

УДК 612.67

А. П. Зайченко

АУТОІМУННІ РЕАКЦІЇ ПРОТИ ДНК У ЛЮДЕЙ РІЗНОГО ВІКУ

З віком в системі імунітету здійснюється ряд змін, які характеризуються порушенням функції контролю над антигенною сталістю внутрішнього середовища організму, зниженням здатності синтезувати антитіла, зменшенням активності реакцій клітинного типу. Всі ці процеси в останній час стали об'єктом пильної уваги багатьох дослідників.

Особливий інтерес становить факт виникнення з віком аутоімунних реакцій гуморального і клітинного типів до різних власних органних антигенів, виявлення з великою частотою в сироватці крові людей та тварин аутоантитіл чи сенсibiliзованих лімфоцитів без видимого зв'язку з певними захворюваннями, у практично здорових осіб. Це послужило підставою (виходячи з передумови про патогенну роль аутоімунних реакцій) для створення аутоімунної теорії старіння [14, 16, 30]. Виникнення аутоімунних реакцій пояснюється авторами зміною в процесі старіння антигенного складу органів, або мутаційними процесами в клітинах лімфоїдної системи і як наслідок цього — утворення «заборонених клонів» лімфоцитів.

Із гами аутоантитіл, виявлених при старінні, привертають увагу аутоантитіла проти дезоксирибонуклеїнової кислоти, які вперше були знайдені в сироватці крові хворих на системний червоний вовчак [21, 27]. Ці та інші праці стимулювали значний інтерес до вивчення механізмів утворення анти-ДНК антитіл та їх можливої патогенної ролі.

Аутоантитіла проти ДНК, ДНП і ядер клітин (крім системного червоного вовчака), виявлені в багатьох інших випадках як у людей, так і у тварин: у хворих на вірусний гепатит [32], туберкульоз [12], ревматоїдний артрит [35], при деяких захворюваннях шкіри [20, 35], при пухлинах у людей і тварин [2] та багатьох інших захворюваннях. Аутоантитіла проти ДНК, які з'являються спонтанно, виявлені в сироватці крові мишей ліній NZB і NZW, а також A/Y [18, 23, 25].

Щодо механізмів виникнення анти-ДНК антитіл та їх можливого патогенного впливу на організм — питання залишається відкритим. Значна кількість праць свідчить, що вони можуть діяти на специфічні функції ДНК. Так, є чіткі докази того, що гетероантитіла проти ДНК пригнічують трансформуючу та інфекційну активність бактерій [11, 13, 15, 19], знижують матричну активність ДНК в системі *in vitro* [7, 25, 31, 34]. Антипуринові антитіла здатні проникати в запліднене яйце морського їжака і затримувати його розвиток на різних стадіях залежно від кількості антитіл [26]. Встановлено [9], що антитіла проти ДНК здатні пригнічувати утворення колоній з стовбурових клітин в селезінці *in vivo*, тобто інактивують стовбурні клітини. Антитілам проти ДНК відводять [10] вирішальну роль в системному ураженні сполучної тканини при червоному вовчаку.

Згадані дані свідчать про доцільність дальшого дослідження аутоімунізації ДНК, особливо в геронтологічному плані, оскільки є ряд повідомлень, в яких вказується на виявлення аутоантитіл проти ДНК, ДНП та ядер клітин при відсутності клінічно вираженої патології, на збільшення частоти та інтенсивності аутоімунних реакцій цього типу в зв'язку з віком обслідуваних [8, 17].

Ми вивчали у людей різного віку і статі поширення та вираженість аутоімунних реакцій до ДНК, а також дезоксирибонуклеазної (ДНКазної) активності сироватки крові та зв'язок її з наявністю аутоімунітету щодо ДНК.

Методика досліджень

Аутоантитіла проти ДНК визначали в реакції пасивної гемаглютинації (РПГА) 2,5% формалінованих і танізованих баранячих еритроцитів, сенсibiliзованих денатурованою ДНК за [6]. Оскільки ДНК не властива видова специфічність, в реакції були використані високомолекулярні препарати ДНК з еритроцитів курчат фірми «Реанал» (Угорщина).

