ . К дофамину - уровень у здоровых – 0,66 опт.ед., у пациентов – 0,90 опт.ед., отличие достоверное,  $p < 0,01$ . К бета-эндорфину – уровень у здоровых – 0,57 опт.ед., у пациентов – 1,01 опт.ед., отличие достоверное,  $p < 0,01$ . К орфанину - уровень у здоровых – 0,62 опт.ед., у пациентов – 1,02 опт.ед., отличие достоверное,  $p < 0,01$ . К ангиотензину - уровень у здоровых – 0,64 опт.ед., у пациентов – 0,87 опт.ед., отличие достоверное,  $p < 0,01$ . Таким образом, в каждом случае достоверно подтверждается различие в уровнях е-Ат к ЭБ для всех исследуемых веществ.

Далее были проанализированы уровни е-Ат к перечисленным выше нейромедиаторам у здоровых людей и обнаружено нормальное распределение разброса значений показателя оптической плотности ко всем исследуемым веществам. Это

позволило использовать параметрические методы статистики для установления распределений показателей по возрасту.

Для анализа возрастных отличий группу здоровых добровольцев поделили на три подгруппы по возрасту – первая – до 39 лет, вторая – от 40 до 55 лет, третья – старше 55 лет. При сравнении групп между собой  $p$  (вероятность) во всех случаях оказалась больше 0,01. Таким образом, уровень е-Ат к бета-эндорфину, орфанину, серотонину, дофамину и ангиотензину у здоровых мужчин и женщин не зависит от возраста, а колеблется в пределах  $\bar{X} \pm \sigma$ , см. таблицу 1.

Используя рассчитанные значения – среднее ( $\bar{X}$ ) и среднеквадратичное отклонение ( $\sigma$ ) для каждого нейромедиатора, обследованные пациенты разделены на три группы по уровню повышения е-Ат. Первая группа (самая малочисленная) пациенты с нормальным уровнем оптической плотности, интервал ( $\bar{X} \pm \sigma$ ), вторая группа – пациенты с повышенным уровнем, интервал уровня оптической плотности – от ( $\bar{X} + \sigma$ ) до ( $\bar{X} + 3\sigma$ ), и третья группа – повышенный уровень, значения больше ( $\bar{X} + 3\sigma$ ).

Затем для проверки наличия возрастных особенностей распределения уровней е-Ат к ЭБ испытуемые пациенты были поделены на три группы по возрасту – до 39 лет, от 40 до 55, старше 55. Полученные категории сравнивали между собой.

**Таблица 1. Средние по группе значения OD450 в ИФА при определении уровня е-Ат к ЭБ у здоровых людей**

Эндогенные биорегуляторы	Дофамин	Орфанин	Ангиотензин	Серотонин	Бета-эндорфин
Группа здоровых, средние значения OD450 в ИФА	0,66 ± 0,13	0,62 ± 0,16	0,64 ± 0,16	0,68 ± 0,13	0,57 ± 0,14

**Таблица 2. Интервал значения OD450 в ИФА при определении уровня е-Ат к ЭБ в группах больных**

Эндогенные биорегуляторы:	Дофамин	Орфанин	Ангиотензин	Серотонин	Бета-эндорфин
Границы группы с нормальным уровнем е-Ат, ( $\bar{X} \pm \sigma$ )	0,53 - 0,80	0,46 - 0,79	0,48 - 0,81	0,55 - 0,81	0,43 - 0,72
Границы группы с повышенным уровнем е-Ат, от ( $\bar{X} + \sigma$ ) до ( $\bar{X} + 3\sigma$ )	0,81 - 1,06	0,80 - 1,11	0,82 - 1,13	0,82 - 1,07	0,73 - 1,01
Границы группы с высоким уровнем е-Ат, выше ( $\bar{X} + 3\sigma$ )	>1,06	>1,11	>1,13	>1,07	>1,01

В результате статистического анализа выяснили, что в группе мужчин примерно одинаково распределились пациенты с высоким, средним и нормальным уровнем е-Ат по всем возрастным группам (Рис. 1). У мужчин для всех исследуемых медиаторов не было выявлено достоверных отличий, связанных с возрастом.

На рисунке представлено процентное соотношение распределения пациентов мужчин в группах по возрасту. В качестве характеристики каждой группы выбрана величина оптической плотности, измеренная для уровня е-Ат к 1 – ангиотензин, 2 – серотонин, 3 – орфанин, 4 – дофамин, 5 – бета-эндорфин, в процентах по отношению к общему количеству человек в группе. Светло-серый цвет – люди с нормальными значениями OD450 в ИФА, серый – с повышенными, черный – с высокими.

Похожую картину отсутствия достоверных отличий по возрасту наблюдали и в группе женщин для бета-эндорфина, серотонина и ангиотензина. Немного другая ситуация получена в группах женщин по орфанину и дофамину. Выявлены достоверные отличия для дофамина в группе у женщин 40-55 лет. Достоверно меньше человек с нормальным уровнем е-Ат, по сравнению с группой старше 55 лет - 29 и 69% соответственно, при этом  $p=0,009$ . При выделении группы пациентов значительного повышения OD450 в ИФА (больше  $3\sigma$ ) достоверные различия пропадают,  $p$  выше 0,05.

