

К 40-летию Института физиологически активных веществ РАН

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

АНАЛИЗ ИММУНОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ ВЕРТЕБРОГЕННОМ БОЛЕВОМ СИНДРОМЕ

А.И. Левашова*, М.А. Мягкова

Институт физиологически активных веществ Российской Академии Наук,
142432, Черноголовка, Московская обл., Северный проезд, 1; *эл. почта: annalevashova3@gmail.com

Иммунная система может реагировать на боль образованием антител к медиаторам, регулирующим болевой сигнал, и через них влиять на нервную систему. В данной работе был проведен анализ содержания антител к опиоидным пептидам (β -эндорфину и орфанину) и биогенным аминам (серотонину и дофамину) при вертеброгенном болевом синдроме (БС). Установлено, что данный БС сопровождается повышением продукции антител к исследуемым нейромедиаторам, причём к опиоидным пептидам иммунный ответ более выражен, чем к биогенным аминам. У женщин показатели содержания антител выше, чем у мужчин, особенно к орфанину. Эти данные косвенно коррелируют с показателями интенсивности БС и динамики его регресса, оценку которой проводили по визуально-аналоговой шкале (ВАШ). Так обнаружено, что интенсивность боли по ВАШ у женщин была выше, чем у мужчин, и динамика регресса ниже. На фоне достоверного снижения интенсивности БС не происходит значимого снижения уровней антител к антиноцицептивным медиаторам. По-видимому, это наблюдение указывает на влияние данных антител на процессы хронизации и поддержания болевого состояния.

Ключевые слова: естественные антитела; хронический болевой синдром; β -эндорфин; орфанин; серотонин; дофамин

DOI: 10.18097/BMCRM00039

ВВЕДЕНИЕ

Боль в спине – это серьезная медицинская и социально-экономическая проблема, с которой сталкиваются 60–90% населения. Болевой синдром является второй по частоте причиной временной нетрудоспособности и пятой по частоте причиной госпитализации. Распространённость хронической боли в спине (ХБС) составляет от 24% до 56.7% [1].

Однако боль — это субъективный феномен, и выраженность боли не всегда прямо связана с интенсивностью ноцицепции – нейрофизиологическим механизмом передачи болевого импульса [2]. При диагностике хронической боли и выборе методов лечения врачи сталкиваются с фактором субъективности в оценке боли пациентом, особенно выраженном при хроническом болевом синдроме (ХБС) [3]. На индивидуальное восприятие боли влияют пол, возраст, социальные факторы, условия или обстоятельства, при которых возникла боль, психологическое состояние человека и др. [4]. Мужчины и женщины по-разному описывают боль [5]. Мужчины концентрируются на стратегии решения проблемы, женщины фокусируются на межличностных и социальных аспектах, в их поведении прослеживаются тенденции к катастрофизации БС [5]. Над решением проблемы объективизации оценки БС работают специалисты различных областей.

В настоящее время основными методами оценки боли являются субъективные методы – разнообразные опросники, основанные на оценке боли самим пациентом [6]. В связи с этим разрабатываются методы, повышающие объективность оценки БС и позволяющие проводить оценку ноцицептивного компонента боли.

Перспективными являются методы определения биохимических показателей. Во многих исследованиях установлено, что в проведении и ингибировании болевого сигнала участвует огромное количество биологически активных молекул, которые принадлежат к различным системам организма [7, 8]. В торможении болевого импульса основную роль играет опиоидергическая система. Показано, что уровень опиоидных пептидов (ОП): β -эндорфина, орфанина и др. существенно изменяется при ХБС [9–11]. Хронической боли часто сопутствуют тревожные расстройства и депрессия [12], так как они связаны общими механизмами патогенеза [12]. В частности, существенную роль в патогенезе ХБС и депрессии играет дефицит биогенных аминов (БА): серотонина (5-НТ), дофамина, норадреналина [12, 13]. Это связывают с гиперактивностью гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [12].

