

# ЕЛАСТИНОВ МЕТАБОЛИЗЪМ ПРИ ПАЦИЕНТИ С ПРОФЕСИОНАЛНО ОБУСЛОВЕНА ВЕГЕТАТИВНА ПОЛИНЕВРОПАТИЯ НА ГОРНИТЕ КРАЙНИЦИ

<sup>1</sup>Анелия Димитрова, <sup>2</sup>Ирена Стоилова, <sup>1</sup>Милена Атанасова, <sup>3</sup>Миглена Георгиева,  
<sup>1</sup>Денко Страшимиров

<sup>1</sup>Катедра „Биология и патологична физиология“, Медицински факултет, Медицински Университет, ул. „Кл. Охридски“ 1, 5800 Плевен, България  
e-mail: aneliya.dimitrova@gmail.com

<sup>2</sup>Катедра “Хигиена, медицинска екология, професионални заболявания и медицина на бедствените ситуации” Медицински факултет, Медицински Университет, ул. „Кл. Охридски“ 1, 5800 Плевен, България

<sup>3</sup>Център по клинична имунология, УМБАЛ, ул. “Г. Кочев” 8А, 5800 Плевен, България

## ELASTIN TURNOVER IN PATIENTS WITH OCCUPATIONAL VEGETATIVE POLYNEUROPATHY OF UPPER LIMBS

<sup>1</sup>Anelia Dimitrova, <sup>2</sup>Irena Stoilova, <sup>1</sup>Milena Atanasova, <sup>3</sup>Miglena Georgieva, <sup>1</sup>Denko Strashimirov

<sup>1</sup>Department of Biology and Pathophysiology, Medical University - Pleven,  
1 Kliment Ohridski str., 5800 Plevan, Bulgaria

<sup>2</sup>Department of Hygiene, Medical ecology and Occupational diseases, Medical University -Pleven,  
1 Kliment Ohridski str., 5800 Plevan, Bulgaria

<sup>3</sup>Center of Clinical Immunology, University Hospital, 8A G. Kochev str., 5800 Plevan, Bulgaria

### ABSTRACT

The aim of this study was to determine antibodies (Abs) to tropoelastin (elastin precursor) and alpha-elastin (elastin breakdown product) in patients with occupational vegetative polyneuropathy of upper limbs (OVPUL). Serum samples from 9 female patients with OVPUL were compared with samples from 7 age-matched healthy normal control subjects for the level anti- $\alpha$ -elastin Abs and anti-tropoelastin using enzyme-linked immunosorbent assays. Anti-  $\alpha$ -elastin Abs in the sera of patient with OVPUL were increased relative to the levels measured in healthy subjects ( $p < 0.05$ ). The ratio of anti-tropoelastin to anti-alpha-elastin Abs were 1.73 versus 1.13 for control and OVPUL subjects, respectively. This suggests an altered elastin metabolism in terms of increased elastin degradation in patients with OVPUL.

**Key words:** occupational vegetative polyneuropathy of upper limbs, anti-elastin antibodies, anti-tropoelastin antibodies, elastin metabolism

### УВОД

Професионално обусловената вегетативна полиневропатия (ВПНП) на горните крайници е заболяване, което се предизвиква от системно динамично пренапрежение, микротравматизация или натиск на структурите на ръцете, от студово въздействие, особено съчетано с повишена влажност в условията на труд. Проявява се с регионален болков синдром в дисталните части на горните крайници, терморегулаторни, съдовомоторни, невровакулаторни и невродистрофични нарушения [1].

Най-честата причина за ВПНП на горните крайници от рискови фактори в условията на труда е физическото претоварване на мускулите и ставите и системното увреждане на съдовете и периферните нерви (крайните сетивни и вегетативни разклонения и рецептори) на ръцете при продължително извършване на повтарящи се бързи, чести, стереотипни, малко по обем движения на пръстите и ръцете, ежедневно, в продължение на години.

Намаленият кръвоток в периферните съдове, водещ до хипоксия и болка е един от важните фактори в патогенезата на ВПНП на горните крайници [16].

Микротравматизирането на съдовете при многократни еднотипни движения на горните крайници могат да доведат да промени в структурата на съдовата стена.

Еластинът е един от най-важните компоненти на съдовата стена, който непрекъснато се разгражда и синтезира. Нарушенията в еластиновия метаболизъм могат да ни дадат информация за увреждане на съдовете при тези пациенти.

