

УДК 616.72-002.77-097-078:57.083.3

ПРЕДИКТОРЫ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

**Каримова Г.Ф., Кабилова А.М., Исламгалеева З.М.,
Хусаинова Л.Н., Мингазетдинова Л.Н.**

*ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России,
Уфа, e-mail: rektorat@bashgmu.ru*

В статье приведены результаты обследования больных ревматоидным артритом. Изучены показатели иммунной системы – субпопуляция лимфоцитов, хемокины моноцитов / макрофагов, определены основные пути иммунного реагирования и предикторы воспаления. Результаты исследования показали, что с нарастанием активности процесса и аутоиммунного воспаления при ревматоидном артрите развивается дисбаланс иммунной системы со значимым нарастанием цитотоксических лимфоцитов CD4+, на фоне снижения CD3+ Т – лимфоцитов, повышение уровня иммуноглобулина G. Отмечено, что формирование иммунного ответа идет по двум путям: Th1 клеточном и Th2 гуморальном. Однако с нарастанием активности РА определяется снижение активации Th1 пути, что свидетельствует о формировании Th2 пути иммунного ответа, где высоко значимо повышаются показатели цитокиновой сети – интерлейкин 1β (IL-1β) и моноцитарно-хемотаксический протеин (MCP-1). По мере нарастания активности ревматоидного артрита IL-1β и MCP-1 становятся основными предикторами аутоиммунного воспаления, определяя хронизацию процесса.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, лимфоциты, цитокины, хемокины

INFLAMMATORY PREDICTORS IN RHEUMATOID ARTHRITIS

**Karimova G.F., Kabilova A.M., Islamgaleyeva Z.M., Khusainova L.N.,
Mingazetdinova L.N.**

Bashkir State Medical University, Ufa, e-mail: rektorat@bashgmu.ru

В статье приведены результаты обследования больных ревматоидным артритом. Изучены показатели иммунной системы – субпопуляция лимфоцитов, хемокины моноцитов / макрофагов, определены основные пути иммунного реагирования и предикторы воспаления. Результаты исследования показали, что с нарастанием активности процесса и аутоиммунного воспаления при ревматоидном артрите развивается дисбаланс иммунной системы со значимым нарастанием цитотоксических лимфоцитов CD4+, на фоне снижения CD3+ Т – лимфоцитов, повышение уровня иммуноглобулина G. Отмечено, что формирование иммунного ответа, идет по двум путям: Th1 клеточного и Th2 гуморального. Однако с нарастанием активности РА определяется снижение активации Th1 пути, что свидетельствует о формировании Th2 пути иммунного ответа, где высоко значимо повышаются показатели цитокиновой сети – интерлейкин 1β (IL-1β) и моноцитарно-хемотаксический протеин (MCP-1). По мере нарастания активности ревматоидного артрита IL-1β и MCP-1 становятся основными предикторами аутоиммунного воспаления, определяя хронизацию процесса.

Keywords: rheumatoid arthritis, lymphocytes, cytokines, chemokines

Ревматоидный артрит (РА) относится к числу наиболее распространенных и тяжелых хронических воспалительных заболеваний, которое приводит к быстрой инвалидизации, сокращению продолжительности жизни [2, 3]. Это гетерогенное с точки зрения патогенеза заболевание, где дефекты клеточного иммунореагирования и гиперпродукция фактора некроза опухоли α (TNF-α) являются важным, но далеко не единственным механизмом воспаления и тканевой деструкции [1, 4, 5].

Данные экспериментальных исследований свидетельствуют о фундаментальной роли В- лимфоцитов в иммунопатогенезе РА, где В-лимфоциты участвуют в активации CD4+ Т клеток по Th-1 типу в синовиальной ткани, обладают способностью взаимодействовать с иммунными комплексами и «презентировать» широкий спектр аутоантигенов [7].

В связи с этим уточнение предикторов воспаления у больных РА остается акту-

альным в течение заболевания и выборе терапии.

Цель исследования – изучить характер воспаления у больных ревматоидным артритом в комплексной оценке субпопуляции лимфоцитов и моноцитарно/макрофагального фактора сыворотки крови.

Материалы и методы исследования

Под наблюдением находилось 56 больных, из них 42 (75 %) женщины (средний возраст – 38,7 ± 4,03 лет, 14 (25 %) мужчин (средний возраст – 43,2 ± 1,98 лет).

Все больные поступали в период обострения заболевания. Контрольную группу составили 18 здоровых доноров, сопоставимых с исследуемой группой по полу и возрасту.

Диагноз заболевания ставился на основании клинической картины и верифицировался при функциональных и лабораторных методах исследования (ASR, 1983 г.).

