

# ХАРАКТЕРИСТИКА ІМУНОЛОГІЧНИХ ЗМІН У ХВОРИХ НА ОБМЕЖЕНУ СКЛЕРОДЕРМІЮ ЗАЛЕЖНО ВІД СТАДІЇ ЗАХВОРЮВАННЯ

**В.В. Савенкова**

ДУ «Інститут дерматології та венерології АМН України»

**Резюме.** На підставі проведених досліджень дана оцінка клітинного, гуморального імунітету у крові та імуноморфологічних змін у шкірі хворих на обмежену склеродермію залежно від стадії захворювання. Уточнені деякі ланки патогенезу захворювання. Встановлено діагностичні маркери, що характеризують гостроту процесу і дозволяють призначити адекватну терапію.

**Ключові слова:** обмежена склеродермія, клітинний імунітет, гуморальний імунітет, імуноморфологічні порушення, патогенез.

## ВСТУП

ОСД – захворювання, що розвивається на основі генетично зумовленої недосконалості імунорегуляторних процесів, наслідком чого є утворення антитіл до власних клітин та їх компонентів, виникнення імунокомплексного запалення, що призводить до пошкодження тканин [8, 9].

Актуальними залишаються питання про уточнення ланок патогенезу ОСД, визначення діагностичних маркерів тяжкості процесу та обґрунтування нових методів лікування на підставі визначених порушень [2, 10]. Однією з основних ланок патогенезу склеродермії є імунні порушення [11, 13]. Однак дані щодо цього питання суперечливі та потребують удосконалення. Важливим є оцінка даних імунних порушень у крові, що призводять до морфологічних змін в осередках ураження з урахуванням перебігу дерматозу.

Тому метою нашої роботи було вивчення особливостей імунного стану хворих на ОСД з урахуванням стадії захворювання.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Нами досліджувалося 155 хворих на ОСД, з них 98 хворих (61,1 %) мали бляшкову форму, 37 (28,1 %) – лінійну, атрофодермію Пазіні-П'єрріні – 12 осіб (6,5 %), склероатрофічний ліхен – 8 (4,3 %). Зі 135 хворих на ОСД (87,1 %) при бляшковій та лінійній формах у 58 хворих була діагностована стадія еритеми та набряку. I ступінь

тяжкості, що характеризувався легким перебігом, спостерігався у 6 осіб, II ступінь, що характеризувався середнім за тяжкістю перебігом, – 26, III ступінь, що характеризувався тяжким перебігом, – 26. У 47 хворих діагностовано стадію склерозу (I ступінь тяжкості – 4, II ступінь – 22, III ступінь – 21), у 30 – стадію атрофії (I ступінь тяжкості – 6 осіб, II ступінь – 17, III ступінь – 7). Серед хворих на атрофодермію Пазіні-П'єрріні 8 хворих були у гострій стадії (I ступінь тяжкості – 3, II ступінь – 6), а 4 – у стадії атрофії (усі I ступеня тяжкості). У хворих на склероатрофічний ліхен 5 хворих були у стадії загострення II ступеня тяжкості, 3 – у стадії атрофії і теж II ступеня тяжкості. Таким чином, нами досліджувалися хворі на ОСД, що мали стадію еритеми та набряку – 71 (45,8 %), стадію склерозу – 47 (30,3 %), атрофії – 37 (23,9 %). Чоловіків було 41 (26,5 %), а жінок – 114 (73,5 %). Середній вік становив  $42,9 \pm 1,7$  року.

Діагноз ОСД верифікували і встановлювали згідно з клінічними та лабораторними даними [4]. Для виключення хворих із системним захворюванням сполучної тканини використовували рекомендації Європейської протиревматичної ліги щодо діагнозу та ведення цих пацієнтів [5].

Групою контролю були 30 умовно-здорових добровольців, що постійно проживають у центральних районах м. Харкова і Харківської області (23 жінки і 12 чоловіків, середній вік  $39 \pm 5,3$  року).

