

УДК 6.61/616.1/9:616.7

DOI: 10.22141/2224-0721.13.3.2017.104122

Гаєвська В.Ю.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна

Особливості фагоцитарної активності моноцитів та нейтрофілів у хворих на анкілозивний спондилоартрит з ожирінням залежно від носійства HLA B27-антигена

For cite: Mezhdunarodnyi Endokrinologicheskii Zhurnal. 2017;13:215-8. doi: 10.22141/2224-0721.13.3.2017.104122

Резюме. Актуальність. Анкілозивний спондилоартрит (АС, хвороба Бехтерева) — значно поширена патологія в усьому світі. **Мета дослідження:** установити взаємозв'язок між носійством гена HLA B27 та станом імунної системи у хворих на АС. **Матеріали та методи.** Під нашим спостереженням перебувало 68 хворих на АС з ожирінням. Усім пацієнтам були проведені загальнолабораторні та спеціальні для АС обстеження, що містили загальний аналіз крові з лейкоформулою (% , г/л), визначення швидкості осідання еритроцитів, рівня С-реактивного протеїну, протеїнограми, ревматоїдного фактора, ВІЛ-носіїства, HCV-і HBV-специфічних антитіл та HLA B27-носіїства. **Результати.** У хворих на АС спостерігається більш посиленний оксидантний вибух при слабкій стимуляції. Установлені особливості вказують, що у хворих на АС досліджувані зміни функціональної активності фагоцитів є менш вираженими порівняно з полінуклеарними нейтрофілами і в основному страждає резервна слабостимульована їх окисно-відновна функція, що в них стимулюється. Вказані зміни можна охарактеризувати певними генетичними особливостями зміненої продукції окисно-відновних ферментів цими клітинами з включенням компенсаторних механізмів за рахунок спонтанного окисно-відновного вибуху. **Висновки.** У хворих на АС із носійством HLA B27-гена встановлено посилення спонтанного та фізіологічного оксидантного вибуху нейтрофілів та фізіологічного — моноцитів, що може слугувати раннім предиктором виникнення аутоімунного процесу в організмі людини.

Ключові слова: анкілозивний спондилоартрит; ожиріння; фагоцитарні показники; ген HLA B27; імунне запалення

Вступ

Анкілозивний спондилоартрит (АС, хвороба Бехтерева) — значно поширена патологія в усьому світі. Поширеність АС у різних країнах коливається в межах від 0,2 до 2 %. Зазвичай захворювання дебютує у віці 20–40 років, чоловіки хворіють у 6–9 разів частіше, ніж жінки. Значно рідше захворювання відмічається в осіб африканської та монгольської рас [1, 2]. В Україні останніми роками спостерігається зростання показників поширеності та захворюваності на АС, що становлять 1,8 до 19,8 випадку на 100 тис. населення в різних регіонах. Причини виникнення АС полягають у взаємодії зовнішніх і внутрішніх факторів [3, 4]. Розвиток захворювання у 2,5–4 % близьких родичів хворих на АС (у 20 разів перевищує популяційний рівень), наявність сімейної агрегації (на АС хворіють 2–4 члени родини)

підкреслюють роль спадкової схильності. Генетичну детермінованість АС пов'язують насамперед із носійством HLA B27: якщо в загальній популяції цей антиген виявляється в 7–10 % випадків, то серед хворих на АС — у 90–97 %, серед їх родичів — у 30–50 %. Носії HLA B27 схильні до захворюваності на АС у 100 разів більше, ніж люди без цього носійства [2, 5]. З відомих 12 субтипів HLA B27 тільки субтипи 06 та 09 не асоціюються з АС.

Метою дослідження було встановити взаємозв'язок між носійством гена HLA B27 та станом імунної системи у хворих на АС.