Все пациенты на момент госпитализации были обследованы клиническими и иммунологическими методами и дали письменное согласие на исследование. Иммунологическое исследование включало определение субпопуляций лимфоцитов (CD4+,

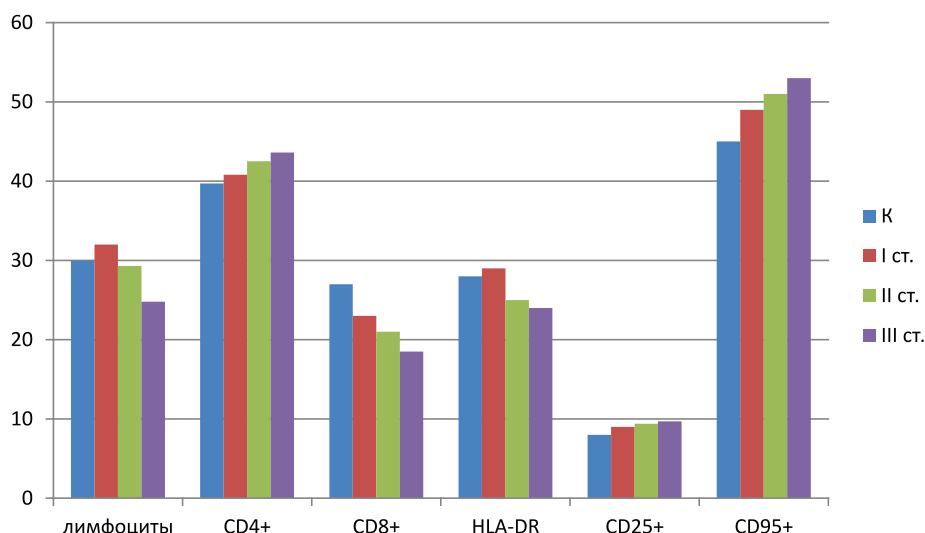
CD8+, CD16+, CD25+, CD95+, HLA- DR+) с использованием моноклональных антител, сывороточных иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG) методом радиальной иммунодиффузии в геле по Mancini (1965), уровня циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) по Р. Falck (1979). Цитокиновый статус определяли по экспрессии провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β , интерферон гамма – IFN- γ) при помощи иммуноферментного анализа в плазме крови с использованием тест-систем ООО «Вектор – Бест» (г. С.-Петербург). Уровень иммуноферментов (монотарно-хемотаксического протеина – MCP-1 и колониестимулирующего фактора – G-CSF) исследовали иммуноферментным методом трехфазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем ЗАО «Вектор – Бест» (Новосибирская область).

Статистическую обработку данных исследования проводили с помощью программного обеспечения STATISTICA for Windows (версии 6.0), при множественных сравнениях учитывали соответствующую поправку (Гланс С., 1999; Реброва О.Ю., 2002). Сравнение количественных признаков в груп-

пах проводилось по критериям Крускала–Уоллиса, по ранговому критерию множественного сравнения U Манна–Уитни.

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ субпопуляций лимфоцитов периферической крови выявил изменения у больных РА. Так, у больных с минимальной активностью РА субпопуляционные структуры не выходили за статистически значимые изменения и были близки к контрольной группе, в группе больных с умеренной активностью были уже значимые изменения со снижением CD3+ и повышением CD4+ лимфоцитов ($51,6 \pm 0,5\%$ и $42,5 \pm 0,3\%$, $p < 0,05$) при контроле ($68,1 \pm 1,4$ и $39,7 \pm 1,2\%$ соответственно) при нарастании отношения CD4+/CD8+ до $1,7 \pm 0,04$ (в контроле $1,4 \pm 0,04$) (рисунок).



Содержание лимфоцитов у больных ревматоидным артритом.

Примечание: I – минимальная активность РА; II – умеренная активность РА; III – высокая активность РА; К – контрольная группа; достоверность различий * – $p < 0,05$

У больных РА формирование иммунного ответа идет по двум путям: клеточного в виде выраженного увеличения Т-лимфоцитов (CD4+) на фоне снижения CD3+ Т лимфоцитов и гуморального с повышением уровня иммуноглобулина G (до $19,3 \pm 2,3$ и $26,0 \pm 2,4$ ед. соответственно активности при контроле $15,4 \pm 1,4$ ед.).

В целом снижение Т-лимфоцитов с цитотоксичностью (CD3+, CD8+) при высокой активности РА характеризует понижение активации Th1 (клеточного пути) с нарастанием гуморального (В-звена) пути иммунитета по мере повышения активности. Корреляционный анализ выявил множество прямых статистически значимых связей между основными субпопуляциями

лимфоцитов, показателями Т-клеточного и В-лимфоцитарного иммунитета, что свидетельствует о формировании Th2 (гуморального) пути и способствует развитию хронического воспаления. Так, HLA-DR коррелирует с CD8+, CD16+ ($r = 0,61$; $r = 0,68$ соответственно), CD25+ с CD4+, CD16+ ($r = 0,67$; $r = 0,73$ соответственно), а IgG с CD25 ($r = 0,56$), ЦИК – с CD3+ ($r = 0,63$).