Моніторинг стану системи клітинного імунітету проводився методом імунофенотипування з використанням специфічних моноклональних антитіл до поверхневих молекул CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, CD54, CD95 фірми ТОВ «Науково-виробничий центр «Медбіоспектр» (Москва) [7].

Визначення антитіл до ДНК (нативної – нДНК, денатурованої – дДНК, формалінізованої – фДНК) проводилася імуноферментним методом на наборах «Антитіла до ДНК – ІФА» виробництва ТОВ НВЛ «Гранум» (Україна).

Вміст імуноглобулінів А, М, G у сироватці крові визначали імуноферментним методом на наборах «Імуноглобуліни А, М, G – ІФА» виробництва ТОВ НВЛ «Гранум» (Україна).

Визначення концентрації циркулюючих імунних комплексів проводили за методом Ю.А. Гриневича та А.Н. Алфєрова (1981) [1].

Визначали вміст ІЛ-1 $\beta$ , -4, -6, інтерферон- $\gamma$ , ФНП- $\alpha$  в динаміці спостереження за хворими методом імуноферментного аналізу (твердофазний «сендвіч» варіант) з використанням тест-систем виробництва ЗАТ «Вектор-Бест» (Росія).

Імуноморфологічне дослідження проведено у 147 хворих на ОСД, з них у 59 хворих (40,1 %) при бляшковій та лінійній формах була діагностована стадія еритеми та набряку (I ступінь тяжкості – 6 осіб, II ступінь – 20, III ступінь – 33), у 58 хворих (39,5 %) – стадія склерозу (I ступінь тяжкості – 4 осіб, II ступінь – 30, III ступінь – 24), у 30 хворих (20,4 %) – стадія атрофії (I ступінь тяжкості – 6 осіб, II ступінь – 17, III ступінь – 7). Вік коливався від 19 до 74 років (середній вік становив  $40,3 \pm 1,5$  року), серед яких було 40 чоловіків (27,2 %) і 107 жінок (72,8 %), з давниною захворювання від 1 місяця до 30 років. Імуноморфологічні особливості нормальної шкіри були вивчені у 20 здорових осіб – волонтерів (група контролю). Біопсії шкіри в осередку ураження бралися тільки з інформованої згоди пацієнтів і добровольців в аналогічних місцях.

Імунокомпетентні клітини верифікували за допомогою моноклональних антитіл (МКА) фірми «Chemicon» (США) до зрілих Т-лімфоцитів (CD3), Т-хелперів (CD4), Т-супресорів (CD8), В-лімфоцитів (CD22), макрофагів (CD16), ІЛ-1 і ІЛ-2. Клітини, що експресують рецептори до HLA-Dr-антигену, визначали за допомогою МКА до HLA-Dr-антигену тієї ж фірми. Відносні

обсяги імунокомпетентних клітин визначали в одному полі зору мікроскопа в перерахуванні на 100 клітин.

У роботі обчислювали значення середньої арифметичної (M), середнього квадратичного відхилення (G), похибки визначення середньої арифметичної (m). За допомогою t-критерію Ст'юдента-Фішера визначали достовірність розходжень (p) порівнюваних групових середніх величин тривалості клінічної ремісії [6].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Імунологічний моніторинг крові обстежуваних хворих на ОСД показав пригнічення Т-системи імунітету – статистично достовірне зниження у сироватці крові відсотку загальних Т-лімфоцитів – CD3, причому при стадії еритеми та набряку і атрофічній воно складало 12 %, а при склеротичній – 8 %, порівняно з показником контролю. Спостерігалось також достовірне зниження кількості Т-хелперів – CD4: при стадії еритеми та набряку – у 1,2 разу, при склеротичній та атрофічній – у 1,1 разу. Вміст цитотоксичних CD8-лімфоцитів достовірно зменшувався при стадіях еритеми та набряку і склеротичній у середньому на 21 %. У результаті більш значного пригнічення CD8 співвідношення CD4/CD8 стало більшим (відповідно на 24 %, 25 % та 11 % при стадії еритеми та набряку, склерозу та атрофії), ніж у групі умовно-здорових пацієнтів. Вміст CD8-лімфоцитів при атрофічній стадії підвищився до рівня контролю. Збільшення імунорегуляторного індексу свідчило про активізацію імунної системи (табл. 1).