Застосована також внутрішкірна проба з ДНК внутрішкірним введенням на внутрішню поверхню передпліччя 0,1 мл розчину денатурованої кип'ятінням ДНК в концентрації 1:10 000. Контроль — 0,1 мл фізіологічного розчину. Облік реакції — через 24 год; визначали площу почервоніння та індурації шкіри на місці введення препарату. Реакцію із зоною почервоніння 6—10 мм в діаметрі розцінювали як слабо позитивну, 11—15 мм — позитивну, 15 мм і більше — різко позитивну.

Дезоксирибонуклеазну активність сироватки крові визначали за [22]. Принцип методу полягає в тому, що випалена в агар ДНК руйнується під дією ДНКаз сироватки крові, поміщеної в луночку, зроблену в агарі. Інкубація провадиться протягом 24 год при 37° С у вологій камері. При фіксації препаратів розведеною соляною кислотою навколо лунки видно зону лізису ДНК. Діаметр зони лізису пропорціональний квадрату активності ДНКаз.

Статистичну обробку одержаних результатів провадили з допомогою методу порівняння по процентах [3], критерію розрізнення хі-квадрат, критерію *t* за Стьюдентом [1].

Результати досліджень та їх обговорення

На наявність аутоантитіл проти ДНК в реакції пасивної гемаглютинації досліджені сироватки крові 288 осіб різного віку і статі, які при клінічному обстеженні визнані практично здоровими; всі обслідувані поділені на вікові групи по десятиріччях.

Результати досліджень наведені в таблиці, з якої видно, що в міру старіння частота виявлення аутоантитіл проти ДНК в сироватці крові людей збільшується. До 30 років антитіла виявлені в 7,3% випадків, у 31—40 років — в 20,0%, у 41—50 років — в 29,0%, у віці 51—60 років — у 32,3%, в 61—70 років — у 66,2%, у 71—80 років — у 57,5%, після 80 років — у 56,6% обслідуваних.

Як видно з таблиці, з віком збільшується інтенсивність аутоімунних реакцій проти ДНК: до 50 років титри виявлених антитіл перебували в межах 1:4 — 1:16; у людей похилого і старого віку сироватки реагували з ДНК в набагато більших розведеннях — до 1:512.

Значний інтерес становить аналіз випадків виявлення антитіл проти ДНК залежно від статі обслідуваних. Розподіл частоти виявлення антитіл у чоловіків і жінок різного віку наведений на рис. 1, з якого видно, що пік знаходження аутоантитіл у чоловіків зсунутий на одне десятиріччя в бік меншого віку в порівнянні з жінками. Найбільша частота виявлення аутоантитіл у жінок спостерігається в середині сьомого десятиріччя, а у чоловіків — шостого. Порівнюючи ці дані з середньою тривалістю життя чоловіків і жінок можна констатувати, що особи жіночої статі в середньому живуть довше чоловіків і максимум частоти аутоімунних ре-

падків, в 31—40 років — у 34,6% осіб, то у віці 61—70 років вони виявлялись уже в 72,8%, в 71—80 років — в 81,2%, після 80 років — в 89,9% випадків. Статевих відмінностей при здійсненні цієї проби виявити не вдалось.

Слід відзначити, що вираженість шкірної реакції з віком також збільшується. На рис. 2 наведені середні діаметри почервоніння через 24 год після внутрішкірного введення розчину ДНК в кожній із обслідуваних груп людей. З рис. 2 видно, що максимум інтенсивності реакції припадає на віковий період 61—70 років — тобто, ці результати близькі одержаним при визначенні антитіл проти ДНК в сироватці крові.