Еластиновата антигенност и циркулиращите анти-еластинови антитела са изследвани за пръв път от Stein et al. [17] през 1965 и след това са доказани от редица автори [4,5,11,12,15,18]. Тропоеластинът е предшественик на неразтворимия зрял еластин с м.т. 65 kDa. Тропоеластинът е единичен линеен полипептид с дължина около 800 аминокиселинни остатъка [11,12,15,18].  $\alpha$ -еластинът е разтворим продукт от хидролизата на неразтворимият зрял еластин с оксалова киселина. Анти- $\alpha$ -еластиновите антитела (AEABs) в човешкия серум са възрастово зависими. Най-високи нива са установени при деца и млади хора между 18 и 22 г. След това AEABs се задържат на сравнително ниско ниво и след 60 години намаляват рязко [2,3,14]. Директното измерване на тропоеластиновата продукция показва най-високи нива на еластиновия синтез през ранния фетален и неонатален период при лабораторни животни.

Проучванията на Байданов и сътр. показват, че серумните антитела срещу тропоеластина и  $\alpha$ -еластина са специфични и са в тясна корелация с нивата на съответните пептиди, от което може да се предположи, че измерването на анти-еластиновите антитела е индикатор за еластиновия метаболизъм [8]. Значителни промени в еластиновия метаболизъм могат да играят роля в увреждането и интегритета на богатите на еластин структури и органи като кръвоносни съдове, бял дроб, кожа и др. [12,13]. Деструкцията на еластина се наблюдава при много заболявания като ревматоиден артрит, артеритис нодоза, полимиозит и др. васкулити [7].

## ЦЕЛ

С настоящото изследване си поставихме за цел да определим нивата на AEABs и анти-тропоеластиновите антитела (ATABs) в серумите на пациенти с ВПНП на горните крайници и да определим съотношението помежду им като маркер за еластиновия метаболизъм.

## МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ:

### Изследвани лица

Изследваните лица бяха разделени на две групи, които са показани в Таблица 1:

Първа група (Г1) от 9 пациенти с ВПНП беше подбрана след информирано съгласие на основата на следните критерии:

- Възраст – от 41 до 70 год.;
- Пол – жени;
- Давност на заболяването – от 5 до 15 год.;
- Отсъствие на хипертония и съпътстващи заболявания;
- Работа с професионални вредности (в шивашката промишленост).

Втора група (Г2) е контролна група. За нея бяха използвани 7 клинично здрави жени на възраст от 35 до 55 год.

**Таблица 1. Разпределение на изследваните лица по групи.**

Изследвани лица	Брой изследвани серуми	Средна възраст	Възrastови вариации
Пациенти с ВПНП - Г1	9	55.00 $\pm$ 3.68	41-70
Контроли - Г2	7	45.5 $\pm$ 3.90	35-55

## Серуми

Серумите от пациентите и здравите контроли бяха отделени до 3 часа след вземането на кръвта, беше прибавен консервант  $\text{NaN}_3$  и бяха съхранени в хладилна камера до момента на тестиране. Тестирането се извърши едновременно, с максимален срок до 1 месец след получаване на серума.

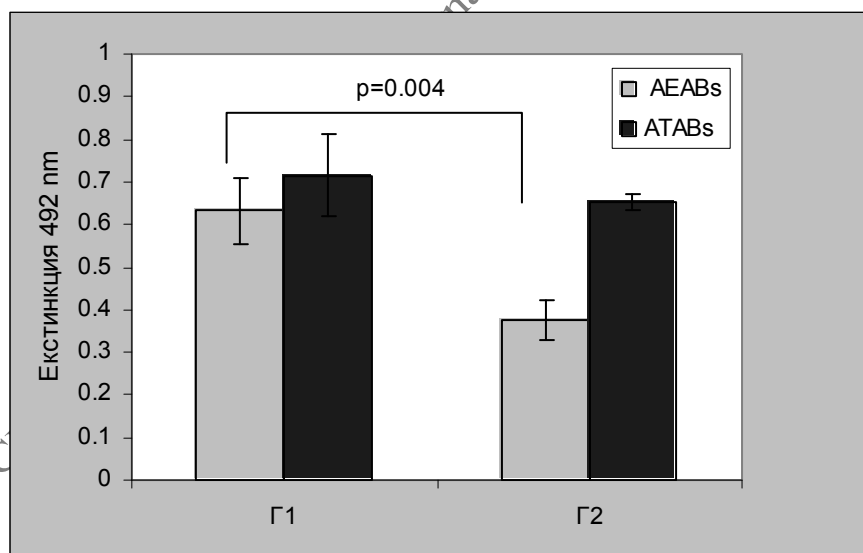
### Определяне чрез директна ELISA на анти- $\alpha$ -еластинови и анти-тропоеластинови антитела от клас IgG в серуми на пациенти с ВПНП на горните крайници