Изменения в продукции биологически активных молекул влияют на состояние гомеостаза и отражаются на уровне факторов гуморального иммунитета – естественных антителах (е-Ат), которые в норме присутствуют в организме всех здоровых лиц [14] и являются своеобразным “зеркалом” индивидуального молекулярно-клеточного состава организма. При патологии изменяются индивидуальные профили сывороточного содержания е-Ат соответствующей направленности [14]. В частности, при дорсалгии достоверно изменяется уровень е-Ат к некоторым регуляторам боли [15]. Также обсуждается уровень е-Ат к нейромедиаторам антиноцицептивной системы в отношении механизмов усиления и хронизации ХБС [16].

В данной работе проведено детальное исследование иммунологических показателей (е-Ат) у больных с хроническим вертеброгенным болевым



синдромом в динамике, а также проведён мониторинг интенсивности боли модифицированным субъективным методом – по дифференциальной визуально-аналоговой шкале (ВАШ) с целью выяснения роли ϵ -Ат к эндогенным регуляторам БС: ОП – β -эндорфину и орфанину и БА – серотонину и дофамину и сравнения показателей двух методов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 189 пациентов (88 мужчин и 101 женщина), средний возраст 46.5 ± 11.7 лет, имеющих в анамнезе ХБС и госпитализированных с острой болью в спине. Контрольную группу составили 44 пациента, не имеющих ХБС.

Критерии включения: сильная боль в пояснично-крестцовом отделе, с интенсивностью не менее 6 баллов по ВАШ в каком-либо из функциональных состояний; отсутствии тяжелых сопутствующих соматических, неврологических или психических заболеваний. Критерии исключения: наличие объёмных образований, системные заболевания (болезнь Бехтерева и т.д.), инфекционные заболевания, травмы.

Оценку степени выраженности боли проводили методом опроса по дифференциальной шкале интенсивности боли. Лечение проводили по следующей схеме: диклофенак 75 мг 3 мл внутримышечно (первые 5-7 дней), затем применяли таблетированные формы 75 мг 1 р/день после еды, мидокалм 50 мг 3 р/день, витамин B_{12} 1000 мкг 1 р/день (14 дней).

Измерение всех показателей проводили в день госпитализации, в 1 день (1 этап), на 10 день (2 этап), 21 день (3 этап) и 31 день наблюдений.

Определение уровней ϵ -Ат к эндогенным биорегуляторам в сыворотке крови (β -эндорфину, орфанину, серотонину и дофамину) проводили методом твердофазного иммуоферментного анализа (ИФА), описанного в работе [17]. Синтез конъюгированных антигенов осуществляли по методике, разработанной нами ранее [17]. У исследуемых лиц осуществляли забор 5 мл венозной крови натощак. Пробирки с кровью помещали в термостат на 30 мин при температуре 37°C , либо оставляли на 18 ч при температуре 4°C и далее центрифугировали при 3000 об. в течение 5 мин (центрифуга Centrifuge CM-6M, “ELMI Ltd”, Латвия). Полученные образцы хранили до момента тестирования.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы “Statistica 6.0”. Для оценки эмпирических распределений полученных данных использовали критерий нормальности. В случае нормального распределения признаков значимость их различий в группах определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Для распределений, отличающихся от нормального, использовали таблицы сопряженности с применением критерия χ^2 . Достоверными считали различия между группами при $p < 0.05$.

Для описания степени отклонения от нормы исследуемых показателей (ϵ -Ат) у пациентов были рассчитаны М (медианное значение) и SD (среднеквадратичное отклонение) по данным контрольной группы для каждого эндогенного

биорегулятора (ЭБ). В качестве нормальных значений уровня антител к эндогенным биорегуляторам считали интервал $M \pm SD$. К пониженным показателям относили значения ниже значения $M - SD$. Повышенные значения находились в интервале от $(M + SD)$ до $(M + 3SD)$, к высоким относили значения, превышающие значение $M + 3SD$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ряде исследований показано, что в восприятии и вербальной оценке боли существуют гендерные различия [4, 5]. Поэтому в нашем исследовании пациенты были разделены на мужскую и женскую группы, и мониторинг и анализ показателей производился отдельно.

Классическим и наиболее распространённым методом оценки выраженности боли является самотестирование по ВАШ. В нашем исследовании была применена усовершенствованная – дифференциальная ВАШ. Применение этой шкалы позволяет повысить точность оценки, анализируя показатели в различных функциональных состояниях: при активности (выполнение обычных действий в виде ходьбы, наклонов, приседаний и т.д.), в покое (нахождение в положении лёжа или сидя в дневное время), ночью при пробуждении от боли, при её внезапном возникновении (при минимальном движении или в покое).

