

УДК 616.721-002.77-08

ВЛИЯНИЕ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ НА ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ СЕРОНЕГАТИВНЫМИ СПОНДИЛОАРТРИТАМИ

КОНДРАТЮК В.Е.¹, СИДОРОВА М.В.², БЫЧКОВА Н.Г.¹

¹Национальный медицинский университет им. А.А.Богомольца

²ТОВ Медицинский центр «Добробут-Поликлиника»

Серонегативные спондилоартриты (ССпА) представляют собой гетерогенную группу заболеваний, объединённых воспалительными процессами в суставах, ассоциацией с HLA-B27 антигеном, а также некоторыми внесуставными поражениями: передним увеитом, псориазом, воспалительными заболеваниями кишечника.

Для разных нозологических форм ССпА характерны общие и отличительные черты воспаления: боль в позвоночнике воспалительного характера, ассиметричный олигоартрит, преимущественно нижних конечностей, сакроилеит II стадии и выше с анкилозирующим спондилитом, энтезитом, серонегативностью по ревматоидному фактору и семейной агрегацией.

Определение активности воспалительного процесса при ССпА проводят по клиническим и лабораторным показателям. Клиническое определение активности артрита, согласно рекомендациям Международной группы по изучению анкилозирующего спондилоартрита (ASAS), основывается на индексе BASDAI (Garrett S., 1994) [6], а лабораторная диагностика – на скорости оседания эритроцитов и количестве С-реактивного протеина в крови [9]. Однако уровень клинической активности воспаления не всегда коррелирует с этими данными. В связи с этим представляется важным изучение показателей клеточного звена иммунитета для определения динамики воспаления и эффективности противовоспалительного лечения.

Различная активность воспалительного процесса при ССпА подразумевает разные схемы лечения. Базисной терапией ССпА является применение сульфосалазина или его комбинации с нестероидными противовоспалительными средствами: большинство пациентов находятся на такой терапии длительно. В организме человека сульфасалазин диссоциирует на сульфамиридин и 5-аминосалициловую кислоту [1; 3]. Именно сульфамиридин проникает через тканевые барьеры, накапливается в синовиальной жидкости и оказывает противовоспалительное и иммуносупрессивное действие: тормозит хемотаксис, фагоцитоз и адгезию лейкоцитов, подавляет синтез туморнекротического фактора альфа, ИЛ-8 и ИЛ-1 [7].

Однако в 12-23% случаев возникает клиническая неэффективность сульфосалазина

или же его индивидуальная непереносимость [2; 5]. В таких случаях обосновано назначение глюкокортикоидов на длительный период времени. Известно, что эффективность лечебного действия глюкокортикоидов связана с уменьшением количества Т-хелперной субпопуляции, угнетением продукции иммуноглобулинов в плазмоцитах, подавлением функциональной активности макрофагов и лимфоцитов вследствие нарушения хемотаксиса, фагоцитарной активности и продукции ИЛ-1 [1; 8]. Несмотря на это, исследование активированных субпопуляций Т-лимфоцитов (CD25+ и HLA-DR+), а также субпопуляции, несущей Fas-рецептор апоптоза (CD95+) у пациентов с низкой степенью активности воспаления вследствие длительного применения сульфосалазина и глюкокортикоидов не проводились.

Целью нашего исследования явилось определение значимости маркеров активации иммунитета для характеристики воспалительного процесса у больных с неактивным ССпА в зависимости от и проводимого лечения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 60 пациентов ССпА 18 – 68 лет с преобладанием мужчин – 50 (83,3%). Большинству пациентов (52 чел., 86,6%) диагноз был выставлен в соответствии с модифицированными Нью-Йоркскими критериями (1984 г.) [10], остальным 8 пациентам (13,4%) был выставлен диагноз в соответствии с критериями ASAS (2009г.) [8]. Больные были разделены на 2 группы в зависимости от базисной терапии: 1-я группа – 34 пациента с ССпА, которые находились на базисной терапии сульфосалазином (СС), средний возраст – $42,8 \pm 13,3$, средняя длительность ССпА – $9,07 \pm 7,3$ лет, средняя продолжительность лечения сульфосалазином $12,4 \pm 6,1$ месяцев. 2-я группа - 26 пациентов с ССпА, которые находились на базисной терапии глюкокортикоидами (до 10 мг преднизолона в сутки), средний возраст – $39,6 \pm 10,7$, средняя длительность ССпА – $10,2 \pm 7,1$ лет, средняя продолжительность лечения глюкокортикоидами $9,6 \pm 5,7$ месяцев. В исследование были отобраны только те больные, у которых активность системного заболевания была низкой на применяемом лечении:

