

УДК 616.72 – 002.77:612.017.1

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Пачкунова М.В.

*ГОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия Росздрава»,
Ярославль, e-mail: pachkunov@mail.ru*

У 80 больных ревматоидным артритом исследовано относительное и абсолютное содержание лимфоцитарных рецепторов CD3+, CD4+, CD8+, CD19+ крови, используя иммуноцитохимический субпопуляционный анализ лимфоцитов и уровень интерферона гамма сыворотки крови методом твердофазного иммуноферментного анализа. Проанализированы взаимосвязи между Т-, В-лимфоцитами и уровнем интерферона гамма крови. Определено состояние лимфоцитарных рецепторов и интерферона гамма крови в зависимости от степени активности ревматоидного артрита.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, CD-рецепторы, интерферон гамма

Ревматоидный артрит (РА) – аутоиммунное ревматическое заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся хроническим эрозивным артритом (синовитом) и системным поражением внутренних органов [5]. Известно, что в основе патогенеза РА лежат выраженные нарушения иммунного ответа, при этом важная роль в развитии и прогрессировании данного заболевания отводится лимфоцитарной и цитокиновой системам. За последние годы достигнут значительный прогресс в изучении патогенеза РА, а также в разработке современных средств диагностики и лечения данного заболевания. Однако изучение состояния молекулярных рецепторов лимфоцитарной системы и взаимосвязи их с провоспалительными цитокинами при РА остается актуальной и недостаточно исследованной проблемой.

Представления о содержании субпопуляций Т-лимфоцитов периферической крови и их значении при РА немногочисленны и противоречивы.

По данным исследователей, у больных РА по сравнению с группой здоровых лиц имеет место Т-лимфопения – снижение относительного содержания CD3+ лимфоцитов [4].

В периферической крови у больных РА ряд авторов не обнаружили значительного изменения содержания CD4+ Т-лимфоцитов [4], другие выявили достоверное увеличение этих клеток [9]. По данным ряда исследователей, в периферической крови больных РА отмечается снижение содержания CD8+ Т-лимфоцитов как следствие нарушения сбалансированности иммунного ответа [3]. По другим данным, у больных РА содержание CD8+ Т-лимфоцитов нормальное или повышено

[7]. По данным литературы, у больных РА в периферической крови повышено содержание CD8⁺ Т-лимфоцитов клеток памяти и понижено содержание соответствующих эффекторных клеток, что связано с ускоренной дифференцировкой Т-клеток памяти с фенотипами CD4⁺ и CD8⁺[6].

У больных РА выявлена активация гуморального звена иммунной системы, характеризующаяся увеличением содержания В-лимфоцитов периферической крови, что сопровождается увеличением Ig и ЦИК [4].

РА является системным аутоиммунным заболеванием, при котором преобладающая пусковая роль принадлежит Т-хелперам первого типа.

Важным последствием поляризации иммунного ответа по Th1 типу является нарушение баланса синтеза провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.

Интерферон гамма (IFN γ) является важным медиатором как доиммунной защиты, так и развивающегося специфического иммунного ответа. Этот цитокин регулирует адаптивный иммунный ответ, влияя на антигенпрезентирующие фагоциты и антигенраспознающие лимфоциты. IFN γ является главным медиатором клеточного иммунитета, стимулируя поляризацию клеток в направлении Th1. Кроме того, IFN γ способствует дифференцировке Т и В-лимфоцитов, является основным активатором макрофагов, стимулирует синтез антител В-лимфоцитами, увели-

чивает синтез основных провоспалительных цитокинов – TNF- α , IL-1, IL-6, рекрутирует CD4⁺ –Т-лимфоциты и другие клетки-эффекторы в очаг воспаления [2]. В связи с этим, IFN γ способен усиливать аутоиммунные реакции. Использование современных иммуноферментных методик показало, что концентрация IFN γ достоверно повышена в сыворотке крови и в синовиальной жидкости больных РА [8]. По данным других авторов, у больных РА снижена способность лейкоцитов и лимфоцитов к продукции IFN γ [3]. Рядом исследователей продемонстрирован отчетливый лечебный эффект антител к IFN γ у больных РА [1].