Найбільш важливим при ОСД виявилось значне зниження у сироватці крові хворих відносного вмісту молекул міжклітинної адгезії, які є поверхневими антигенами активованих В-лімфоцитів – CD54, а саме на 42 % – при стадії еритеми та набряку, на 48 % – при склеротичній, на 34 % – при атрофічній стадії захворювання порівняно з контрольною групою. Вміст молекул адгезії ендотеліоцитів CD54 при атрофічній стадії хвороби залишався достовірно підвищеним порівняно з показником при склеротичній стадії на 27 %. Особливо статистично значущі різниці у кількості лімфоцитів різних фенотипів були виявлені для CD16, CD25 та CD95, вміст яких був підвищеним порівняно з умовно-здоровими пацієнтами.

Таблиця 1

Вміст диференційованих молекул лімфоцитів у крові хворих на ОСД залежно від стадії захворювання ( $M \pm m$ )

Показники	Контроль, n = 30	Стадія захворювання		
		еритеми та набряку, n = 71	склеротична, n = 47	атрофічна, n = 37
CD3, %	70,5±1,5 2,3,4	62,0±1,5 1	64,8±3,2 1	61,8±1,9 1
CD4, %	45,6±1,2 2,3,4	38,3±1,2 1,4	41,9±1,1 1	42,1±1,8 1,2
CD8, %	20,7±0,6 2,3	15,8±1,6 1,4	17,2±1,7 1	19,4±1,7 2
CD4/CD8	1,95 ± 0,06 2,3,4	2,42±0,27 1	2,44±0,22 1	2,17±0,15 1
CD16, %	13,7±0,9 2,3,4	18,6±2,0 1	19,6±3,0 1	20,1±1,2 1
CD20, %	11,0 ± 0,4 2,3,4	14,8±0,5 1	14,3±2,5 1	14,4±1,0 1
CD25, %	6,4±0,5 2,3,4	17,8±3,0 1	19,1±0,5 1,4	16,7±1,0 1,3
CD95, %	15,8±0,5 2,3,4	23,3±1,3 1	25,1±1,0 1,4	21,8±1,5 1,3
CD54, %	24,0±1,1 2,3,4	13,9±1,1 1	12,4±1,0 1,4	15,8±1,9 1,3
Лейкоцити, $\times 10^9/\text{л}$	5,93±0,39 3,4	5,37±0,38 4	4,71±0,33 1	4,61±0,32 1,2
Лімфоцити, $\times 10^9/\text{л}$	1,82±0,15	1,72±0,16	1,66±0,17	1,63±0,12

**Примітка:** <sup>1</sup> – відмінності порівняно з показником контролю достовірні ( $p < 0,05$ ), <sup>2</sup> – відмінності порівняно з показником стадії еритеми та набряку достовірні ( $p < 0,05$ ), <sup>3</sup> – відмінності порівняно з показником склеротичної стадії достовірні ( $p < 0,05$ ), <sup>4</sup> – відмінності порівняно з показником атрофічної стадії достовірні ( $p < 0,05$ ).

Важливу інформацію про функціональну активність імункомпетентних клітин відображають дані експресії ними активаційних маркерів, які дозволяють судити про етап і характер імунологічного процесу. Аналіз експресії активних маркерів на поверхні лімфоцитів периферійної крові показав, що у хворих на ОСД достовірно підвищували прояви апоптозу, про що свідчило збільшення клітин, що мають рецептори апоптозу – CD95, особливо вираженим це було для склеротичній стадії – на 59% порівняно з контролем. При стадіях еритеми та набряку і атрофічній підвищення відносного вмісту CD95 складало відповідно 47% та 38%. У той же час підвищення експресії рецепторів до CD95 свідчило про значне руйнування лімфоцитів, що призводило до імунodefіциту, зниження кількості лімфоцитів, пригнічення Т-супресорів та підвищення ЦІК у крові.