индекс BASDAI в среднем составил 3,3 и 3,1 в I и II группе соответственно. Контрольную группу составили 35 здоровых доноров (25 мужчин и 10 женщин), средний возраст $26,9 \pm 7,2$ лет, у которых в периферической крови определяли те же показатели иммунного статуса, что и в группе пациентов с ССпА.

Всем больным, включенным в исследование, проводился тщательный сбор жалоб, анамнестических данных, а также общепринятые клинические методы обследования. Определение активности заболевания и функционального состояния опорно-двигательного аппарата, определение активности артрита периферических суставов и энтезопатии проводилось при помощи Международного индекса BASDAI и лабораторных данных.

Лабораторная диагностика включала: общеклинические, биохимические исследования, определение СРБ методом иммуноферментного анализа.

Количественное определение основных и активированных субпопуляций Т- и В-лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD8+, CD25+, CD95+ и HLA-DR+) проводили непрямым иммунофлуоресцентным методом с панелью сертифицированных в Украине моноклональных антител ЗАО «Сорбент-сервис» (Россия), определяя процентное и абсолютное количество клеток [4].

Рентгенологическое исследование проводилось путем стандартной рентгенографии илеосакральных сочленений в прямой проекции и отделов позвоночника в прямой и боковой проекциях. МРТ исследование проводилось на аппарате «MAGNETOM Essenza 1,5 T» (Siemens) по программе «hip» в режимах T1 ВИ (взвешенные изображения). Статистическая обработка данных проведена с проверкой значимости отличий средних при помощи критерия Стьюдента (t) в программе R v.3.1.2 for Windows 7. Достоверность различий средних была принята при вероятности ошибки $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Таблица 1

Клиническая и демографическая характеристика пациентов с ССпА.

Показатель	I группа (сульфосалазин)	II группа (глюкокортикоиды)
Количество больных	34	26
мужчин, n, %	30	23
женщин, n, %	4	3
Возраст, годы, средн.(станд.откл.)	42,8 (13,3)	39,6 (10,7)
Длительность ССпА, месяцы, средн.(станд.откл.)	9,07 (7,3)	10,2 (7,1)
HLA-B27 позитивные, %	30, 88,2%	22, 84,6%
BASDAI, средн.(станд.откл.)	3,3 (1,2)	3,1 (1,3)
С-реактивный протеин, г/л, средн.(станд.откл.)	28 (4,1)	32 (6,3)
Скорость оседания эритро-цитов, мм, средн.(станд.откл.)	32 (17)	24 (12)
Рецидивирующий передний увеит в анамнезе, кол-во пациентов	28	19

Таблица 2

Показатели клеточного звена иммунитета у больных серонегативными спондилоартритами

	I группа (лечение сульфосалазином) (n=36) $\bar{X} \pm \sigma$	II группа (лечение глюкокортикоидами) (n=24) $\bar{X} \pm \sigma$	Здоровые доноры (n=35) $\bar{X} \pm \sigma$
1	2	3	4
Лейкоциты, 10^9 /л	$5,4 \pm 1,57$, $p=0,004$	$5,0 \pm 1,4$, $p=0,002$	$6,4 \pm 0,43$
Лимфоциты, % 10^9 /л	$38,44 \pm 14,88$, $p=0,021$ $2,03 \pm 0,66$, $p=0,027$	$36,02 \pm 12,76$, $p=0,19$ $1,75 \pm 0,73$, $p=0,008$	$31,44 \pm 3,37$ $2,33 \pm 0,2$
CD3+лимфоциты, % 10^9 /л	$50,03 \pm 12,36$ $p=8,33 \times 10^{-9}$ $1,01 \pm 0,4$ $p=1,37 \times 10^{-8}$	$47,99 \pm 11,65$ $p=4,59 \times 10^{-6}$ $0,85 \pm 0,47$ $p=1,86 \times 10^{-5}$	$68,87 \pm 5,09$ $1,60 \pm 0,19$
CD4+лимфоциты, % 10^9 /л	$32,98 \pm 8,50$ $p=0,004$ $0,67 \pm 0,31$ $p=0,001$	$30,61 \pm 7,66$ $p=0,06$ $0,53 \pm 0,3$ $p=0,0004$	$38,24 \pm 3,01$ $0,89 \pm 0,09$