Цель работы

Изучить состояние молекулярных рецепторов иммунной системы: CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, иммунорегуляторного индекса – ИРИ (CD4⁺%/ CD8⁺%), а также регулятора иммунного воспаления IFN γ у больных РА, оценить взаимосвязи между Т-, В-лимфоцитами и IFN γ . Выявить состояние CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, ИРИ, IFN γ в зависимости от активности заболевания.

Материал и методы

Нами обследовано 80 женщин, больных РА, у которых диагноз соответствовал критериям АРА 1987 года. Средний возраст пациенток составил – 51,96 \pm 1,36 года, длительность заболевания – в среднем 7,24 \pm 0,7 лет.

Первая степень активности воспалительного процесса выявлена у 6,2% боль-

ных, вторая – у 45% и третья – у 48,8% пациентов. У 80% больных была определена серопозитивная форма РА. Рентгенологические изменения I-II степени отмечались у 52,5% больных, III-IV – у 47,5%. Системные проявления в виде амиотрофии (67,5), ревматоидных узелков (26,2%), лихорадки (22,5%), лимфоаденопатии (21,25%), гепатоспленомегалии (17,5%), сетчатого ливедо (10%), дигитального артериита (6,2%) были обнаружены у 48,8% больных. Преобладали больные со II функциональным классом заболевания – 40% и III – 55%. Группу сравнения составили 25 здоровых лиц, репрезентативных по возрасту и полу.

Для оценки выраженности суставного синдрома и функциональной способности больного использовались: анамнез; оценка степени выраженности болевого синдрома больным с применением 100 мм визуальной аналоговой шкалы (ВАШ); продолжительность утренней скованности в мин.; число болезненных и припухших суставов (исходя из 68 и из 44 суставов соответственно); суставной индекс Ричи (оценка 53 суставов). Всем больным проводилось лабораторное и инструментальное исследование: общий анализ крови и общий анализ мочи, определение С-реактивного белка (СРБ) (полуколичественный латекс-тест); ревматоидного фактора (РФ) (твердофазный иммуноферментный анализ); рентгенологическое исследование пораженных суставов. Состояние молекулярных рецепторов лим-

фоцитарной системы CD3+, CD4+, CD8+, CD19+ определяли, используя иммуноцитохимический субпопуляционный анализ лимфоцитов крови. Субпопуляции лимфоцитов периферической крови идентифицировали как в процентном их соотношении, так и в пересчете на абсолютные показатели. IFN γ сыворотки крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Статистическую обработку материала производили на персональном компьютере с помощью программы Statistica 6,0. Данные представлены в виде средней арифметической величины (M) и стандартной ошибки среднего (m). Для определения статистической значимости различий использовали Т-критерий Стьюдента. Взаимосвязи между переменными вычислялись при помощи коэффициента корреляции Пирсона r. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В группе больных РА по сравнению с группой контроля определено достоверное снижение относительного содержания CD19+ (22,51 \pm 0,53% и 24,63 \pm 1,0% соответственно, $p < 0,05$) без изменения их абсолютной численности (0,49 \pm 0,03*10⁹ /л и 0,49 \pm 0,04*10⁹ /л соответственно, $p > 0,05$), что, вероятно, связано с миграцией В-лимфоцитов из периферической крови в очаг воспаления. В группе больных

РА по сравнению с группой здоровых лиц отмечена тенденция к увеличению процентного содержания CD8+ ($24,82 \pm 0,42\%$ и $22,04 \pm 0,95\%$ соответственно, $p > 0,05$) и тенденция к снижению ИРИ ($1,46 \pm 0,03$ и $1,54 \pm 0,07$ соответственно, $p > 0,05$). Вероятно, у больных РА нарушена функция ци-

тотоксических лимфоцитов, неспособных контролировать аутоиммунное воспаление. Не определено изменение относительного содержания CD3+, CD4+, лимфоцитов крови у больных РА по сравнению с группой контроля ($p > 0,05$, рис. 1).

