

ПОРУШЕННЯ ОБМІНУ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ У ХВОРИХ НА СИНДРОМ МАРФАНА

С. Магомедов, Я. В. Фищенко, Л. В. Полищук
ДУ “Інститут травматології та ортопедії АМН України”, м. Київ

METABOLISM DISTURBANCES OF CONNECTIVE TISSUE IN PATIENTS WITH MARFAN SYNDROME

S. Magomedov, Ya. V. Fischenko, L. V. Polischuk

The connective tissue turnover was studied according to the findings of biochemical investigations of the blood serum, urine and the costal (sternal) cartilage tissue in 16 patients with Marfan syndrome with thorax deformities. Significant changes of the synthesis and catabolism of collagen, cartilage matrix as well as mineral metabolism disturbances were revealed.

Key words: Marfan syndrome, collagen, collagenase, hydroxyproline, glycosaminoglycan.

НАРУШЕНИЕ ОБМЕНА СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ У БОЛЬНЫХ НА СИНДРОМ МАРФАНА

С. Магомедов, Я. В. Фищенко, Л. В. Полищук

У 16 больных с синдромом Марфана с деформациями грудной клетки изучен метаболизм соединительной ткани. По материалам биохимических исследований в сыворотке крови, моче и тканях реберных хрящей выявлены значительные изменения в синтезе и катаболизме коллагена, матриксе хряща, а также нарушение минерального обмена.

Ключевые слова: синдром Марфана, коллаген, коллагеназа, гидроксипролин, гликозаминогликаны.

Вступ

Синдром Марфана належить до групи спадкових захворювань сполучної тканини – колагенопатій, етіологією якого є мутація гена в аутосомі 15q21.1. Ген кодує мікрофібрилярний білок фібрилін-1 (FBN1), який становить основу колагену і забезпечує метаболізм волокнистих структур та основної речовини сполучної тканини – матриксу [1, 8, 10].

Наявність у колагені природної мітки гіроксипроліну, яка не зустрічається в інших білках, дозволяє прослідкувати метаболізм цього білка шляхом аналізу продуктів обміну в біологічних рідинах – сироватці крові та сечі. Фракціонування цієї амінокислоти на вільну і білковозв'язану фракції дасть можливість міркувати про синтетичну і катаболічну фази метаболізму білка колагену [6, 12, 13].

Мета дослідження – вивчити метаболізм колагену по інтегрованому віддзеркаленню в біологічних рідинах – сироватці крові та сечі, а також локальні зміни у реберних хрящах методом тканинної біохімії у хворих на синдром Марфана.

Матеріали і методи

Для визначення інтегральних порушень метаболізму основного білка – колагену в біологічних рідинах та локальних змін синтезу і катаболізму в структурах реберних хрящів методом тканинної біохімії досліджен-

ня проведено у 16 хворих на синдром Марфана зі значними деформаціями грудної клітки.

Досліджували метаболізм колагену, глікозаминоглікани (ГАГ) і мінеральний обмін у біологічних рідинах та тканинах реберних хрящів хворих на синдром Марфана.

Кальцій визначали за набором фірми “Simko Ltd” [2].

Визначення неорганічного фосфору та лужної фосфатази (ЛФ) у сироватці крові проводили за методом А. Богдански [2].

За допомогою методу S. Lindy та J. Halme [9] вивчали кількість оксипроліну, відщепленого від субстрату під дією колагенази сироватки крові. Як субстрат використовували колаген виробництва “Sigma”.

Фракції гідроксипроліну розділяли за методом S. Frey [7], а гідроксипролін (ГП) у них визначали – за Н. Stegemann [11].

Сумарний вміст ГАГ визначали за С. А. Кляцкиным, Р. И. Лившиц [3]. Вміст ГАГ у тканині реберних хрящів визначали карбазоловим методом за складом уронових кислот, що до них входять [4].