Плаките бяха сенсibiliзирани с 100  $\mu\text{l}$  еластин или тропоеластин (10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) за 2 часа на стайна температура и една нощ при 4°C. След трикратно промиване с PBS-Tween, кладенчетата бяха блокирани с 0.1% BSA в PBS-Tween. Тестираните серуми, разредени 1:5 бяха накапани по 100  $\mu\text{l}$  в кладенче, след промиване на блокиращия разтвор и инкубирани за 1 час на 37°C. След промиване беше накапан по 100  $\mu\text{l}$  от разтвора на античовешкия IgG пероксидазен конюгат (1:6400). Инкубирането се извърши за 1 час на 37°C. След трикратно промиване и инкубиране с разтвора на субстрата (0.8 mg/ml в 0.05 M цитратен буфер, pH 5.0, съдържащ 0.01%  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), реакцията беше спряна на 20 мин. с 50  $\mu\text{l}$  8N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Екстинкциите на пробите бяха отчетени при 492 nm.

За обработка на данните е използван статистическият пакет SPSS за Windows (SPSS, Chicago, Ill, USA). Резултатите са изразени като средна стойност ( $\bar{X}$ ) ± стандартната грешка на средната (SEM). За изводи и заключения е приложен One Way ANOVA анализ, като в случай на статистически значима разлика е правен post hoc анализ.

## РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

Резултатите от измерването на AEABs и ATABs при пациенти с ВПНП на горните крайници са показани на Фиг. 1.



Фиг. 1. Серумни AEABs и ATABs при пациенти с ВПНП на горните крайници.

Установихме статистически достоверно повишение на AEABs при пациентите с ВПНП на горните крайници спрямо контролната група ( $p=0.004$ ). При измерване на ATABs не се установи достоверна разлика между групите. Пресметнахме съотношението на нивата на ATABs към нивата на AEABs като показател за отношението синтез към разграждане на еластина (Таблица 2). Това съотношение е важен показател, защото нарастването му показва преобладаващ синтез и обратно-намаляването на стойността му говори за преобладаващо разграждането на еластина.

**Таблица 2. Серумни анти-  $\alpha$ -еластинови и анти-тропоеластинови антитела при пациенти с ВПНП на горните крайници и съотношение синтез/разграждане на еластина.**

Изследвани лица	Брой проби	AEABs	ATABs	Съотношение*
Пациенти с ВПНП – Г1	9	0.6330 $\pm$ 0.08	0.7150 $\pm$ 0.09	1.13
Контроли – Г2	7	0.3755 $\pm$ 0.04	0.6517 $\pm$ 0.02	1.73
		p=0.004		p<0.05

**\*Съотношение синтез (анти-тропоеластинови антитела)/разграждане (анти- $\alpha$ -еластинови антитела)**

При нашето изследване този показател е по-нисък при пациентите с ВПНП на горните крайници (1.13) спрямо контролите (1.73), което показва повишено разграждане на еластина при тях. Това съотношение е намалено също при пациенти с фибромиалгия [6,10] и склеродермия [9].

Много автори смятат, че системните натоварвания на мускулно-сухожилните и ставните структури на ръцете без достатъчни интервали за възстановяване водят до преумора и промени в тъканния метаболизъм и биохимия, предизвикват хипоксия и оксидативен стрес с продукция на потенциално токсични вещества. Настъпва дисрегулация на клетъчно-хуморалните и невралните медиаторни взаимоотношения.

Нарушава се функционалното равновесие между ендотелно-зависимите и ендотелно-независимите вазоконстрикторни и вазодилаторни фактори. Променят се модулацията на микроваскуларния тонус и настъпват микроциркулаторни разстройства. Нарушава се тъканното хранене. В условията на хипокинезия, обусловена от статичната работна поза, тонусът на кръвоносните съдове намалява, понижават се адаптационните възможности на сърдечно-съдовата система.