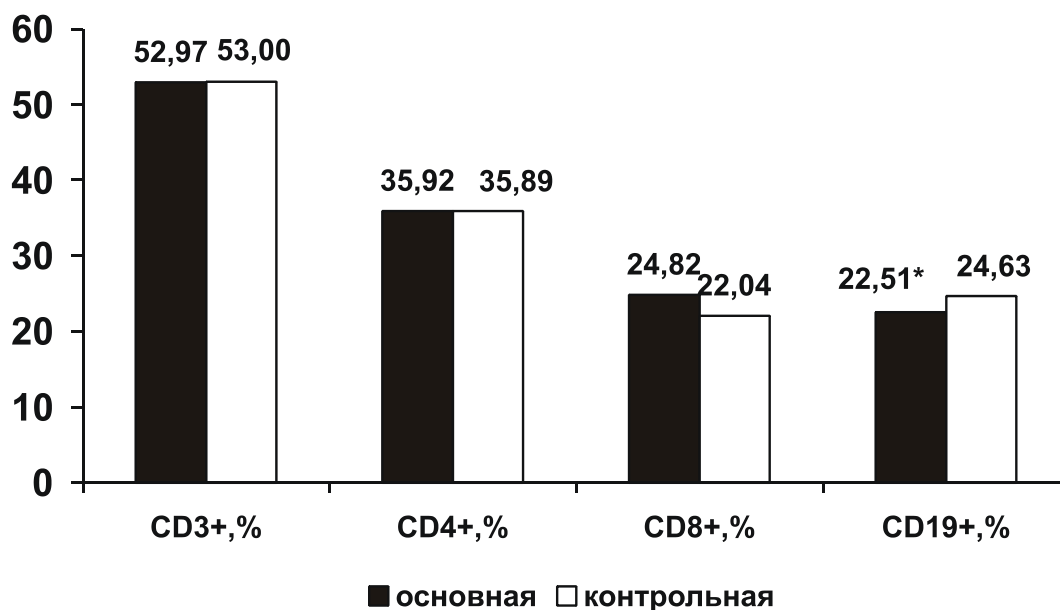


Рис. 1. Изменение относительного содержания CD3+, CD4+, CD8+, CD19+ крови у больных РА в основной и контрольной группах

* – ($p < 0,05$)

У больных РА по сравнению с группой здоровых лиц определена тенденция к росту абсолютного содержания молекулярных рецепторов лимфоцитов крови CD3+, CD4+, CD8+ ($p > 0,05$, рис. 2), что связано с активацией лимфоцитарной системы при хроническом иммуновоспалительном процессе.

Уровень IFN γ в периферической крови больных РА по сравнению с группой контро-

ля был увеличен в 3 раза ($249,92 \pm 33,84$ пг/мл и $73,89 \pm 6,55$ пг/мл, $p < 0,05$).

Было исследовано состояние CD3+, CD4+, CD8+, CD19+ и IFN γ крови у больных РА в зависимости от активности воспалительного процесса. Относительное содержание изучаемых молекулярных рецепторов ($p > 0,05$, таблица) при различных степенях активности РА достоверно не изменялось.