Рівень загального гідроксипроліну визначали за методом А. А. Крель і Л. Н. Фурцевою [5].

Колаген у хрящовій та кістковій тканині визначали за методом А. А. Крель і Л. Н. Фурцевою [5].

Отримані результати біохімічних досліджень статистично опрацьовані та порівняні з показниками обміну сполучної тканини у здорових людей за даними літератури [1].

Результати та їх обговорення

Біохімічні показники ГАГ

Показники біохімічних досліджень ГАГ у тканинах реберних хрящів та біологічних рідинах порівняно зі здоровими людьми наведено в табл. 1 та діаграмі на рис. 1.

Таблиця 1

Вміст ГАГ у тканинах реберних хрящів та біологічних рідинах у хворих на синдром Марфана, $M \pm \delta$

Біохімічні показники	Хворі, n=16	Здорові, n=10
Вміст ГАГ:		
– у тканинах реберних хрящів, мкг/мг	2,40±0,19	3,64±0,12
– сироватці крові, г/л	0,073±0,01	0,033±0,003
– сечі, мкмоль/доб.	62,01±4,8	55,4±6,2

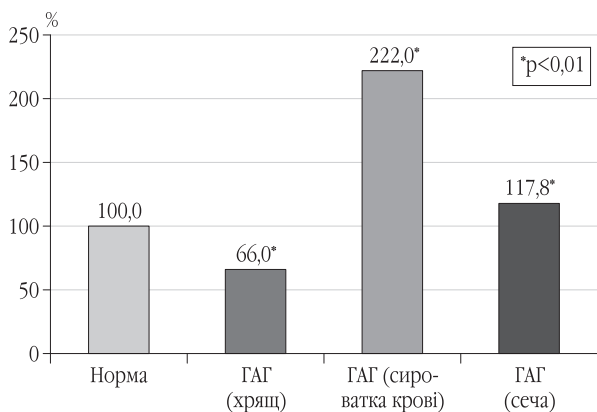


Рис. 1. Діаграма вмісту ГАГ у тканинах реберних хрящів та біологічних рідинах у хворих на синдром Марфана

Аналіз результатів дослідження метаболізму матриксу хрящової тканини у хворих на синдром Марфана за табл. 1 та діаграмою на рис. 1 показав зменшення вмісту ГАГ у реберних хрящах до 66% і збільшення їх концентрації в сироватці крові до 222 та у сечі до 117,8% порівняно до норми у здорових людей.

Усе це свідчить про значні порушення обміну речовин у сполучній тканині.

Вміст колагену

Поряд зі зменшенням вмісту ГАГ у тканинах реберних хрящів та сечі нами виявлено знижену концентрацію основного білка сполучної тканини – колагену.

Вміст колагену в тканинах реберних хрящів (мг/г) у хворих на синдром Марфана ($M \pm \delta$) порівняно зі здоровими людьми був таким:

- хворі (n=16) – 1,39±0,12;
- здорові (n=10) – 4,9±0,20.

Аналіз показників тканинної біохімії реберних хрящів у хворих на синдром Марфана показав їх зниження до 28% від норми ($p < 0,01$), що свідчить про пошкодження волокнистих структур сполучної тканини.

Вміст колагенази та продуктів розпаду колагену

Катаболізм колагену сполучнотканинних структур здійснюється ферментом – колагеназою, кінцевим продуктом його є вільний гідроксипролін. Показники катаболізму колагену наведені в табл. 2 та діаграмі на рис. 2 (с. 37).

Аналіз показників колагенази дав змогу виявити зростання її активності з одночасним підвищенням концентрації вільного гідроксипроліну до 135,5% – біохімічного маркера розпаду колагену та зниження вмісту білковозв'язаного гідроксипроліну – маркера синтезу колагену. У той же час вміст загального гідроксипроліну в сечі визначали в межах нормальних величин.

Біохімічні показники мінерального обміну та лужної фосфатази

Біохімічні показники мінерального обміну в сироватці крові та сечі наведені в табл. 3 та діаграмі на рис. 3.