З літератури відомий факт, що при імунізації тварин препаратами ДНК (гептен) не всі вони однаковою мірою виробляють антитіла. Деякі автори [4] схильні розцінювати це явище як результат неоднакової дезоксирибонуклеазної активності крові цих тварин — тобто, здатність синтезувати антитіла проти ДНК обернено пропорційна величині ДНКазної активності сироватки. Швидкість зникнення екзогенної ДНК з кров'яного русла також значною мірою залежить від рівня сироваткової дезоксирибонуклеази [5].

В зв'язку з цим, в наших дослідженнях було проведено визначення ДНКазної активності сироватки крові людей різного віку в порівнянні з наявністю у них аутоантитіл проти ДНК. Було показано, що найбільш висока активність цього ферменту спостерігається у молодих осіб (рис. 3). У віці 50—70 років вона достовірно знижується, після чого відзначається деяке збільшення активності. Її абсолютні величини (площа зони лізису ДНК в агарі) становили: 20—40 років — $94,5 \pm 2,6 \text{ мм}^2$, 41—50 років — $83,9 \pm 7,2 \text{ мм}^2$, 51—60 років — $72,2 \pm 2,5 \text{ мм}^2$, 61—70 років — $73,5 \pm 2,4 \text{ мм}^2$, 71—80 років — $75,6 \pm 4,4 \text{ мм}^2$, старше 80 років — $83,8 \pm 4,9 \text{ мм}^2$.

При порівнянні частоти виявлення аутоантитіл проти ДНК і вираженості реакцій при внутрішкірному введенні розчину ДНК з ДНКазною активністю сироватки крові в різні вікові періоди виявляється певна закономірність, яка характеризується тим, що при зниженні активності ферменту, який руйнує ДНК збільшується кількість осіб з аутоімунними реакціями і навпаки, після 70 років на фоні підвищення активності ДНКазни знижується частота виявлення антитіл проти ДНК. Якщо розділити обслідуваних на дві групи з активністю ДНКазни вище і нижче 77 мм^2 , накреслюється така картина: з високою активністю ферменту кількість осіб, які мають у сироватці крові аутоантитіла проти ДНК, майже в чотири рази менше, ніж у групі людей, які їх не мають, тоді як з низькою активністю кількість осіб з аутоантитілами і без приблизно однакова; різниця високодостовірна ($p < 0,001$). Водночас, при аналізі окремих випадків досить часто зустрічались люди, у яких при різко зниженій активності ДНКазни сироватки крові були відсутні аутоантитіла й навпаки, при високій активності ферменту вони виявлялись. Ці дані, з нашої точки зору, дозволяють зробити висновок, що зміна з віком дезоксирибонуклеазної активності не є вирішальним фактором, що зумовлює аутоімунізацію організму ДНК. Поява аутоімунних реакцій проти цього біополімера, можливо, є результатом тих же причин, внаслідок яких спостерігається виникнення аутоімунних реакцій по відношенню до інших органних антигенів, які мають місце при старінні.

Наявність аутоантитіл проти ДНК в похилому і старому віці не супроводжується видимими патологічними проявами, властивими для таких аутоімунних хвороб, як системний червоний вовчак, міастенія тощо, при яких патогенна роль аутоантитіл визначається значною більшістю

авторів. Але не виключено, що при деяких умовах вони можуть проникати в клітину і, з'єднуючись з ДНК, порушувати її функціональну активність, викликаючи навіть загибель клітин. Крім того в результаті утворення комплексів ДНК — антиДНК та їх відкладання в ниркових бочках може спостерігатись розвиток нефросклерозу та інших захворювань «імуних комплексів», хоч і виражених значно меншою мірою, ніж при гострих аутоімуних розладах.

В літературі є деякі відомості [24], за якими наявність аутоантитіл є несприятливим моментом для прогнозування довголіття. Досліджуючи дві групи людей кавказької раси, автор виявив, що смертність у групі з аутоімуними реакціями була значно вищою, ніж без аутоімуних порушень. Експрес смертності при цьому був за рахунок більш частішої патології серцево-судинної системи незалежно від того, проти якого органа виявлялись аутоантитіла. Отже, аутоімунні реакції, мабуть, зв'язані з механізмами атеросклеротичних ушкоджень судин.