По орфанину выявлен рост уровней е-Ат во всех возрастных группах, при этом с высокими значениями (оптическая плотность за пределами интервала  $X_{ср}+3\sigma$ ) во всех трех возрастных группах большинство - 67, 54 и 60 % соответственно

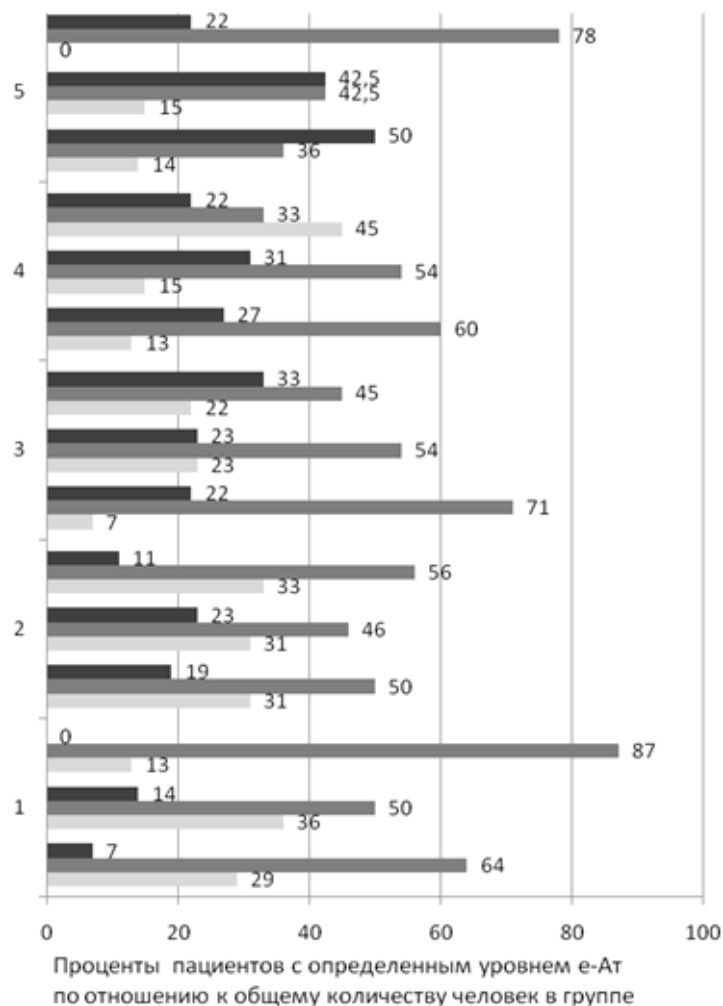


Рис. 1. Распределение по возрастным группам (в процентах) у мужчин в зависимости от уровня определяемой оптической плотности в ИФА

- до 39 лет, 40-55 лет и старше 55 лет. Интересно, что у женщин старше 55 лет практически не наблюдается повышенных значений OD450 в ИФА (интервал от  $(\bar{X} \pm \sigma)$  до  $(\bar{X} + 3\sigma)$ ), что достоверно ( $p < 0,05$ ) отличает эту группу от остальных двух, включающих более младший возраст до 39 лет и от 40 до 55. Но по этим единичным находкам можно сделать вывод такой же, как и для группы мужчин. А именно - в целом зависимости OD450 в ИФА от возраста в группе женщин не было установлено.

## Выводы

В результате определения методом ИФА е-Ат к бета-эндорфину, орфанину, серотонину, дофамину и ангиотензину установлены пределы их содержания у здоровых людей. При заболеваниях, сопровождающихся болевым синдромом, в частности при дорсопатиях, эти значения достоверно повышаются. Можно предположить, что уровни е-Ат являются информативным (качественным) маркером состояния гуморального иммунитета вне зависимости от возраста пациентов.

## Литература

- Giordano J., Abramson K., Boswell MV. Pain assessment: subjectivity, objectivity, and the use of neurotechnology. *Pain Physician*, 2010 Jul-Aug; 13(4): 305-15.
- Marchand, F., Perretti M., McMachon SB. Role of the immune system in chronic pain. *Nature Reviews Neuroscience* 2005; 6: 521-532.
- Крыжановский Г. Н. Общая патофизиология нервной системы. М.: Медицина, 1997: 350.
- Gabis, L., Shklar, B., Geva, D. Immediate influence of transcranial electrostimulation on pain and beta-endorphin blood levels: an active placebo-controlled study. *American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation* 2003; 82 (2): 81-85.
- Ковалёв И.Е., Полевая О.Ю. Биохимические основы иммунитета к низкомолекулярным химическим соединениям. М.: Наука, 1985: 304.
- Евсеев В.А., Верилэ С.Т., Швец В.В. и др. Аутоантитела к нейромедиаторам у больных с хроническим болевым синдромом при остеохондрозе поясничного отдела позвоночника. *Вестник травматологии и ортопедии имени Н. Н. Приорова*. 2007; 4: 15-18.
- Мягкова М.А., Лушникова М.В., Полевая О.Ю. Иммунология. 1992; 3: 45-47.
- Guasti L., Zanotta D., Diolisi A., et al. Changes in pain perception during treatment with angiotensin converting enzyme-inhibitors and angiotensin II type 1 receptor blockade. *Journal of hypertension*. 2002; 20: 485 - 491.
- Мягкова М.А., Морозова В.С., Петроченко С.Н., и соавт. Сравнительный анализ гуморальных факторов иммунитета у пациентов с хроническим болевым синдромом. Сборник статей Международной конференции «Рецепторы и внутриклеточная сигнализация», г. Пушино, Московской обл., 24-26 мая 2011 г. Том 2: 534-539.
- Мягкова М.А., Панченко Л.Ф. Естественные антитела к эндогенным биорегуляторам в патогенезе наркомании. *Наркология*. 2002; 10: 31-44.
- Мягкова М.А., Панченко Л.Ф. Новый подход в диагностике и профилактике наркомании на основе определения антител к наркотическим веществам и эндогенным биорегуляторам. *Наркология*. 2004; 6: 49-51.

Поступила 14.10.2014 г.