Результаты динамического исследования интенсивности боли по дифференциальной ВАШ представлены на рисунках 1 и 2. При изучении дифференциальных компонентов БС на 1 этапе обнаружено, что наиболее интенсивной является боль при спонтанном возникновении, 6-9 баллов у мужчин и 6-10 баллов – у женщин. При движении интенсивность боли была несколько ниже 4-7 баллов у мужчин и 5-7 баллов – у женщин. К концу периода наблюдения (через 31 день) только 38% мужчин и 32% женщин сообщили об отсутствии спонтанной боли и 23% мужчин и 20% женщин – об отсутствии боли при активности.

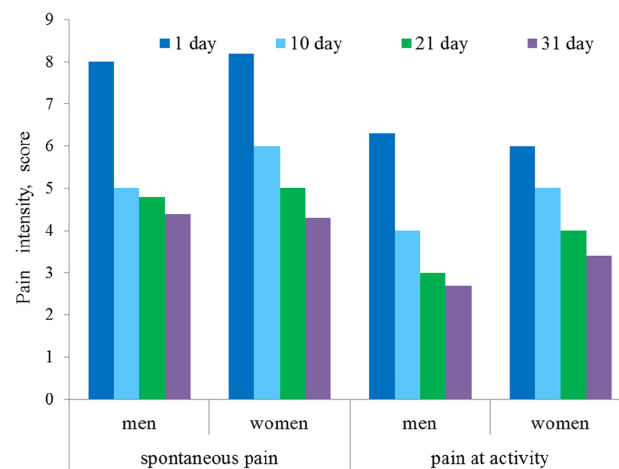


Рисунок 1. Динамика уменьшения болевого синдрома в различных функциональных состояниях (спонтанно возникающая боль и боль при активных действиях) у мужчин и женщин.

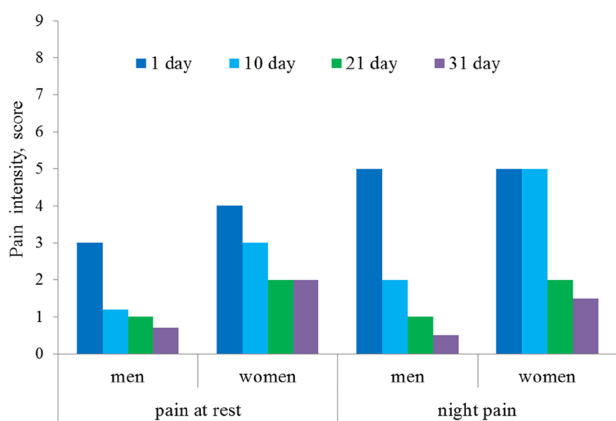


Рисунок 2. Динамика уменьшения болевого синдрома в различных функциональных состояниях (боль ночью и в покое) у мужчин и женщин.

Существенно менее выражена боль в покое и ночью. Показатели составили, в среднем, 1-5 баллов у мужчин и 2-6 баллов у женщин в день поступления в стационар. Около половины всех больных не испытывали боль в покое и ночью на 4 этапе.

Сравнение выраженности боли между гендерными группами показало, что интенсивность болевого синдрома статистически не различалась как при поступлении, так и при выписке. Однако на 10-й день у мужчин показатели интенсивности были достоверно ниже, чем у женщин ($p < 0.05$).

В настоящее время антитела к нейромедиаторам рассматривают как фактор обратной связи взаимодействия нервной и иммунной систем [16]. Иммунная система может влиять на ноцицепцию и антиноцицепцию через е-Ат к нейромедиаторам, участвующим в регуляции болевого импульса. Однако роль таких антител в болевом процессинге изучена недостаточно. Нами было проведено определение уровней антител к медиаторам опиоидной группы – в-эндорфину и орфанину, и биогенным аминам – серотонину и дофамину.

Сравнительный анализ показателей е-Ат в сыворотке крови пациентов и в контрольных группах показал (табл. 1), что у пациентов, как мужчин, так и женщин, уровни всех исследуемых антител в среднем (медианные значения) статистически значимо выше, чем показатели в контрольных группах. Это позволило проводить дальнейшее исследование профилей антител больных с целью выявления тенденций и закономерностей.