Продолжение табл. 2

1	2	3	4
CD8+лимфоциты, % 10 ⁹ /л	17,28±5,55 p=1,79x10-5 0,35±0,18 p=1,78x10-5	36,19±12,69 p=0,001 0,57±0,16 p=0,35	22,82±1,95 0,53±0,06
Иммунорегуляторный индекс CD4+/CD8+	1,99±0,71 p=0,01	0,85±0,22 p=9,39x10-11	1,58±0,33
CD25+ лимфоциты, % 10 ⁹ /л	31,38±7,9 p=3,25x10-12 0,64±0,28 p=2,88x10-6	24,62±5,32 p=1,89x10-7 0,45±0,18 p=2,88x10-6	14,21±1,85 0,33±0,05
HLA-DR+ лимфоциты, % 10 ⁹ /л	23,56±4,47 p=9,40x10-6 0,46±0,13 p=0,31	23,61±8,26 p=0,045 0,39±0,18 p=0,38	18,92±1,36 0,44±0,04
CD95+ лимфоциты, % 10 ⁹ /л	21,09±5,34 p=1,23x10-5 0,42±0,17 p=0,06	20,38±2,98 p=1,44x10-5 0,35±0,17 p=0,93	15,55±2,35 0,36±0,06

Примечание: \bar{X} – среднее значение исследуемого показателя
 σ – стандартное отклонение среднего
n – количество наблюдений в группе
p – вероятность ошибки при оценке разницы среднего показателя исследуемой группы и контроля

Количество лейкоцитов у пациентов с серонегативными спондилоартритами было достоверно ниже по сравнению с контрольной группой: в I группе наблюдалось снижение абсолютного количества лейкоцитов на 15,6 % (p=0,004), а во II-й – на 21,8 % (p=0,002) (табл.2). Это связано, по всей видимости, с общей миелосупрессией вследствие длительного лечения сульфосалазином и глюкокортикоидами.

Абсолютное количество лимфоцитов также было снижено по сравнению с данными контроля, это снижение носило достоверный характер: в группе больных, получавших лечение сульфосалазином, абсолютное количество лимфоцитов снизилось на 12,8 % с вероятностью ошибки p=0,027; в группе больных, находящихся на лечении глюкокортикоидами, снижение было на 24,8% с вероятностью ошибки p=0,008. Это свидетельствует об общей тенденции к лимфопении под влиянием как самого заболевания, так и применяемого лечения. Такие данные о влиянии сульфосалазина и глюкокортикоидов совпадают с проведенными ранее исследованиями [1, 3].

Однако процентное содержание лимфоцитов, наоборот, было повышено в обеих исследуемых группах, несмотря на проводимое лечение. Так, в I группе (лечение сульфосалазином) процентное содержание лимфоцитов было повышено на 22,2% с вероятностью ошибки p=0,021, во II группе (лечение глюкокортикоидами) – на 14,5% с вероятностью ошибки p=0,19, что связано с большой разнородностью данных и разной длительности применения глюкокортикоидов (табл.2).

Абсолютное и процентное содержание популяции CD3+лимфоцитов было достоверно снижено в сравнении с данными контроля в обеих исследуемых группах с очень низкой степенью вероятности ошибки. Так, абсолютное содержание CD3+лимфоцитов в I группе было снижено

на 36,8% (p=1,37x10-8), а во II группе – на 46,8% (p=1,86x10-5). Относительное содержание популяции CD3+лимфоцитов имело аналогичную тенденцию: в I группе было снижение на 27,3% (p=8,33x10-9), а во II – на 30,3% (p=4,59x10-6). Это свидетельствует о значительном влиянии обоих способов лечения ССпА на популяцию Т-лимфоцитов (табл.2).