Еластинът е екстрацелуларен матриксен протеин, който е важен механичен компонент на много тъкани (артериални стени, стави, мускули, сухожилия). Проучванията за имунологията на еластина и ролята му при различни заболявания са сравнително нови. Още не е окончателно определена функцията на AEABs, въпреки че те се срещат при пациенти със захарен диабет тип II и може би допринасят за увеличаване на съдовите увреждания [18]. Съдовите увреждания са много важна част от патологията при болестите на съединителната тъкан и се срещат често при хора, работещи в производства със статично напрежение, т.е. принудителна работна поза и нерационална организация на производствения процес.

## ИЗВОДИ

Това изследване показва, че има разлика в серумните AEABs при пациентите с ВПНП на горните крайници спрямо здрави контроли. Измерването на AEABs е важен имунологичен маркер за еластиновия синтез и разграждане, и може да се използва за изучаване на еластиновия метаболизъм и ролята на AEABs в патогенезата на ВПНП на горните крайници.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Костова, В., В. Петкова, 2007. Професионални болести, Издателство “Рал-Колобър”, София
2. Barnard, K., S. Partridge, A. Whiting, V. Fanti et al, 1982. Immunologic studies with human aortic elastin, Connect Tissue Res, 9(4), p.233-240
3. Baydanoff, S., G. Nicoloff, C. Alexiev, 1987. Age-related changes in anti-elastin antibodies in serum from normal and atherosclerotic subjects, Atherosclerosis, 63, p. 267-271

4. Baydanoff, S., G. Nicoloff, C. Alexiev, 1991. Age-dependent changes in the level of anti-elastin antibodies of different Ig classes [IgG, IgM, IgA and IgD] in the human serum, *Cor Vasa*, 33(3), p.197-205
5. Baydanoff, S., G. Nicoloff, T. Rusev, et al, 1988. Detection of elastin-anti-elastin circulating immune complexes [CIC] in diabetic patients with vascular damage, *Cor Vasa*, 30(5), p.361-367
6. Bennett, R., S. Clark, S. Campbell, et al, 1992. Low levels of somatomedin C in patients with the fibromyalgia syndrome, *Arthritis Rheum*, 35, p.1113-1115
7. Colburn, K., E. Langga –Shariffi, G. Kelly, et al, 2003. Abnormalities of serum anti-elastin antibodies in connective tissue diseases, *J Invest Med*, 51(2), p.104-109
8. Colburn, K., I. Sandberg, M. Malto, et al., 1995. Age-related circulating antibody levels to tropo- and alpha-elastin correlate with and are specific for their respective serum peptides in rats, *J Invest med*, 43, p. 284A
9. Colburn, K., G. Kelly, M. Malto, L. Sandberg, R. Boucek, 1992. Serum anti-tropo:anti-elastin antibody ratio assessing elastin turnover in scleroderma, *Clinical Reumatol*, 11 (2), p. 206-210
10. Colburn, K., J. Rambharose, M. Malto, S. Baydanoff, L. Sandberg, L. Green, 2006. Abnormally low antibody markers of elastin synthesis in patients with Fibromyalgia syndrome, *J Musculoskel Pain*, 14 (3), p.13-19
11. Daynes, R., M. Thomas, V. Alvarez, et al, 1977. The antigenicity of soluble porcine elastins: I. Measurement of antibody by a radioimmunoassay, *Connect Tissue Res*, 5, p.75-82
12. Jackson, D., L. Sandberg, E. Cleary, 1966. Antigenic properties of soluble elastins and their use in detecting soluble elastin in ligament extracts, *Nature*, 210, p.195-196
13. Kucich, U., P. Christner, M. Lippmann, et al, 1983. Immunologic measurement of elastin-derived peptides in human sera, *Am Rev Respir Dis*, 127, p. 28-30
14. Looker, T., C. Berry, 1972. Growth and development of the rat aorta. II. Changes in nucleic acid and scleroprotein content, *J Anat*, 113, p.17-34
15. Mecham, R., G. Lange, 1982. Antigenicity of elastin: Characterization of major antigenic determinants on purified insoluble elastin, *Biochemistry*, 21, p.669-673
16. Simms, R., S. Roy, M. Hrovat, et al, 1994. Lack of association between fibromyalgia syndrome and abnormalities in energy muscle metabolism, *Arthritis Rheum*, 37, p.794-800
17. Stein, F., M. Pezess, L. Robert, et al, 1965. Anti-elastin antibodies in normal and pathological human sera, *Nature*, 207, p.12
18. Wrenn, D., R. Mecham, 1987. Immunology of elastin, *Meth Enzymol*, 144, p.246-259