Таблица 1. Показатели естественных антител (ОП₄₅₀ в ИФА (M±SD)) в сыворотке крови обследуемых пациентов и контрольных групп в зависимости от пола

Исследуемые антитела	мужчины		женщины	
	контроль	больные*	контроль	больные*
е-Ат к β-эндорфину	0.58±0.16	0.96±0.31	0.56±0.18	1.16±0.23
е-Ат к орфанину	0.64±0.16	1.04±0.31	0.62±0.24	1.23±0.26
е-Ат к 5-НТ	0.70±0.17	0.90±0.29	0.69±0.18	0.89±0.26
е-Ат к дофамину	0.68±0.16	0.96±0.27	0.66±0.17	0.91±0.24

Примечание: * $p < 0.001$ - по отношению к контрольной группе.

Также был проведён анализ индивидуальных показателей е-Ат к ЭБ у больных с ХБС в мужской и женской группах. В результате было установлено, что у большинства пациентов (56-82%) содержание е-Ат выше нормы, а у незначительной части (0-11%) – ниже нормы (рис. 3). Суммарно, в группе мужчин 72-82% (в среднем 79.5%) имеют отклонения профилей е-Ат к ЭБ от диапазона нормальных значений, среди женщин – 69-88% (в среднем 78.3%).

Из данных, представленных на рисунке 3, также следует, что у больных более выражен иммунный ответ к ОП по сравнению с ответом к БА, поскольку численность пациентов с уровнями е-Ат к β-эндорфину и орфанину, диапазона выше нормальных значений больше тех же показателей по е-Ат к серотонину и дофамину в среднем на 12% у мужчин и на 18.5% у женщин. Этот факт отражает более важную роль опиоидергической системы в механизмах антиноцицепции.

Сравнение показателей между гендерными группами показывает, что у мужчин в среднем на 10% чаще встречаются е-Ат к биогенным аминам диапазона “выше нормы”, чем у женщин.

Более детальный анализ индивидуальных профилей антител (разделение на группы с повышенным и высоким уровнем антител) показал (табл. 2), что, в целом, в женской группе встречаемость высоких уровней антител выше. Наиболее заметны различия в уровнях е-Ат к ОП: у женщин показатели выше, чем у мужчин в среднем на 21%. Особенно высокая серопозитивность у женщин к пептиду орфанину, так как численность женщин с высоким содержанием

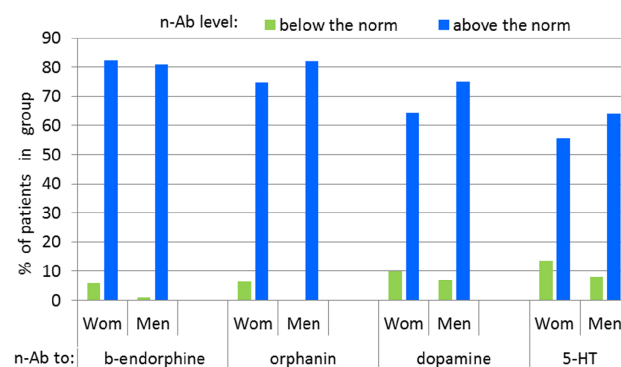


Рисунок 3. Распределение пациентов по уровням исследуемых антител в сыворотке крови в мужской и женской группах.

Таблица 2. Распределение больных в мужской и женской группах по содержанию в сыворотке крови исследуемых антител по группам: пониженный, повышенный и высокий уровень (%)

Исследуемый показатель	мужчины			женщины		
	пониж.	повыш.	высок.	пониж.	повыш.	высок.
е-Ат к ЭНД	1.0	40.0	41.0	5.9	29.4	52.9
е-Ат к орфанину	0	56.0	26.0	6.3	19.0	55.6
е-Ат к 5-НТ	8.0	44.0	20.0	13.6	33.3	22.2
е-Ат к дофамину	7.0	47.0	28.0	9.9	34.6	29.6

е-Ат к орфанину (55.6%) статистически значимо больше аналогичного показателя группы повышенных значений (19%, $p < 0.001$).