Была выявлена обратная связь показателей В-звена к антителам почечного антигена (АПА) (CD3+, $r = -0,59$), что подтверждает формирование Th2 (гуморального) пути иммунитета.

Нами также была изучена цитокиновая сеть как показатель, регулирующий функ-

циональное состояние клеток фагоцитарного звена иммунитета.

Исследование показателей способности клеток крови к продукции провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IFN- γ), участвующих в реакции воспаления, показало их повышение во всех группах больных.

Уровень интерлейкина 1 β (IL-1 β) высоко значимо превышал его значения в контрольной группе и составил для больных высокой активности $87,6 \pm 5,34$ пг/мл (в контроле – $11,6 \pm 0,67$ пг/мл $p < 0,01$) или был выше в 8 раз (табл. 1).

Также высоко значимо нарастал уровень экспрессии TNF- α $71,20 \pm 5,62$ пг/мл при высокой активности, до $43,54 \pm 3,86$ пг/мл – при умеренной активности, и до $18,10 \pm 1,28$ пг/мл при минимальной активности (в группе контроля $7,6 \pm 0,89$ пг/мл, $p < 0,01$). Выявлена прямая корреляционная связь уровня TNF- α с активностью процесса ($r = 0,48$), болевым синдромом ($r = 0,32$). Полученные нами высокие показатели TNF- α и IL-1 β у больных РА свидетельствуют о глубоких нарушениях цитокинового статуса у этих больных, что согласуется с данными других исследований [1, 6, 7].

Таблица 1

Уровень экспрессии цитокинов у больных ревматоидным артритом

Показатели	IL-1 β пг/мл	TNF- α пг/мл	IFN- γ пг/мл
Контроль $n = 16$	$11,6 \pm 0,67$	$7,6 \pm 0,89$	$39,6 \pm 6,74$
РА I ст. активн. $n = 8$	$22,4 \pm 4,68^*$	$18,10 \pm 1,28^*$	$48,2 \pm 4,48$
РА II ст. активн. $n = 26$	$47,2 \pm 7,63^*$	$43,54 \pm 3,86^{**}$	$62,0 \pm 4,50^*$
РА III ст. активн. $n = 22$	$87,6 \pm 5,34^{**}$	$71,20 \pm 5,62^{**}$	$54,7 \pm$

Примечание. Значения достоверны с группой контроля: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; изучение хемокинов моноцитов/макрофагов MCP – 1 и G – CSF в группе больных РА и сопоставление с результатами группы контроля представлено в табл. 2.

Установлен большой разброс показателей MCP-1 в группе больных РА. Сопоставление данных больных РА с показателями

контрольной группы показало значимое увеличение сывороточного уровня хемокина MCP-1.

Таблица 2

Показатели цитокинов фагоцитоза и ангиогенеза у больных ревматоидным артритом

Показатели	P	Mean	Confid 95	Confid + 95 %	Media	Minim	Maxim	Q1	Q2
Больные $n = 42$	0,001	MCP – 1 пг/мл							
		318,36	175,6	679,3	298,64	52,65	489,10	148,20	371,50
Здоровые $n = 16$		143,83	46,1	240,2	109,79	–10,19	236,24	40,51	163,82
Больные $n = 42$	0,025	G–CSF пг/мл							
		26,51	12,15	38,87	18,67	1,99	148,30	8,32	33,27
Здоровые $n = 16$		7,13	–0,33	14,60	5,20	–10,19	46,14	–0,11	13,32

Примечание. Достоверность различий между группами с поправкой Kruskal–Wallis.

Наибольшие показатели отмечались у больных РА по содержанию MCP-1 и составили $298,64 \pm 16,53$ пг/мл, превышая контрольную группу ($109,79 \pm 36,06$ пг/мл) в 2,5 раза, разброс результатов составил 52,65 и 489,10 пг/мл (в контроле – 10,19 и 236,24 пг/мл).

Исследование содержания фактора G–CSF как показателя ангиогенеза определило его повышение в группе больных РА до $18,67 \pm 3,58$ пг/мл (при контроле $5,20 \pm 1,16$ пг/мл, $p = 0,025$), что подтверждало включение сосудистого русла и капиллярной сети в течение заболевания.

С целью определения направленности формирования иммунного ответа у больных РА была исследована продукция IFN- γ и IL-1 β (табл. 3).

Отмечено увеличение IFN- γ значимо во 2 группе с тенденцией к повышению в 1 и 3 группах, но одновременно и более значимо нарастали показатели IL-1 β до $87,6 \pm 9,21$ пг/мл ($p < 0,01$) при высокой активности и до 23,5–46,5 пг/мл в группах с минимальной и умеренной активностью, превышая контроль в 2 и 4 раза.