В обстежуваних хворих дуже вагомо підвищувався вміст маркерів ранньої стадії активації клітин, активаторів ІЛ-2 CD25 у 2,7 і 2,6 рази при стадіях еритеми та набряку і атрофічній відповідно і у 3 рази при склеротичній стадії, порівняно з контролем. Як відомо, ІЛ-2 є прозапальним цито-

кіном, що і призводить до запалення, появи вираженого васкуліту. Його рівень залишався високим протягом усіх стадій процесу, що призводило до хронізації процесу, активації та появи значного пулу проліферуючих лімфоцитів при ОСД. Вміст НК – CD16 збільшувався в середньому на 42%, особливо вираженою була зміна вмісту при склеротичній та атрофічній стадіях. Достовірно підвищення відсоткового вмісту маркеру активації В-клітинного ланцюга імунної системи CD20 складало 35%, 30%, 31% відповідно при стадіях еритеми та набряку, склеротичній та атрофічній порівняно з контролем.

Динаміка змін фенотипу лімфоцитів відбувалася при склеротичній та атрофічній стадіях ОСД на фоні зниження загальної кількості лейкоцитів і лімфоцитів. Зниження кількості Т-лімфоцитів із дисбалансом субпопуляцій лімфоцитів на фоні розвитку процесів активації та підвищеної їх схильності до апоптозу, напевно, призводить до втрати контролю Т-лімфоцитів по відношенню до В-клітин з наступною активацією останніх.

Отримані нами результати свідчать про достовірне підвищення у крові вмісту ІgM та ІgG

Таблиця 2

Вміст показників гуморального імунітету у сироватці крові хворих на ОСД залежно від стадії захворювання ( $M \pm m$ )

Показники	Контроль, n = 30	Стадія захворювання		
		еритеми та набряку, n = 71	склеротична, n = 47	атрофічна, n = 37
Ig A, г/л	1,68±0,07	1,85±0,15	1,72±0,11	1,68±0,12
Ig M, г/л	0,95±0,05 2,3,4	1,06±0,02 1,4	1,07±0,06 1	1,13±0,04 1,2
Ig G, г/л	9,89±0,41 2,3,4	13,44±1,85 1	13,04±1,99 1	13,9±1,63 1
ЦК, у.о.	85,7±4,6 2,3,4	110,1±10,9 1	102,4±9,5 1	101,6±10,7 1
Ат до нДНК, індекс реакції	1,44±0,06 2	1,65±0,13 1	1,67±0,28	1,63±0,29
Ат до дДНК, індекс реакції	1,56 ± 0,08 2,4	1,96±0,15 1	1,97±0,35	2,01±0,37 1
Ат до фДНК, індекс реакції	1,80 ± 0,06 3	1,98±0,22 3	2,52±0,31 1,2,4	1,85±0,33 3

**Примітка:** <sup>1</sup> – відмінності порівняно з показником контролю достовірні ( $p < 0,05$ ), <sup>2</sup> – відмінності порівняно з показником стадії еритеми та набряку достовірні ( $p < 0,05$ ), <sup>3</sup> – відмінності порівняно з показником склеротичної стадії достовірні ( $p < 0,05$ ), <sup>4</sup> – відмінності порівняно з показником атрофічної стадії достовірні ( $p < 0,05$ ).

в обстежуваних хворих на ОСД порівняно з контролем на фоні практично незміненого вмісту IgA. Особливо це було виразним для IgG, вміст якого збільшився на 36%, 32% і 40,5% відповідно при стадіях еритеми та набряку, склеротичній та атрофічній. Крім того, виявлено достовірне збільшення практично на одному рівні для всіх досліджуваних стадій ОСД індексу реакції антитіл до нДНК (у середньому на 15%) та дДНК (на 27%) порівняно з контролем. При цьому індекс реакції антитіл до фДНК збільшувався лише при склеротичній стадії на 40% порівняно з контролем, на 27% порівняно зі стадією еритеми та набряку та на 36% порівняно з атрофічною. У хворих на ОСД у сироватці крові виявлено достовірне підвищення рівня ЦК на 19% при склеротичній та атрофічній стадіях хвороби, на 28,5% при стадії еритеми та набряку порівняно з контролем (табл. 2).