Определённые особенности суммарных профилей е-Ат были обнаружены и внутри гендерных групп. Так, более явными стали различия показателей иммунного ответа к ОП и БА. У женщин высокий уровень е-Ат к β -эндорфину и орфанину обнаруживался достоверно чаще, чем к дофамину ($p < 0.03$) и серотонину ($p < 0.0001$). У мужчин высокий уровень е-Ат к β -эндорфину выявлялся достоверно чаще, чем к серотонину ($p = 0.007$), и чаще, чем к орфанину, но на уровне тенденции ($p = 0.06$).

Также было проведено динамическое исследование уровней е-Ат к ЭБ. Сравнение индивидуальных профилей е-Ат, полученных в первый день обследования и на заключительном этапе, показало незначительные колебания в содержании антител. Следует отметить достоверное повышение показателей в группе высоких уровней е-Ат к орфанину (31%, $p = 0.003$) у мужчин, а также значимые изменения в индивидуальных профилях некоторых пациентов. В целом по группам через 31 день наблюдения уровни антител оставались выше нормального диапазона у большинства пациентов. По-видимому, это связано с долговременным паттерном реагирования гуморальной иммунной системы.

Важно подчеркнуть, что наблюдаемое длительное поддержание патологических уровней е-Ат к регуляторам боли может негативно отражаться на динамике ХБС [16], тормозить процесс выздоровления и снижать эффективность лечебных мероприятий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, исследование иммунологических показателей у больных хронической болью в спине показало, что существуют гендерные отличия не только в субъективном восприятии боли, но также и в сывороточном содержании антител к некоторым регуляторам болевого сигнала. Установлено, что у многих пациентов уровни е-Ат к исследованным регуляторам боли (β -эндорфину, орфанину, серотонину, дофамину) значительно выше нормы, и это патологическое состояние сохраняется, несмотря на существенное снижение интенсивности БС, что согласуется с литературными данными [16].

Это наблюдение имеет значение в исследовании механизмов хронизации и поддержании болевого

состояния, указывая на то, что антитела к нейромедиаторам антиноцицептивной системы играют важную роль в усилении и пролонгации ХБС.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы (№ госрегистрации 01200952666). Авторы выражают глубокую благодарность врачу РМАПО кафедры неврологии Мосейкину Илье Александровичу, за сбор и предоставление клинического и биологического материала обследуемых больных.

ЛИТЕРАТУРА

- Pavlenko, S.S. (2007) Boli v nizhnej chasti spiny (ehpidemiologiya, kliniko-diagnosticheskaya klassifikatsiya, sovremennye napravleniya v diagnostike, lechenii i standartizatsii medicinskoj pomoshchi): rukovodstvo. Novosibirsk: Sibmedizdat, NGMU, 172 p.
- Reshetniak, V.K., Kukushkin, M.L. (2015) Modern understanding of the physiological and pathological pain. *Clinical Pathophysiology*, 1, 1-17.
- Jensen, I.B., Bodin, L., Ljungqvist, T., Gunnar Bergstrom, K., Nygren, A. (2000) Assessing the needs of patients in pain: a matter of opinion? *Spine*, 25 (21), 2816–2823.
- Golubev, V.L., Vein, A.M., Danilov, A.B. (2005) Gender and pain. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S.S. Korsakova*, 10, 72–74.
- Kravchenko, L.M. (2011) Gender variations in German-speaking patients' Description of pain. *Vestn. Volgogr. State Univers. Ser. 2, Linguistic*, 2 (14), 91-95.
- Williamson, A., Hoggart, B. (2005) Pain: a review of three commonly used pain rating scales. *J. Clin. Nurs*, 14(7), 798–804. DOI: 10.1111/j.1365-2702.2005.01121.x
- Ovsyannikov, V.G., Boychenko, A.E., Alekseev, V.V., Kapliev, A.V., Alekseeva, N.S., Kotieva, I.M., Shumarin, A.E. (2014) Antinociceptive system. *Medical Herald of the South of Russia*, 3, 46-54. (In Russ.). DOI: 10.21886/2219-8075-2014-3-46-54
- Pan, H.L., Wu, Z.Z., Zhou, H.Y., Chen, S.R., Zhang, H.M., Li, D.P. (2008) Modulation of pain transmission by G-protein-coupled receptors. *Pharmacol Ther*, 117(1), 141-161. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2007.09.003
- Degenhardt, B.F., Darmani, N.A., Johnson, J.C., Towns L.C., Rhodes, D.C.J., Trinh, C., McClanahan, B., DiMarzo, V. (2007) Role of osteopathic manipulative treatment in altering pain biomarkers: a pilot study. *J Am Osteopath Assoc*, 107, 387-400.
- Barnes, T.A., Lambert, D.G. (2004) Editorial III: Nociceptin/orphanin FQ peptide-receptor system: are we any