Матеріали та методи

Під спостереженням були 68 хворих на АС у стадії загострення, які перебували на стаціонарному та амбулаторному лікуванні в Львівській обласній

клінічній лікарні та поліклініці, Регіональному медичному центрі клінічної імунології та алергології при Львівському обласному клінічному діагностичному центрі, клінічній лікарні Львівської залізниці. Серед них були 56 чоловіків і 12 жінок віком 16–58 років із тривалістю хвороби від 6 місяців до 12 років. Для встановлення діагнозу АС були використані модифіковані нью-йоркські критерії [6, 7]. Усім хворим були проведені загальнолабораторні та спеціальні для АС обстеження, що містили загальний аналіз крові з лейкоформулою (% , г/л), визначення швидкості осідання еритроцитів, С-реактивного протеїну, протеїнограми, ревматоїдного фактора, ВІЛ-носійства, HCV- і HBV-специфічних антитіл та HLA B27-носійства. Визначали гомо- та гетерозиготність за носійством HLA B27-антигена за допомогою ПЦР-ампліфікації з детекцією методом електрофорезу в агарозному гелі [3].

Інструментальні дослідження включали X-променевиий аналіз, комп'ютерну томографію, магнітно-резонансну томографію, ультразвукове дослідження внутрішніх органів, ехокардіографію, колоноскопію — за показаннями. Оцінка рентгенологічних даних проводилась за стадіями сакроілеїту: стадія 1 — сумнівні зміни, стадія 2 — ерозії та склероз, стадія 3 — ерозії, склероз і частковий анкілоз, стадія 4 — повний анкілоз.

На основі отриманих клінічних результатів було створено цифрові бази даних, які опрацьовувались із використанням програм Microsoft Excel, що входить до пакета Microsoft Office та Statistica.

Для визначення кількості активних моноцитів і нейтрофілів, а також їх фагоцитарної активності й оксидантної здатності застосовували проточний цитофлуориметр. Даний метод полягає в поглинан-

ні фагоцитами опсонізованих бактерій *E. coli*, мічених флуоресцентними мітками, і подальшому аналізі зразків на проточному цитофлуориметрі [4].

Для опису отриманих результатів розраховувались середнє арифметичне та його середнє квадратичне відхилення. Середня арифметична кожного з аналізованих рядів розраховувалася як відношення суми значень варіантів до загального числа спостережень. Отримані результати t-критерію порівнювали з табличними значеннями. Якщо отриманий результат перевищував табличні значення, то це трактувалось як вірогідний коефіцієнт кореляції з вірогідністю безпомилкового прогнозу 95 % ($p < 0,05$), 99 % ($p < 0,01$) або 99,9 % ($p < 0,001$). При цьому якщо отриманий результат був меншим за табличні значення, то обчислений коефіцієнт вважався невірогідним ($p > 0,05$).

Результати

Серед обстежених були 54 HLA B27-позитивні хворі та 14 — HLA B27-негативних.

Для оцінки стану фагоцитарної системи, представленої полінуклеарними нейтрофілами та моноцитами, були використані імунологічні цитофлуоресцентні тести для аналізу спонтанної та стимульованої захоплюючої функції цих клітин імунної системи, а для характеристики їх ферментативної активності (окисно-відновної, протеазної), також спонтанної та стимульованої (фізіологічної, слабкої та сильної), — імунологічні цитофлуоресцентні та цитохімічні тести.

Як видно з табл. 1, у HLA B27-позитивних пацієнтів з АС спостерігаються зниження абсолютної кількості нейтрофілів — $4,90 \pm 0,21$ Г/л, стимульованого фагоцитарного показника нейтрофілів — $3,80 \pm 0,21$ Г/л ($p < 0,05$), послаблення

Таблиця 1. Особливості захоплюючої та ферментативної активності нейтрофілів у HLA B27-позитивних та HLA B27-негативних хворих на анкілозивний спондилоартрит