Л і т е р а т у р а

1. Ван-дер Ваден Б. Л. Математическая статистика. М., 1960.
2. Бордюшков Ю. Н., Косаревская И. А., Леви М. Н. Антитела к дезоксирибонуклеиновой кислоте в сыворотке людей и животных с опухолями.—Бюлл. эксперим. биол. и мед., 1967, 64, 10, 74—75.
3. Генес В. С. Таблицы достоверных различий между группами наблюдений по качественным показателям, М., «Медицина», 1964.
4. Гольдфарб Д. М., Замчук Л. А. Иммунология нуклеиновых кислот, М., «Наука», 1968.
5. Паолетти С., Госс С., Ле Пек Ж. Б. Расщепление ДНК после внутривенной инъекции кроликам.—Биохимия, 1963, 28, 4, 647—652.
6. Поверенный А. М., Леви М. И. Исследование взаимоотношений структуры дезоксирибонуклеиновой кислоты и ее антигенных свойств.—Биохимия, 1964, 29, 1, 80—84.
7. Поверенный А. М., Прозоров А. А. Воздействие антител, присутствующих в сыворотке больных системной красной волчанкой на специфические функции ДНК.—Вопросы мед. хим., 1966, 12, 1, 117—119.
8. Поверенный А. М., Сапрыгин Д. Б. и др. Распространение антител к ДНК у людей разного возраста.—Сб.: Старение и физиологические системы организма, Киев, 1969, 180—183.
9. Подгородниченко В. К., Конопляников А. Г. и др. Влияние антител к ДНК на стволовые кроветворные клетки.—Бюлл. эксперим. биол. и мед., 1974, 4, 73—75.
10. Струков А. И., Симанова Р. А. и др. Болезни соединительной ткани с иммунными нарушениями.—Архив патол., 1970, 32, 7, 20—35.
11. Тиманов В. Д., Скавронская А. Г. и др. Влияние антисывороток, реагирующих с ДНК, на проявление инфекционной активности одноклеточной ДНК фага 1Ф7.—ЖМЭИ, 1966, 7, 47—51.
12. Уварова О. А., Добычина А. И. и др. Исследование антител к ДНК при туберкулезе.—Пробл. туберкулеза, 1969, 5, 55—60.
13. Braun W., Pootjes Ch., Plescia O. Effects of antisera on transforming activities.—Microbiol. Gen. Bull., 1962, 18, 6.
14. Burnet F. Immunological surveillance. Pergamon Press, 1970.
15. Buttler V. P., Beiser S. M. et al. Purine-specific antibodies which react with deoxyribonucleic acid (DNA).—Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1972, 48, 9, 1597—1602.
16. Burch P. R., Jackson D., Rewell N. R. Growth, disease and ageing.—Z. Alternsforsch., 1972, 26, 132, 1—29.
17. Castaneda J. P., White J. G., Williams P. C. Jr., Anti-nuclear antibodies in normal human subject.—Arthritis and Rheumat., 1967, 10, 5, 431—443.
18. Friou G. J., Teague P. O. Spontaneous autoimmunity in mice: antibodies to nucleoprotein in strain A/J.—Science, 1964, 143, 3612, 1333—1334.
19. Erickson R., Braun W. et al. Inhibition of bacterial transformation by nucleic acid — specific antibodies.—Nucl. Acid Immunol., Berlin—Heidelberg—N. Y., 1968, 201—221.
20. Frunger I. Immunofluoreszenz—histologischer Nachweis von antinuclearen Faktoren (ANF) bei Psoriasis arthropathica Polyarthritidis chronica progressiva und vis-