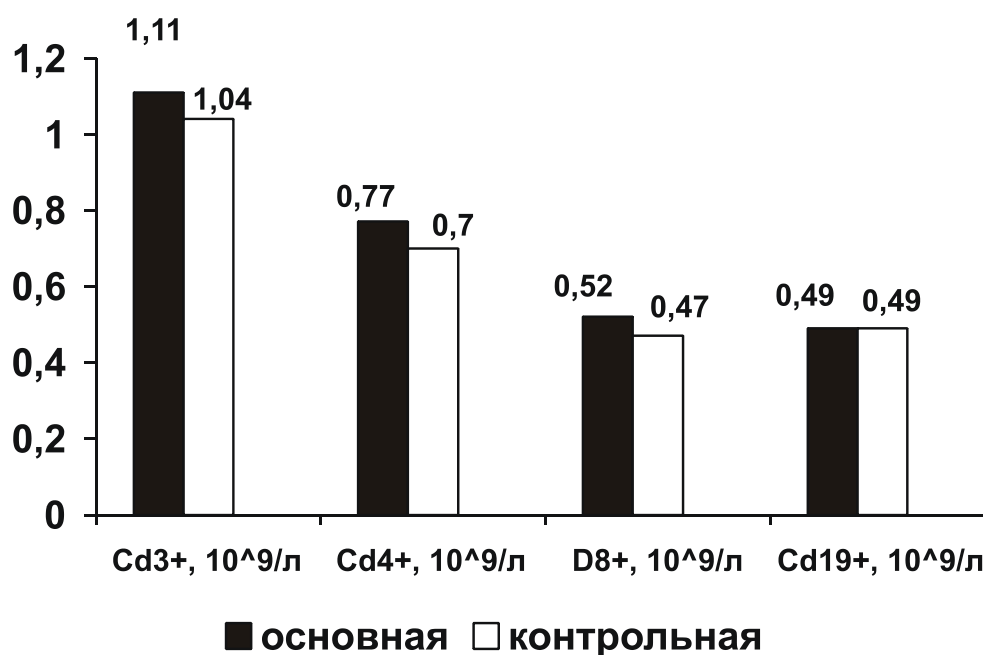


Рис. 2. Изменение абсолютного содержания CD3+, CD4+, CD8+, CD19+ крови у больных РА в основной и контрольной группах

У больных со 2-й степенью активности по сравнению с 1-й, наблюдается тенденция к увеличению абсолютного содержания изучаемых лимфоцитов крови CD3+, CD4+, CD8+, CD19+ и снижению ИРИ ($p > 0,05$, таблица).

Изменение содержания молекулярных рецепторов лимфоцитарной системы крови и цитокинов в зависимости от активности РА ($M \pm m$)

Показатель	1 группа здоровые n=25	Степень активности		
		2 группа 1 степень n=5	3 группа 2 степень n= 36	4 группа 3 степень n= 39
1	2	3	4	5
CD3 +,%	53,0±0,99	55,4±2,58 p(2,1) >0,05	52,81±0,8 p(3,1) >0,05 p(3,2) >0,05	52,77±0,86 p(4,1) >0,05 p(4,2) >0,05 p(4,3) >0,05
CD4 +,%	35,89±1,23	35,2±1,93 p(2,1) >0,05	35,47±0,61 p(3,1) >0,05 p(3,2) >0,05	36,42±0,8 p(4,1) >0,05 p(4,2) >0,05 p(4,3) >0,05
CD8 +,%	23,74±0,95	23,6±2,58 p(2,1) >0,05	24,84±0,51 p(3,1) >0,05 p(3,2) >0,05	24,97±0,66 p(4,1) >0,05 p(4,2) >0,05 p(4,3) >0,05

Окончание таблицы

1	2	3	4	5
CD19 +, %	24,63±1,0	21,8±2,17 p (2,1) >0,05	22,31±0,78 p (3,1) >0,05 p (3,2) >0,05	22,77±0,8 p (4,1) >0,05 p (4,2) >0,05 p (4,3) >0,05
ИРИ CD4+%/ CD8+%	1,54±0,07	1,55±0,19 p (2,1) >0,05	1,44±0,03 p (3,1) >0,05 p (3,2) >0,05	1,48±0,05 p (4,1) >0,05 p (4,2) >0,05 p (4,3) >0,05
CD3 +, 109/л	1,04±0,09	1,06±0,18 p (2,1) >0,05	1,23±0,11 p (3,1) >0,05 p (3,2) >0,05	1,02±0,09 p (4,1) >0,05 p (4,2) >0,05 p (4,3) >0,05
CD4 +, 109/л	0,7±0,06	0,66±0,1 p (2,1) >0,05	0,85±0,08 p (3,1) >0,05 p (3,2) >0,05	0,7±0,06 p (4,1) >0,05 p (4,2) >0,05 p (4,3) >0,05
CD8 +, 109/л	0,47±0,05	0,4±0,09 p (2,1) >0,05	0,57±0,05 p (3,1) >0,05 p (3,2) >0,05	0,49±0,04 p (4,1) >0,05 p (4,2) >0,05 p (4,3) >0,05
CD19 +, 109/л	0,49±0,04	0,41±0,07 p (2,1) >0,05	0,53±0,05 p (3,1) >0,05 p (3,2) >0,05	0,46±0,04 p (4,1) >0,05 p (4,2) >0,05 p (4,3) >0,05
IFN γ , пг/мл	73,89±6,55	139,33±23,04 p (2,1) <0,05	191,58±31,03 p (3,1) <0,05 p (3,2) <0,05	319,53±68,46 p (4,1) <0,05 p (4,2) <0,05 p (4,3) <0,05