Показники	Групи обстежених		HLA B27-позитивні	HLA B27-негативні	P
	%	Г/л			
Нейтрофіли	%		$54,80 \pm 0,25$	$58,70 \pm 0,21$	—
	Г/л		$4,90 \pm 0,21$	$5,80 \pm 0,25$	$< 0,05$
НФП сп.	%		$4,60 \pm 0,23$	$4,06 \pm 0,23$	—
	Г/л		$0,30 \pm 0,01$	$0,30 \pm 0,02$	—
НФП ст.	%		$75,10 \pm 3,52$	$77,80 \pm 3,21$	—
	Г/л		$3,80 \pm 0,21$	$4,80 \pm 0,23$	$< 0,05$
ОВН сп.	%		$4,70 \pm 0,22$	$6,90 \pm 0,32$	$< 0,05$
	Г/л		$0,20 \pm 0,01$	$0,40 \pm 0,02$	—
ОВН Е.с.	%		$66,30 \pm 0,33$	$92,30 \pm 4,56$	—
	Г/л		$3,30 \pm 0,11$	$5,20 \pm 0,23$	$< 0,05$
ОВН fMLP	%		$7,50 \pm 0,32$	$15,60 \pm 0,85$	—
	Г/л		$0,50 \pm 0,02$	$1,00 \pm 0,05$	$< 0,05$
ОВН РМА	%		$90,10 \pm 4,51$	$93,80 \pm 4,23$	—
	Г/л		$4,60 \pm 0,23$	$5,40 \pm 0,25$	—
НМП	%		$40,10 \pm 2,11$	$61,60 \pm 3,21$	—
	Г/л		$2,00 \pm 0,01$	$3,50 \pm 0,15$	$< 0,01$
НД-тест	%		$4,80 \pm 0,23$	$13,20 \pm 0,82$	—
	Г/л		$0,30 \pm 0,02$	$0,70 \pm 0,03$	$< 0,01$

спонтанної — $4,70 \pm 0,22$ Г/л ($p < 0,01$) та фізіологічної — $3,30 \pm 0,11$ Г/л ($p < 0,05$) клінінгової активності, а також слабостимульованого оксидантного вибуху нейтрофілів (ОВН) — $0,50 \pm 0,02$ Г/л ($p < 0,05$). Мієлопероксидазна активність нейтрофілів теж була знижена у HLA B27-позитивних хворих — $2,00 \pm 0,01$ Г/л порівняно з HLA B27-негативними хворими — $3,50 \pm 0,15$ Г/л ($p < 0,01$). Активність дефенсинів у нейтрофілах, що визначають протезні функції, теж була знижена у HLA B27-позитивних хворих на АС — $0,30 \pm 0,02$ Г/л ($p < 0,01$).

Таким чином, у хворих на АС відмічалася активація стимульованого НФП із посиленням оксидантного вибуху за умов фізіологічної слабкої та сильної стимуляції, крім того — активація мієлопероксидазного та дефенсинового тестів. Такі зміни першої ланки імунної відповіді можуть свідчити про посилення імунозапального та автоагресивного фону з послабленням спонтанних механізмів захвату та окисно-відновної активності в цих хворих. Важливо зазначити, що стимульована фагоцитарна активність нейтрофілів знижувалась у пацієнтів після п'яти і більше років тривалості хвороби, як і окисно-відновні та протезні процеси в цих клітинах, у той же час у період розвитку хвороби від одного до п'яти років полінуклеарні фагоцити вели себе найбільш активно, ймовірно формували автоімунні наслідки імунного запалення у хворих на АС.

Аналіз генетичної схильності, оснований на носійстві HLA B27-антигена в досліджуваних хворих на АС, показав, що група HLA B27-позитивних хворих має більш виражене зниження потенціалу фагоцитозу спонтанного та фізіологічного клінінгового ефекту, мієлопероксидазної та дефенсинової активності в нейтрофілах. Ці особливості можуть знову ж визначати сприятливі умови для викиду імуноактивних ферментів із нейтрофілів, особливо протеаз, що можуть виступати як потенційні автоантигени, поглиблюючи імунне запалення в ушкоджених суглобах таза, хребта та кінцівок.

Як видно з табл. 2, у HLA B27-позитивних хворих на серонегативний спондилоартрит (СС) спостерігаються нижчі показники відносного ($14,40 \pm 0,85$ %) та абсолютного ($0,50 \pm 0,03$ Г/л) фагоцитарного показника порівняно з HLA B27-негативними хворими — $25,50 \pm 1,24$ % ($p < 0,01$) і $0,080 \pm 0,004$ Г/л ($p < 0,05$) відповідно. Крім того, у HLA B27-позитивних хворих на СС установлені вищі відносні ($10,90 \pm 0,54$ %, $p < 0,05$) та абсолютні ($0,040 \pm 0,002$ Г/л, $p < 0,05$) показники спонтанного ОВМ-тесту. У той же час при стимуляції Е.с. моноцитів установлено зниження окисно-відновних властивостей цих клітин у HLA B27-позитивних хворих на серонегативний спондилоартрит (СС) у відносних числах — $37,90 \pm 1,21$ % порівняно з HLA B27-негативними хворими на СС — $67,10 \pm 3,25$ % ($p < 0,01$), а також відповідно в абсолютних числах — $0,20 \pm 0,01$ Г/л і $0,40 \pm 0,02$ Г/л ($p < 0,05$). Характерним для HLA B27-позитивних пацієнтів виявилось зниження ОВМ позитивних клітин при сильній їх стимуляції як у відносних числах — $43,40 \pm 2,12$ % ($p < 0,01$), так і в абсолютних — $0,20 \pm 0,01$ Г/л ($p < 0,05$).