Аналіз показників мінерального обміну та лужної фосфатази в сироватці крові та сечі, у хворих на синдром Марфана показав зниження активності загальної ЛФ до 32% відносно норми та її кісткового ізоферменту – до 49,1%.

Усе це свідчить про зниження остеобластичної активності у хворих на синдром Марфана і відбивається на зниженні вмісту кальцію (Ca) до 73,9% як у сироватці крові, так і в сечі до 77,5%. У той же час в обміні фосфору (P) суттєвих змін у сироватці крові та сечі не виявлено.

• Таким чином, при біохімічному дослідженні у тканинах реберних хрящів нами виявлено значне зниження вмісту колагену в середньому на 60% та глікозаміногліканів у середньому на 30%.

• У сироватці крові спостерігали достовірне збільшення вмісту ГАГ (222%), колагену (145%), вільної фракції гідроксипроліну та зниження білковозв'язаної фракції гідроксипроліну (72%), загальної ЛФ (32%) та її кісткового ізоферменту (49,1%), Ca^{++} (73,9%). Показники фосфору (93,5%) були майже незмінні порівняно зі здоровими людьми.

• У сечі спостерігали незначне збільшення вмісту ГАГ (110%) та різке зниження вмісту Ca^{++} (38,2%) і фосфору (77,5%), при майже незмінних показниках загального гідроксипроліну (103,3%).

Висновки

Підсумовуючи результати дослідження метаболізму основної речовини (матриксу) та колагенових структур у тканинах реберних хрящів та біологічних рідинах у хворих на синдром Марфана, виявлено порушення обміну речовин, яке стосується як синтезу і катаболізму колагену волокнистих структур, так і глікозаміногліканів матриксу. Вони є причиною розвитку патоморфологічних змін сполучної тканини, призводять до розвитку захворювання та його поглиблення на різних етапах.

Таблиця 2

Біохімічні показники в сироватці крові та сечі у хворих на синдром Марфана, М±δ

Біохімічні показники		Норма	Досліджуваний матеріал	
			сироватка крові	сеча
Колагеназа	мкмоль/л·год.	3,14±0,036	4,75±0,19	–
Вільна фракція гідроксипроліну	мкмоль/л	5,75±0,21	7,79±0,80	–
Білковозв'язана фракція гідроксипроліну	мкмоль/л	11,90±0,29	8,59±1,91	–
Загальний гідроксипролін	мкмоль/доб.	63,30±9,30	–	65,40±4,52

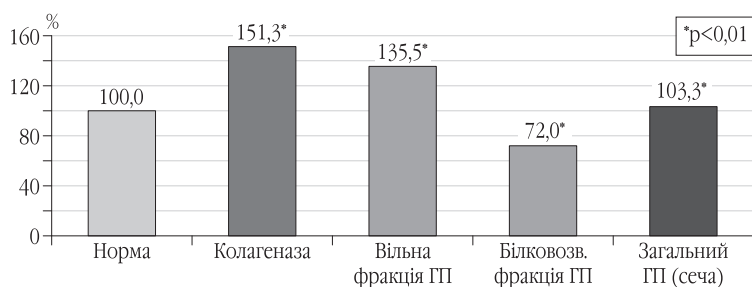


Рис. 2. Діаграма вмісту колагенази та продуктів розпаду колагену в біологічних рідинах у хворих на синдром Марфана

Таблиця 3

Біохімічні показники мінерального обміну та лужної фосфатази в біологічних рідинах у хворих на синдром Марфана, М±δ

Біохімічні показники		Норма	Досліджуваний матеріал	
			сироватка крові	сеча
ЛФ (загальна)	мкмоль/л	2,75±0,15	0,87±0,20	–
ЛФ – кістковий ізофермент	мкмоль/л	1,10±0,02	0,54±0,20	–
Са сироватки крові	ммоль/л	2,37±0,25	1,75±0,19	–
Р сироватки крові	ммоль/л	1,78±0,5	1,70±0,17	–
Са сечі	ммоль/доб.	2,75±1,25	–	1,05±0,35
Р сечі	ммоль/доб.	36,80±8,4	–	28,50±1,75