Такая же тенденция наблюдалась и в количестве субпопуляции CD4+лимфоцитов: абсолютное количество Т-хелперов было снижено в обеих исследуемых группах: в I – на 24,7% (p=0,001), а во II группе – на 40,4% (p=0,0004). Относительное содержание субпопуляции CD4+лимфоцитов было достоверно снижено на 13,7% (p=0,004) (табл.2). На фоне применения глюкокортикоидов наблюдается аналогичная тенденция, - снижение CD4+лимфоцитов на 19,9% (p=0,06). Достоверный характер этот показатель не носил в связи с разнородностью группы по длительности самого заболевания и применения глюкокортикоидов (рис. 1).

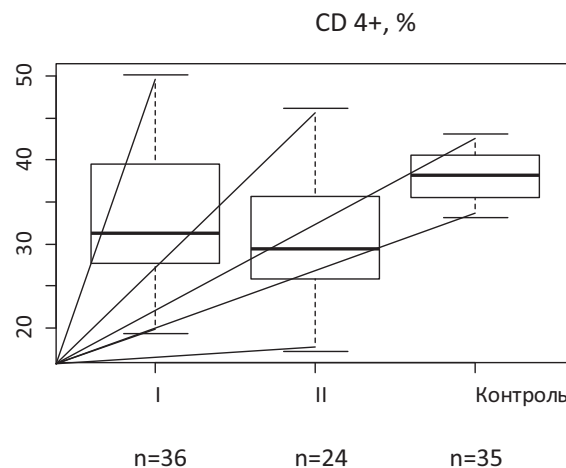


Рис. 1. Количество CD4+лимфоцитов в группах больных и у здоровых

Содержание популяции CD8+лимфоцитов в I и II группе носило разнонаправленный характер. Так, количество Т-супрессоров в группе больных, получавших сульфосалазин, было снижено на 33,9 % с вероятностью ошибки $p=1,78 \times 10^{-5}$, тогда как в группе пациентов, находящихся на лечении глюкокортикоидами, содержание данной субпопуляции лимфоцитов было повышено на 7,5 %, $p=0,35$. Это связано, вероятно, с превалированием длительного активного хронического аутоиммунного процесса во II группе, что привело к нарастанию субпопуляции CD8+лимфоцитов (табл.2).

Процентное содержание CD8+лимфоцитов имеет тенденцию, аналогичную абсолютному количеству этой субпопуляции: в I группе на-

блюдалось снижение на 24,2 % с вероятностью ошибки $p=1,79 \times 10^{-5}$, а во II группе, наоборот, – повышение на 58,5% с вероятностью ошибки $p=0,001$. Такая разница по группам связана с большей длительностью системного заболевания и влиянием глюкокортикоидов, прежде всего на Т-хелперные лимфоциты, что отражается относительным повышением Т-супрессорных лимфоцитов (рис.2, табл.2).

Исходя из этого, в I группе больных происходило повышение иммунорегуляторного индекса на 25,9 % с вероятностью ошибки $p=0,01$, а во II группе, наоборот, – его снижение на 46,2 % с вероятностью ошибки $p=9,39 \times 10^{-11}$ (рис.3, табл.2).