Обговорення

Нами встановлено, що хворі на АС мають більш посилений оксидантний вибух при слабкій стимуляції, який активізувався у хворих із тривалістю хвороби до року, а також від одного до п'яти років, після чого, відповідно, знижувався. Так само відбувався спонтанний оксидантний вибух моноцитів у зв'язку з тривалістю хвороби, зокрема, він знижувався вже у хворих, які мали тривалість хвороби від одного до п'яти років.

Установлені особливості вказують, що у хворих на СС досліджувані СС-зміни функціональної активності фагоцитів є менш вираженими порівняно з полінуклеарними нейтрофілами і в основному страждає резервна слабостимульована їх окисно-відновна функція, що в них стимулюється, а з тривалістю хвороби знижується, зокрема, в групі хворих,

Таблиця 2. Особливості захоплюючої та ферментативної активності моноцитів у HLA B27-позитивних та HLA B27-негативних хворих на анкілозивний спондилоартрит

Показники	Групи обстежених		HLA B27-позитивні	HLA B27-негативні	P
Моноцити	%		$6,90 \pm 0,32$	$7,60 \pm 0,32$	—
	Г/л		$0,40 \pm 0,02$	$0,50 \pm 0,03$	—
МФП сп.	%		$14,40 \pm 0,85$	$25,50 \pm 1,24$	$< 0,05$
	Г/л		$0,050 \pm 0,003$	$0,080 \pm 0,004$	$< 0,01$
МФП ст.	%		$49,10 \pm 2,12$	$69,30 \pm 3,21$	—
	Г/л		$0,20 \pm 0,01$	$0,30 \pm 0,01$	—
ОВМ сп.	%		$10,90 \pm 0,54$	$5,60 \pm 0,24$	$< 0,05$
	Г/л		$0,040 \pm 0,002$	$0,020 \pm 0,001$	$< 0,05$
ОВМ Е.с.	%		$37,90 \pm 1,21$	$67,10 \pm 3,25$	$< 0,01$
	Г/л		$0,20 \pm 0,01$	$0,40 \pm 0,02$	$< 0,05$
ОВМ fMLP	%		$13,70 \pm 0,78$	$12,50 \pm 0,79$	—
	Г/л		$0,060 \pm 0,003$	$0,060 \pm 0,003$	—
ОВМ PMA	%		$43,40 \pm 2,12$	$81,80 \pm 4,23$	$< 0,01$
	Г/л		$0,20 \pm 0,01$	$0,40 \pm 0,02$	$< 0,05$

які мали тривалість хвороби п'ять і більше років. Такі закономірності свідчать, що фагоцитарна ланка імунної відповіді у хворих на АС є більш взаєморегульованою. Цікавим виявились зміни моноцитарної ланки фагоцитозу в HLA B27-позитивних хворих на АС. У них встановлено послаблення спонтанного фагоцитозу, фізіологічного та сильностимульованого клінінгу, у той час спонтанний клінінг моноцитів був активований.

Вказані зміни можна охарактеризувати певними генетичними особливостями зміненої продукції окисно-відновних ферментів цими клітинами з включенням компенсаторних механізмів за рахунок спонтанного окисно-відновного вибуху.

Висновки

У хворих на АС із носійством HLA B27-гена встановлено посилення спонтанного та фізіологічного окисидантного вибуху нейтрофілів та фізіологічного — моноцитів, що може слугувати раннім предиктором виникнення аутоімунного процесу в організмі людини.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів при підготовці даної статті.

Отримано 09.05.2017 ■

Гавская В.Ю.