Примечания: p – уровень значимости различия групп с соответствующими номерами, n – количество обследованных

При 3-й степени активности РА по сравнению со 2-й степенью, несмотря на нарастание тяжести заболевания, наблюдается тенденция к снижению CD3+, CD4+, CD8+, CD19+ и нарастанию ИРИ, что, вероятно, свидетельствует о срыве компенсаторных реакций и нарастании иммунодефицита (p>0,05).

При всех степенях активности РА по сравнению с нормой определено достоверное увеличение уровня IFN γ (p <0,05, таблица), что, вероятно, связано с воздействи-

ем этого существенного показателя аутоиммунизации на развитие и прогрессирование заболевания. У больных РА по мере повышения степени активности РА выявлено закономерное увеличение содержания IFN γ крови (p<0,05, таблица). Мы считаем, что это связано с нарастанием процессов иммунного воспаления по мере усиления активности РА.

При проведении корреляционного анализа нами обнаружена прямая взаимосвязь между активностью воспаления у боль-

ных РА, с одной стороны, и IFN γ , с другой, ($r= 0,27$, $p<0,05$). Не выявлены корреляционные взаимосвязи между активностью воспаления при РА и относительным и абсолютным содержанием изучаемых молекулярных рецепторов ($p>0,05$). Мы считаем, что динамика клеточных субпопуляций лимфоцитов не отражает напрямую активности иммуновоспалительного процесса.

Был проведен корреляционный анализ между показателями лимфоцитарной и цитокиновой систем при РА. Выявлены прямые корреляционные связи между относительным содержанием CD3+%, с одной стороны, и относительным содержанием CD4+% ($r=0,56$, $p<0,0001$), CD8+% ($r=0,38$, $p<0,01$), с другой, как и между CD4+%, с одной стороны, и CD8+% ($r=0,31$, $p<0,03$) и ИРИ ($r=0,37$, $p<0,01$), с другой. Определена обратная сильная корреляция между CD8+%, с одной стороны, и ИРИ ($r= -0,75$, $p<0,001$), с другой. Определена умеренная обратная корреляционная связь между ИРИ, с одной стороны, и CD19+% ($r= -0,32$, $p<0,03$), с другой, что свидетельствует об увеличении миграции В-лимфоцитов в очаг воспаления при снижении относительного содержания цитотоксических лимфоцитов в периферической крови. Выявлены высокодостоверные прямые корреляционные связи между абсолютным содержанием изучаемых молекулярных рецепторов: CD3+, с одной стороны, и CD4+, CD8+, CD19+ ($r=0,9$, $p<0,0001$),

с другой, как и между CD4+ с одной стороны, и CD8+, CD19+ ($r= 0,9$, $p<0,0001$) с другой, и между CD8+, с одной стороны и CD19+ ($r=0,9$, $p<0,0001$), с другой. Таким образом, обнаруженная выраженная зависимость между лимфоцитарными рецепторами свидетельствует об имеющемся взаимном влиянии Т- и В-лимфоцитов. Т-хелперы посредством когнатной помощи и путем выработки IFN γ влияют на дифференцировку В-лимфоцитов в плазматические клетки, антителопродукцию, способствуют созреванию цитотоксических лимфоцитов, активируют макрофаги. В-лимфоциты способны презентировать антигены Т-клеткам, активировать аутореактивные CD4+, CD8+ лимфоциты, продуцировать провоспалительные цитокины. CD8+ лимфоциты осуществляют основной клеточный механизм иммунорегуляции, оказывая ингибирующее влияние на Т-хелперы как путем контактных взаимодействий, так и через выделение гуморальных факторов. Выявлена умеренная прямая корреляционная связь между абсолютным содержанием CD19+с, одной стороны, и IFN γ крови ($r= 0,36$, $p<0,01$), с другой, что объясняется усилением дифференцировки В-лимфоцитов, их превращением в плазматические клетки с последующим синтезом антител под действием IFN γ .