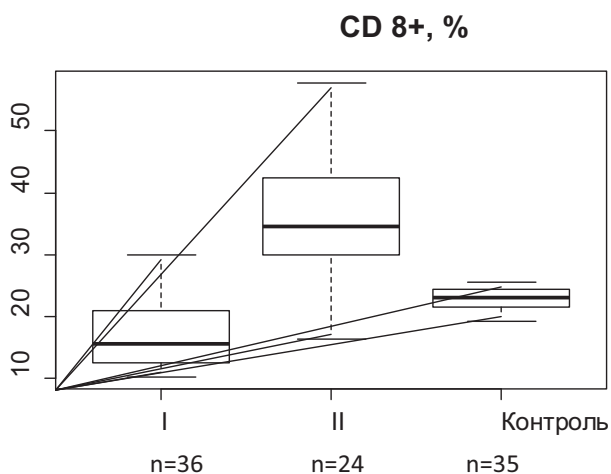


Рис. 2. Количество CD8+лимфоцитов в группах больных и у здоровых

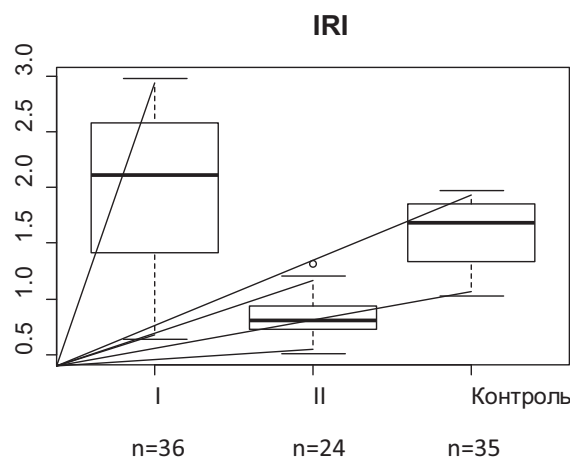


Рис. 3. Уровень иммунорегуляторного индекса (IRI) в группах больных и у здоровых.

Содержание популяции активированных CD25+-лимфоцитов, несущих рецептор к интерлейкину-2, было повышено как в процентном, так и в абсолютном содержании в обеих исследуемых группах по сравнению с контролем. Так, абсолютное содержание CD25+лимфоцитов в I группе превышало таковое в 1,93 раза по сравнению с контролем с вероятностью ошибки $p=2,88 \times 10^{-6}$, а во II группе – на 36,3% с вероятностью ошибки $p=2,88 \times 10^{-6}$ (рис.4, табл.2). Относительное содержание CD25+-лимфоцитов в I группе было в 2,2 раза выше, чем в контроле, а во II группе – на 73,25% с вероятностью ошибки $p=1,89 \times 10^{-7}$ (табл.2).

Различия в показателе активированных CD25+лимфоцитов между I и II группой свидетельствует о большем подавлении пролиферации CD25+лимфоцитов глюкокортикоидами, нежели сульфосалазином.

Абсолютное количество HLA-DR+лимфоцитов, как маркера поздней активации Т- и В-лимфоцитов, в обеих исследуемых

группах больных практически не отличалось от показателей контроля, а вероятность ошибки составила $p=0,31$ и $p=0,38$ в I и II группах соответственно. Процентное содержание HLA-DR+лимфоцитов существенно превышало данные контроля независимо от вида проводимого лечения: в I группе на 24,5%, $p=9,40 \times 10^{-6}$, а во II группе – на 24,7%, $p=0,045$, что свидетельствует о хроническом воспалительном процессе и слабом влиянии проводимого лечения на данный показатель (рис.5, табл.2).

Анализ количества CD95+лимфоцитов, несущих Fas-рецептор апоптоза, показал, что данные обеих групп пациентов практически не отличаются от показателей контроля с вероятностью ошибки $p=0,06$ и $p=0,93$ в I и II группах соответственно. Процентное содержание этой субпопуляции достоверно превышало показатель контроля в I группе на 35,6% ($p=1,23 \times 10^{-5}$), а во II группе на 31,0%, $p=1,44 \times 10^{-5}$ (рис.6, табл.2).

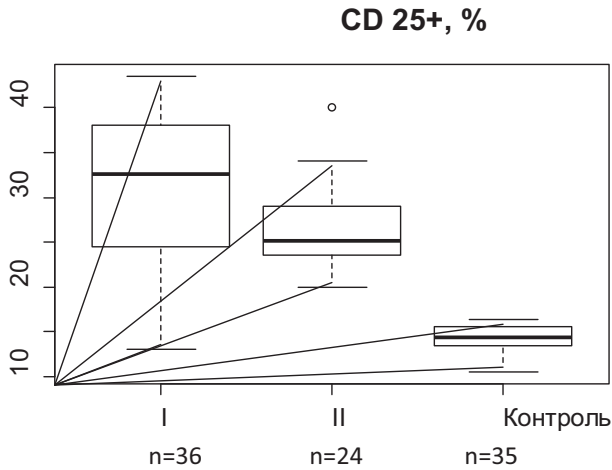


Рис. 4. Количество CD25+лимфоцитов в группах больных и у здоровых.