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, г. Львов, Украина

Особенности фагоцитарной активности моноцитов и нейтрофилов у больных анкилозирующим спондилоартритом с ожирением в зависимости от носительства HLA B27-антигена

Резюме. *Актуальность.* Анкилозирующий спондилоартрит (АС, болезнь Бехтерева) — широко распространенная патология во всем мире. *Цель исследования:* установить взаимосвязь между носительством гена HLA B27 и состоянием иммунной системы у больных АС. *Материалы и методы.* Под нашим наблюдением находились 68 больных АС с ожирением. Всем пациентам были проведены общелaborаторные и специальные для АС обследования, содержащие общий анализ крови с лейкоформулой (% , г/л), определение скорости оседания эритроцитов, уровня С-реактивного протеина, протеинограммы, ревматоидного фактора, ВИЧ-носительства, HCV- и HBV-специфических антител и HLA B27-носительства. *Результаты.* У больных АС наблюдается более усиленный оксидантный взрыв при слабой стимуляции. Установленные особенности указывают на то, что у больных АС исследуемые изменения функциональной активности фагоцитов менее

References

1. Belenkiy AG. Entezopathy in seronegative spondyloarthritis. *Consilium Medicum*. 2010;10. (In Russian).
2. Bekhterev VM. Numbness of back bone with curvature of himas is the special form of disease. *Vrach*. 1892;36:899-903. (In Russian).
3. Khaitov RM, Ilyuna NI. *Allergology and Immunology. National Guidelines*. Moscow: GEOTAR-Media; 2009. 656 p. (In Russian).
4. Dagfinrud H, et al. Physiotherapy interventions for ankylosing spondylitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008 Jan 23;1:CD002822. doi: 10.1002/14651858.CD002822.pub3.
5. Svintsitskiy AS, Yaremenko OB, Puzanova OG, Khomchenkova NI. *Rheumatological disease and syndromes*. Kyiv: Knyga plus; 2006. pp. 285-94 (In Ukrainian).
6. Braun J, Davis J, Dougados M, et al. First update of the international ASAS consensus statement for the use of anti-TNF agents in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. 2014;65:316-20. doi: 10.1136/ard.2005.040758.
7. Zochling J, Braun J, van der Heijde D. Assessments in ankylosing spondylitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2011;20(3):521-37. doi: 10.1016/j.berh.2006.03.011.

выражены по сравнению с полинуклеарными нейтрофилами и в основном страдает резервная слабостимулированная их окислительно-восстановительная функция, которая у них стимулируется. Указанные изменения можно охарактеризовать определенными генетическими особенностями измененной продукции окислительно-восстановительных ферментов этими клетками с включением компенсаторных механизмов за счет спонтанного окислительно-восстановительного взрыва. *Выводы.* У больных АС с носительством HLA B27-гена установлено усиление спонтанного и физиологического оксидантного взрыва нейтрофилов и физиологического — моноцитов, что может служить ранним предиктором возникновения аутоиммунного процесса в организме человека.

Ключевые слова: анкилозирующий спондилоартрит; ожирение; фагоцитарные показатели; ген HLA B27; иммунное воспаление

V.Yu. Hayevska

Danylo Halytskyi Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Features of phagocytic activity of monocytes and neutrophils in patients with obesity and ankylosing spondylitis depending on HLA B27 gene carrier

Abstract. *Background.* Ankylosing spondylitis (AS) is a widespread pathology all over the world. The AS prevalence in different countries ranges from 0.2 to 2 %. Usually the disease debuts at the age of 20–40 years, men suffer from this pathology 6–9 times more often than women. *Materials and methods.* We observed 68 patients with acute stage. The general laboratory and AS-specific testing were done for all patients, namely clinical blood analysis with leucogram (% , g/l), ESR, C-reactive

protein, proteingram, for HIV carrier, for HCV and HBV specific antibodies and HLA B27 carrier. *Results.* AS patients with HLAB27 antigene had enhanced spontaneous and physiologic output of neutrophils and physiologic output of monocytes. *Conclusions.* Oxidative output can serve as an early predictor of autoimmune process in human.

Keywords: ankylosing spondylitis; obesity; phagocytic indexes; antigene HLA B27; immune inflammation