Продукція антитіл, у тому числі й автоантитіл, контролюється та керується відповідними цитокинами. У сироватці крові хворих на ОСД при стадії еритеми та набряку виявлено суттєве підвищення вмісту ІЛ-1 $\beta$  в середньому в 5,3 рази, ІЛ-4 – у 1,9 разу та ІЛ-6 у 8,8 разу порівняно з контролем. При склеротичній стадії ці показники підвищилися відповідно у 4,4; 1,8 та 7 разів; при атрофічній стадії – у 5,6; 1,8 та 2,9 разу (табл. 3). ІЛ-1 $\beta$ , що є прозапальним цитокином, має чисельні загальні ефекти і може сприяти розвитку системного характеру патологічного процесу шляхом

формування автоантитіл і підвищення концентрації у крові СРБ. Треба відзначити, що ІЛ-4 та ІЛ-6 є одними з цитокинів, що найчастіше визначаються у сироватці крові хворих на склеродермію. Крім В-лімфоцитів, джерелами ІЛ-6 при склеродермії є моноцити, макрофаги і фібробласти [12].

Таблиця 3

Вміст цитокинів у сироватці крові хворих на ОСД залежно від стадії захворювання ( $M \pm m$ ), пг/мл

Показники	Конт- роль, n = 30	Стадія захворювання		
		еритеми та набряку, n = 71	склеро- тична, n = 47	атро- фічна, n = 37
ІЛ-1 $\beta$	6,36±1,18 2,3,4	33,79±3,77 1	28,04±3,49 1,4	35,62±3,42 1,3
ІЛ-4	6,65±1,22 2,3,4	12,7±1,12 1	12,17±1,37 1	11,97±1,7 1
ІЛ-6	6,68±1,55 2,3,4	58,57±6,46 1,3,4	46,72±4,52 1,2,4	19,71±2,04 1,2,3
ФНП- $\alpha$	3,55±0,44 2,3,4	12,86±1,4 1	11,18±1,34 1	10,17±1,76 1
ІНФ- $\gamma$	296,5±25,1 2,3,4	81,9±8,0 1,3,4	63,4±7,4 1,2,4	143,4±10,0 1,2,3

**Примітка:** <sup>1</sup> – відмінності порівняно з показником контролю достовірні ( $p < 0,05$ ), <sup>2</sup> – відмінності порівняно з показником стадії еритеми та набряку достовірні ( $p < 0,05$ ), <sup>3</sup> – відмінності порівняно з показником склеротичної стадії достовірні ( $p < 0,05$ ), <sup>4</sup> – відмінності порівняно з показником атрофічної стадії достовірні ( $p < 0,05$ ).



Цитокіни відіграють важливу роль у регуляції всіх аспектів функціонування імунної системи, включаючи диференціювання лімфоїдних клітин, запалення, розвиток адаптивної імунної відповіді та ін. Одним з важливіших регуляторів реакцій як неспецифічної, так й адаптивної імунної відповіді є ФНП- $\alpha$  та ІНФ- $\gamma$ . ФНП продукується як клітинами імунної системи (В- і Т-лімфоцитами, базофілами, еозинофілами, дендритними клітинами, НК-клітинами, нейтрофілами), так й іншими типами клітин (астроцитами, фібробластами, гліальними клітинами, кератиноцитами), однак основними продуцентами є моноцити та тканинні макрофаги. ІНФ- $\gamma$  синтезується активованими антигенспецифічними Т-лімфоцитами (CD4+ Th1 типу) [3].