Выводы

Таким образом, у больных РА имеет место активация лимфоцитарной си-

стемы, сопровождающаяся миграцией В-лимфоцитов из периферической крови в очаг воспаления и нарушением функции цитотоксических лимфоцитов. При 3-й степени активности заболевания по сравнению со 2-й, определена тенденция к снижению абсолютного содержания лимфоцитарных рецепторов, вероятно, вследствие нарастания иммунодефицита. Выявлено взаимное прямое влияние между Т- и В-лимфоцитами у больных РА. Миграция В-лимфоцитов из периферической крови в очаг воспаления увеличивается при снижении относительного содержания CD8+ крови. Увеличение уровня IFN γ крови приводит к увеличению содержания в крови абсолютного содержания В-лимфоцитов.

Достоверное повышение уровня IFN γ в сыворотке крови больных РА по сравнению с контрольной группой является, вероятно, признаком дисрегуляции с избыточными иммунными реакциями и последующим нарушением функции клеток общевоспалительного назначения. Концентрация IFN γ достоверно связана с активностью воспалительного процесса. Определение уровня IFN γ может быть использовано в качестве информативного критерия для определения степени активности РА с последующей перспективой применения антител к IFN γ .

Список литературы

1. Лукина Г.В. Перспективы антицитокинной терапии ревматоидного артрита // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2003. – №.7. – С.23-27.

2. Насонова В.А., Лукина Г.В., Сигидин Я.А. Нейтрализация ИФ- γ – новое направление в терапии ревматоидного артрита // Терапевтический архив. – 2008. – Т. 80, №. 5. – С. 30-37.

3. Олюнин Ю.А., Балабанова Р.М. Комбинированная иммуномодулирующая терапия ревматоидного артрита // Терапевтический архив. – 1996. – Т.68, №5. – С. 13-16.

4. Порядин П.В., Казимирский А.Н. Иммунная система и воспаление // Сборник трудов 5-го конгресса «Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии». – Т.1. – М., 2002. – С. 269-280.

5. Ревматология, национальное руководство / под ред. Е.Л. Насонова, В.А. Насоновой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 714 с.

6. Сучков С.В., Хитров А.М., Наумова Т.Е. и др. Современная модель патогенеза ревматоидного артрита и её место в клинической практике // Терапевтический архив. – 2004. – Т. 76, № 12. – С. 83-87.

7. Bank I., Coheu L., Monallem M. T cell subsets in patients with arthritis and chronic neutropenia // Ann Rheum Dis. – 2002. – Vol.61, №5. – P. 438-443.

8. Dolhain R.J., ter Haar N.T., Hoefakker S. Increased expression of interferon (IFN)-gamma together with IFN-gamma receptor in the rheumatoid synovial membrane compared with synovium of patients with osteoarthritis // Br J Rheumatol. – 1996. – Vol. 35, № 1. – P. 24-32.

9. Klimiuk P.A., Sierakowski S., Latosiwicz R et al. Mistological patterns of synovitis and serum chemokines in patients with rheumatoid arthritis // J Rheumatol. – 2005. – Vol. 32, №9. – P. 1666-1672.

Рецензент:

Кратнов Андрей Евгеньевич, д.м.н., профессор, зав. кафедрой терапии педиатрического факультета Ярославской государственной медицинской академии.

IMMUNOLOGIC PROFILE SICK OF RHEUMATOID ARTHRITIS

Pachkunova M.V.

*Yaroslavl state medical academy, Yaroslavl,
e-mail: pachkunov@mail.ru*

At 80 sick the rheumatoid arthritis investigates the relative and absolute maintenance of lymphocytic receptors CD3 +, CD4 +, CD8 +, CD19 + bloods, using immunocytochemical the subpopulation analysis of lymphocytes and level of interferon gamma of blood serum a method firmlyphase immunocytochemical the analysis. Interrelations between T – B-lymphocytes and level of interferon gamma blood are analysed. The condition of lymphocytic receptors and interferon gamma of a blood depending on a rheumatoid arthritis degree of activity is defined.

Keywords: rheumatoid arthritis, CDs-receptors, interferon gamma