Таблица 3

Продукция цитокинов клетками крови у больных ревматоидным артритом

Показатели	Исследуемые группы			
	контроль	1 группа	2 группа	3 группа
IFN- γ , пг/мл	32,6 $\pm$ 6,74	48,2 $\pm$ 4,48	62,0 $\pm$ 4,5*	54,7 $\pm$ 5,4
IL-1 β , пг/мл	11,6 $\pm$ 2,30	23,5 $\pm$ 2,41*	46,5 $\pm$ 4,8**	87,6 $\pm$ 9,21**

Примечания: различия в группах статистически значимы относительно контроля: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$;

1 группа – больные РА минимальной активности;

2 группа – больные РА умеренной активности;

3 группа – больные РА высокой активности.

Полученные данные позволяют утверждать, что происходит активация Th1 пути иммунного ответа (IFN- γ), но нарастает активность Th2 (увеличение IL-1 β) с активностью заболевания.

В целом у больных РА иммунная защита характеризуется активацией врожденных факторов иммунитета с привлечением клеток фагоцитарного звена, формированием иммунного ответа вначале по Th1 пути (IFN- γ) и активацией гуморальной защиты по мере нарастания активности РА с нарастанием аутоиммунного воспаления. Предиктором воспаления при РА определены IL-1 β и МСР-1, которые опосредуют степень активности процесса.

Таким образом, данные настоящего исследования показывают пути иммунного реагирования при РА, где уже при минимальной активности начинают вовлекаться факторы воспаления как IL-1 β , TNF- α и МСР-1.

По мере нарастания активности РА IL-1 β , МСР-1 становятся основными предикторами аутоиммунного воспаления с вовлечением Th2 пути иммунного реагирования, приводят к прогрессированию заболевания, утрате функции суставов.

Список литературы

1. Насонов Е. Л. Фармакотерапия ревматоидного артрита – взгляд 21 века. // Клиническая медицина. – 2005. – № 6. – С. 8–12.
2. Насонов Е.Л. Новые направления терапии ревматоидного артрита : перспективы применения моноклональных антител к В – лимфоцитам. // Рус. Мед. Журнал. – 2006. – № 14(25). – С. 1778–1782.
3. Gabriel S.E. The epidemiology of rheumatoid arthritis. // Rheum. DIS. Clin. North. Amer. – 2001. – № 27. – P. 269–281.

4. Ferestein G.S. The T – cell cometh ^ interplay between adaptive immunity and cytokine networks is rheumatoid arthritis // Y. Clin Ynvest. – 2004. – № 114. – P. 471–474.

5. Scott D. L., Kingsley G.H. Tumor inhibitors for rheumatoid arthritis // New Engl. Y. Med. – 2006. – № 355. – P. 704–712.

6. Kotzin B.L. The role of B cells in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. // Y. Rheumato C. – 2005. – № 1. – P. 216–218.

7. Zhand Z., Bridges S.L. Pathogenesis of rheumatoid arthritis : role of B lymphocytes. // Rheum. Dis. Clin. North. Am. – 2001. – № 27. – P. 335–353.

References

1. Nasonov E.L. Farmakoterapija revmatoidnogo artrita – vzgljad 21 veka // Klinicheskaja medicina 2005. no. 6. pp. 8–12.
2. Nasonov E.L. Novye napravlenija terapii revmatoidnogo artrita : perspektivy primeneniya monoklonaal'nyh antitel k V – limfocitam // Rus. Med. Zhurnal 2006. no. 14(25). pp. 1778–1782.
3. Gabriel S.E. The epidemiology of rheumatoid arthritis // Rheum. DIS. Clin. North. Amer. 2001. no. 27. pp. 269–281.
4. Ferestein G.S. The T – cell cometh interplay between adaptive immunity and cytokine networks is rheumatoid arthritis // Y. Clin Ynvest. 2004. no. 114. pp. 471–474.
5. Scott D. L., Kingsley G.H. Tumor inhibitors for rheumatoid arthritis // New Engl. Y. Med 2006. no. 355. pp. 704–712.
6. Kotzin B.L. The role of B cells in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. // Y. Rheumato C. 2005. no. 1. pp. 216–218.
7. Zhand Z., Bridges S.L. Pathogenesis of rheumatoid arthritis : role of B lymphocytes. // Rheum. Dis. Clin. North. Am. 2001. no. 27. pp. 335–353.

Рецензенты:

Никуличева В.И., д.м.н., профессор кафедры терапии и семейной медицины БГМУ, г. Уфа;

Сахаутдинова Г.М., д.м.н., профессор кафедры поликлинической терапии БГМУ, г. Уфа.

Работа поступила в редакцию 12.04.2013.