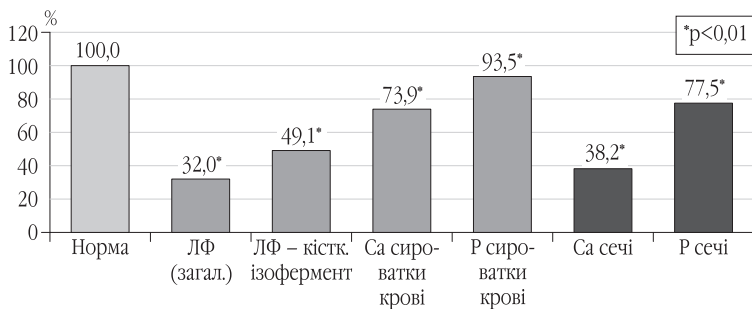


Рис. 3. Діаграми показників мінерального обміну та лужної фосфатази в біологічних рідинах у хворих на синдром Марфана

Література

1. Кадурина Т.И. Дисплазия соединительной ткани. Рук. для врачей / Т.И. Кадурина, В.Н. Горбунова. – СПб. : Элбиз-СПб, 2009. – 704 с.
2. Камышков В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С. Камышков. – М. : Медпресс-информ, 2004. – 912 с.
3. Кляцкин С.А. Определение гликозаминогликанов орциновым методом в крови больных / С.А. Кляцкин, Р.И. Лифшиц // Лаб. дело. – 1989. – № 10. – С. 51–53.
4. Крель А.А. Определение оксипролина в биологических жидкостях и их применение в клинической практике / Крель А.А., Фурцева Л.Н. // Вопр. мед. химии. – 1968. – № 6. – С. 635–640.
5. Слуцкий Л.И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани / Л.И. Слуцкий. – Л. : Медицина, 1969. – 375 с.
6. Biochemical biomarkers of oxidative collagen damage / Henrotin Y, Deberg M, Mathy-Hartert M. [et al.] // Advances in clinical chemistry. – 2009. – № 49. – P. 31–55.
7. Frey S. Etude d'une methode d'exploration et du taux normal de l'hydroxyproline due serum / S. Frey // Biochem. Biophys. Ets. – 1965. – Vol. 3, № 2. – P. 446–450.
8. Identification of fibrillin-1 gene mutations in Marfan syndrome by high-resolution melting analysis / Hung C, Lin S, Lee C. [et al.] // Anal. Biochem. – 2009. – Vol. 389, № 2. – P. 102–106.
9. Lindy S. Collagenolytic activity in rheumatoid synovial tissue / S. Lindy // Clin. Chem. Acta. – 1973. – Vol. 47. – P. 153–157.
10. Mutations of FBN1 and genotype-phenotype correlations in Marfan syndrome and related fibrillinopathies / Robinson P, Booms P, Katzke S. [et al.] // Human Mutation. – 2002. – Vol. 3, № 20. – P. 153–161.
11. Stegemann H. A simple procedure for the determinant of hydroxyproline in urine and bone / H. Stegemann // Biochem. Med. – 1952. – № 1. – P. 23–30.
12. Tanaka H. Biochemical markers of bone turnover. New aspect. Metabolic bone markers in osteogenesis imperfect / H. Tanaka // Clinical. Calcium. – 2009. – Vol. 19, № 8. – P. 1142–1147.
13. Wada S. Biochemical markers of bone turnover. New aspect. Bone metabolic markers available in daily practice / Wada S, Fukawa T, Kamiya S. // Clinical. Calcium. – 2009. – Vol. 19, № 8. – P. 1075–1082.