- nearer the clinic? Br. J. Anaesth., 93, 626–628. DOI: 10.1093/bja/ae226
11. Chiou, L.C., Liao, Y.Y., Fan, P.C., Kuo, P.H., Wang, C.H., Riemer C., Prinszen, E.P. (2007) Nociceptin/orphanin FQ peptide receptors: pharmacology and clinical implications. Current drug targets, 8(1), 117-135.
12. Voznesenskaya, T.G. (2008) Chronic pain and depression. Pharmateka, 6, 10-15.
13. Hernandez-Reif, M., Field, T, Krasnegor, J, Theakston, H. (2001) Lower back pain is reduced and range of motion increased after massage therapy. Int. J. Neurosci., 106(3-4), 131-145.
14. Poletaev, A.B. (2010) Physiological Immunology: Natural Autoantibodies and Nanomedicine Problems. Publisher. Miklosh, Moscow, 218 p.
15. Polyvyanaya, O.Y., Levashova, A.I., Morozova, V.S., Petrochenko, S.N., Myagkova, M.A., Moseikin, I.A. (2015) Dynamics of pain tolerance thresholds and humoral immunity factors at dorsalgia. Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk. 70(1), 118-124 (In Russ.). DOI: 10.15690/vramn.v70i1.1241
16. Igonkina, S.I., Vetrile, L.A., Zaharova, I.A., Kukushkin, M.L. (2015) Antibodies to neuromediators at neuropathic pain. Neuroimmunologia. 12(1-2), 45-46.
17. Myagkova, M.A., Lushnikova M.V., Polevaya, O.Yu. (1992) Immunoglobulins binding biogenic amines in patients with drug dependence. Immunology. 3, 45-47.

Поступила: 30. 05. 2018.
Принята к публикации: 12. 07. 2018.

ANALYSIS OF IMMUNOCHEMICAL PARAMETERS IN VERTEBROGENIC PAIN SYNDROME

A.I. Levashova, M.A. Myagkova*

Institute of Physiologically Active Compounds of RAS,
1 Severny proezd, Chernogolovka, Moscow region, 142432 Russia; *e-mail: annalevashova3@gmail.com

The immune system can react to pain by synthesis of the natural antibodies to pain-regulating mediators which affect the nervous system. In this study, the analysis of content antibodies to opioid peptides (β -endorphin and orphanin FQ) and biogenic amines (serotonin and dopamine) in vertebrogenic pain syndrome (PS) was carried out in serum of PS patients. It has been found that this PS is accompanied by an increase in the production of antibodies to the neurotransmitters studied, and the immune response to opioid peptides is more profound than to biogenic amines. The antibodies levels were higher in female patients than in males (especially for orphanin FQ). These data indirectly correlate with the PS intensity and the dynamics of its regression, evaluated using a visual analogue scale (VAS). Thus, the pain intensity measured by VAS in women was higher, in compare with men and the dynamics of decrease was lower. In addition, it was found that during the significant decrease of the pain intensity, there was no significant decrease in antibody levels to antinociceptive mediators. Apparently, this observation indicates the antibodies to antinociceptive mediators can effect the mechanisms of transition from acute to chronic pain and in maintenance of chronic pain.

Key words: vertebrogenic pain syndrome; natural antibodies; β -endorphin; orphanin FQ; serotonin; dopamine

ACKNOWLEDGMENTS

The work was carried out within the framework of the Program of Fundamental Scientific Research of the State Academies of Sciences for 2013-2020 (State Registration No. 01200952666). The authors thanks the doctor of the Department of Neurology of RMAPE Moseikin Ilya Aleksandrovich for collecting and providing the clinical and biological material of the patients being examined.