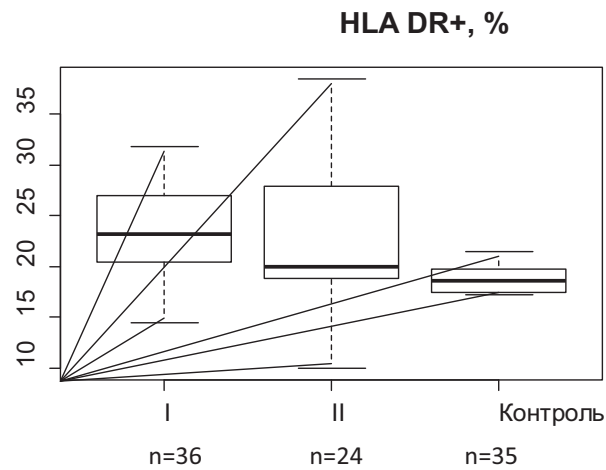


Рис. 5. Количество HLA-DR+лимфоцитов в группах больных и у здоровых.

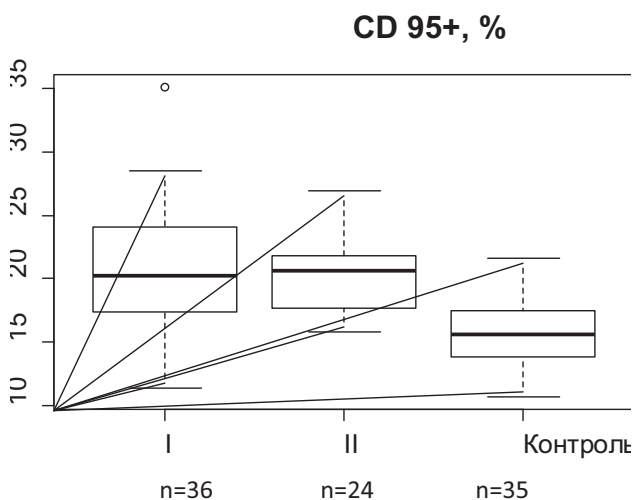


Рис. 6. Количество CD95+лимфоцитов в группах больных и у здоровых.

ВЫВОДЫ

1. У больных с серонегативными спондилоартритами базисная терапия сульфосалазином и в большей степени глюкокортикоидами демонстрирует супрессию клеточного звена иммунитета, что служит маркером эффективности лечения.
2. Лечение сульфосалазином характеризуется разнонаправленными изменениями параметров клеточного звена иммунитета: снижением количества CD4+ и CD8+лимфоцитов при одновременном повышении количества активированных CD25+ и HLA-DR+ субпопуляций лимфоцитов (маркеров ранней и поздней активации клеточного иммунитета), что свидетельствует о наличии преимущественно локальной иммуносупрессии и необходимости коррекции терапии для предупреждения эскалации активности заболевания.
3. Лечение больных глюкокортикоидами сопряжено с реверсией иммунорегуляторного индекса и снижением активированных CD25+лимфоцитов, что отражает генерализованный характер иммуносупрессии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бадюкин В.В. Эффективность и переносимость сульфосалазина при ревматических заболеваниях // Научно-практическая ревматология. – 2005. – № 4. – С. 47-52.
2. Насонов Е.Л. Клинические рекомендации. Ревматология. – М.:ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 288 с.
3. Насонова В.А. Рациональная фармакотерапия / В.А.Насонова, Е.Л.Насонов. – М.:Литтерра, 2003. – 507 с.
4. Передерий В.Г. Иммунный статус, принципы его оценки и коррекции иммунных нарушений / В.Г. Передерий, А.М. Земсков, Н.Г. Бычкова, В.М. Земсков – К.: Здоров'я, 1995. – 211с.
5. Румянцева О.А. Внутривенное применение высоких доз глюкокортикоидов у больных анкилозирующим спондилитом / О.А.Румянцева, А.Г.Бочкова, Е.Ю.Лигинова [и др.] // Терапевтический архив. – 2006. – Том. 78, № 13. – С. 71-75.
6. Garrett, S. A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index / S.Garrett, T.Jenkinson, L.G.Kennedy [et al.] // Journal of Rheumatology. - 1994. – Vol. 21. – P. 2286-2291.