- ceralem Lupus erythematodes.—Wiss. Z. Friedrich—Schiller—Univ., Jena, Math.—Naturwiss. R., 1969, 18, 4, 571—573.
21. Holman H. R., Kunkel H. G. Affinity between the lupus erythematosus serum factor and cell nuclei and nucleoprotein.—Science, 1957, 126, 3265, 162—163.
 22. Jarvis A. W., Lawrence R. C. A micro-method for the quantitative determination of deoxyribonuclease.—Canad. J. Biochem., 1969, 47, 6, 673—675.
 23. Lambert P. H., Dixon F. J. Genesis of antinuclear antibody in NZB/W mice.—Clin. and Exp. Immunol., 1970, 6, 6, 829—839.
 24. Mackay J. R. Aging and immunological function in man.—Gerontologia, 1972, 18, 5—6, 285—304.
 25. McGiven A. R., Chose T. Antinuclear factor in NZB/NZW mice: incidence and in vitro effects.—Clin. and Exp. Immunol., 1968, 3, 7, 657—663.
 26. Rosenkranz H. Z., Erlanger B. F. et al. Purine- and pyridine-specific antibodies: effect on the fertilized sea urchin egg.—Science, 1964, 145, 3629, 282—283.
 27. Seligmann M., Milgrom F. Mise en evidence par la fixation du complement de la reaction entre acides deoxyribonucleiques et serum de malades atteints de lupus erythemateux dissemine.—C. r. Acad. sci., 1957, 245, 17, 1472—1475.
 28. Tanenbaum S. W., Karol M. H. Effects of anti-hapten antibodies on the biological activities of nucleic acids.—Nucl. Acid Immunol., Berlin—Heidelberg—N. Y., 1968, 222—247, Disc., 271—273.
 29. Thomas J. A., Vilain C., Lambre C. Inactivation de la cellule carcinomateuse Krebs 2 par des immunoserums d'antigenes nucleaires.—C. r. Acad. sci., 1970, D270, 26, 3329—3332.
 30. Walford R. L. The immunological theory of aging. Williams and Wilkins Co., Baltimore, Md., 1969.
 31. Wallace S. S., Erlanger B. F., Beiser S. M. Antibodies specific for purine and pyrimidine nucleosides: effect on in vitro priming ability of DNA.—J. Mol. Biol., 1969, 43, 1, 41—49.
 32. Wierzchowiecki M., Guszczuk J., Kozłowski W. Czynniki reumatoidalne i przeciwciała przeciwjadrowe u chorych na wirusowe zapalenie wątroby.—Polski tygod. lekar., 1968, 23, 27, 1020—1—21.
 33. Whitaker J. N., Starr G. Z. In vitro effect of antibodies to DNA on the template activity of DNA.—J. Clin. Invest., 1968, 47, 7, 1496—1510.
 34. Williams A. M., Bollen F. J. Inhibition of enzymatic DNA synthesis by certain pathological human sera.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1963, 112, 701—706.
 35. (Zitnan D., Sebesauer L.) Зитнан Д., Себекауэр Л. Изменчивость реакции антиядерных иммуноглобулинов с ядрами клеток различного происхождения.—Ж. гигиены, эпидемиол., микробиол. и иммунол., 1970, 14, 3, 285—293.

Лабораторія імунології
Інституту геронтології АМН СРСР, Київ

Надійшла до редакції
17.III 1976 р.

A. P. ZAICHENKO

AUTOIMMUNE REACTIONS TO DNA IN PEOPLE OF DIFFERENT AGE

Summary

Frequency and content of autoantibodies to DNA, skin reaction to intrasubcutaneous administration of the DNA solution, the desoxyribonuclease activity of blood serum were in 288 people of different age and sex whose medical examination showed them to be practically healthy. The frequency and development of the autoimmune reactions to DNA are found to increase with the age. The peak of the autoimmune reaction in men is observed ten years earlier (at the age of 65) than in the women (at the age of 75).

The desoxyribonuclease activity of serum decreases with the age. In long-living persons a certain decrease is found in frequency of the autoimmune reactions and an increase in the DNase activity as compared to the age period of 60-75.

Laboratory of Immunology, Institute of Gerontology,
Academy of Medical Sciences, USSR, Kiev