7. Rodenburg R.J. The antiinflammatory drug sulfasalazine inhibits tumor necrosis factor alpha expression in macrophages by inducing apoptosis / R.J.Rodenburg, A.Gauga, P.L. van Lent [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2000. – Vol. 43. – P. 1941-1950.
8. Rudwaleit M., Defining active sacroiliitis on magnetic resonance imaging (MRI) for classification of axial spondyloarthritis: a consensual approach by the ASAS/OMERACT MRI group / M. Rudwaleit, A.G. Jurik, Hermann KG [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* -2009. - Vol. 68. – P. 1520–1527.
9. Sieper J., Ankylosing spondylitis: an overview / Sieper J., Braun J., Rudwaleit M. [et al.] *Ann. Rheum. Dis.* - 2002. – Vol. 61, Suppl III. – P. 8–18.
10. Van der Linden S. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria / S. Van der Linden, H.A. Valkenburg, A. Cats // *Arthritis Rheum.* - 1984. – Vol. 27. – P. 361-368.

РЕЗЮМЕ

Вплив патогенетичних методів лікування на показники клітинної ланки імунітету у хворих на серонегативні спондилоартрити

Кондратиук В.Є.¹, Сидорова М.В.², Бичкова Н.Г.¹

¹Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця
²ТОВ Медичний центр «Добробут-Поліклініка»

У статті наведено результати дослідження клітинного імунітету у хворих на серонегативний спон-

дилоартрит з низьким ступенем запального процесу (індекс BASDAI до 8,0). Хворі були поділені на групи в залежності від базисної терапії сульфосалазином та глюкокортикоїдами. У результаті дослідження виявлено достовірну імуносупресію, зниження кількості CD4+ та CD25+ та реверсію імунорегуляторного індексу у хворих, які знаходяться на лікуванні сульфосалазином і глюкокортикоїдами, порівняно з даними контролю.

Ключові слова: серонегативний спондилоартрит, клітинний імунітет, лікування, сульфосалазин, глюкокортикоїди.

SUMMARY

INFLUENCE OF PATHOGENETIC METHODS OF TREATMENT ON PARAMETERS OF CELLULAR IMMUNITY IN PATIENTS WITH SERONEGATIVE SPONDYLOARTHRITIS

Kondratiuk V.E.¹, Sydorova M.V.², Bychkova N.G.¹

¹A.A. Bogomolets National Medical University
²TOV Medical Center "Dobrobut-Clinic"

The paper presents the results of the study of cellular immunity in patients with seronegative spondyloarthritis with a low degree of inflammation (BASDAI index under 8.0). Patients were divided into groups according to the basic treatment: sulfosalazynum and glucocorticoids. The study revealed reliable immunosuppression, reduction of the number of CD4 + and CD25+ and reversion of the immunoregulatory index in patients who were treated with glucocorticoids and sulfosalazynum, compared to controls.

Key words: seronegative spondyloarthritis, parameters of cellular immunity, sulfosalazynum, treatment, glucocorticoids.

УДК 616.127-002+616.12-007.63]-022.7:578.825.11

МІОКАРДИТИ ТА ДИЛЯТАЦІЙНА КАРДІОМІОПАТІЯ ГЕРПЕСВІРУСНОГО ГЕНЕЗУ

КАЗМИРЧУК В.Є. 2, ЦАРИК В.В. 1, МОМОТЮК І.О.1.

¹Національний медичний університет імені О. О. Богомольця

² Інститут імунології та алергології

Герпесвірусами інфіковані понад 90 % популяції. Щонайменше, у 20 % з них зазначені інфекційні агенти стають причиною важких розладів здоров'я. Потрапивши в організм людини вперше, вірус залишається в ньому пожиттєво у латентному чи персистуючому стані, реактивує за умов зниження імунітету та при стресових ситуаціях.

Герпесвіруси — найпоширеніші інфекційні агенти, що вражають людський організм, тому з ними пов'язані найбільші економічні витрати суспільства. На розв'язання проблеми щорічно витрачаються величезні суми грошей, однак ми

ще дуже далекі від мети. Тим не менше, протягом останніх десятиліть досягнуто істотного прогресу в діагностиці та лікуванні герпесвірусних інфекцій людини, і кожен лікар, незалежно від спеціальності, повинен бути добре ознайомленим із сучасним станом справ, враховуючи актуальність, міждисциплінарність і багатопрофільність проблеми. Ситуація така, що сьогодні неможливе надання якісної медичної допомоги без знань з діагностики і терапії герпесвірусних інфекцій. Завдяки властивостям пантропізму, ці агенти здатні вражати будь-які органи і системи людського організму [1].