У сироватці крові хворих на ОСД спостерігали збільшення вмісту ФНП- $\alpha$  порівняно з нормою, причому найбільш вираженим воно було при стадії еритеми та набряку захворювання у 3,6 разу, дещо нижчим його вміст був при склеротичній і атрофічній стадіях – у 3,1 і 2,9 разу відповідно порівняно з контролем. Для вмісту ІНФ- $\gamma$  простежувалася інша динаміка, а саме достовірне зниження у 3,6 разу при стадії еритеми та набряку, у 4,7 разу при склеротичній стадії та у 2 рази при атрофічній, порівняно з показниками групи умовно-здорових пацієнтів (табл. 3). Можливо, зменшення синтезу ІНФ- $\gamma$  пов'язано з низьким вмістом у хворих на ОСД їх основних продуцентів CD4-лімфоцитів.

Таким чином, отримані нами результати свідчать, що провідною ланкою патогенезу ОСД є суттєва зміна показників гуморального та клітинного імунітету. При досліджуваних стадіях

ОСД на фоні підвищеної схильності лімфоцитів крові до апоптозу спостерігається втрата контролю Т-лімфоцитів по відношенню до В-клітин з їх наступною активацією та суттєвою зміною кількісного та якісного складу субпопуляцій лімфоцитів. Зазначені зміни супроводжуються імунними порушеннями і в шкірі.

При імуногістохімічному дослідженні шкіри в еритематозній стадії як прояви гострого васкуліту були виявлені об'ємні внутрішньодермальні інфільтрати, у складі яких переважали зрілі Т-лімфоцити (CD3), особливо Т-хелпери (CD4), які у 6 разів і Т-супресори (CD8), які у 3 рази перевищували показники норми (табл. 4). Звертало на себе увагу збільшення у 9 разів кількості клітин-продуцентів ІЛ-1, у 4 рази кількості клітин-продуцентів ІЛ-2 порівняно з нормою. Це узгоджувалося зі значним збільшенням кількості CD4 лімфоцитів та у 1,4 разу CD16 і свідчило про активацію функції системи мононуклеарних фагоцитів у відповідь на деструкцію всіх елементів дерми.

Кількість клітин, що містять рецептори до основного лейкоцитарного антигену гістосумісності людини, була збільшена в 4 рази порівняно з нормою, тоді як вміст В-лімфоцитів у шкірі хворих на ОСД був вірогідно знижений.

У склеротичній стадії захворювання загальна кількість зрілих Т-лімфоцитів і Т-супресорів, як і В-лімфоцитів залишалася на рівнях, виявлених в еритематозній стадії, у той час як кількість макрофагів і Т-хелперів мала тенденцію до зниження. Така динаміка свідчила про зменшення антигенної стимуляції в організмі, що сполучалося із загасанням альтеративно-ексудативних процесів,

Таблиця 4

Відносна кількість основних типів імунних клітин у лімфоїдних інфільтратах шкіри хворих на ОСД залежно від стадії захворювання у полі зору  $\times 400$  (у перерахуванні на 100 клітин)

Стадія захворювання	CD3, %	CD22, %	CD16, %	CD8, %	CD4, %	CD4/CD8	HLA-Dr-антиген, %	Клітини-продуценти	
								ІЛ-1, %	ІЛ-2, %
Еритеми та набряку, n = 59	70,0 $\pm$ 4,5 <sub>4</sub>	22,0 $\pm$ 2,0 <sub>4</sub>	14,2 $\pm$ 1,7 <sub>2,3,4</sub>	9,0 $\pm$ 2,2 <sub>4</sub>	36,0 $\pm$ 4,0 <sub>3,4</sub>	4,0 $\pm$ 0,3 <sub>2,3,4</sub>	2,1 $\pm$ 0,6 <sub>4</sub>	0,9 $\pm$ 0,05 <sub>2,3,4</sub>	0,8 $\pm$ 0,07 <sub>3,4</sub>
Склеротична, n = 58	69,0 $\pm$ 5,2 <sub>4</sub>	21,0 $\pm$ 2,5 <sub>4</sub>	10,9 $\pm$ 0,7 <sub>1,3</sub>	10,0 $\pm$ 1,0 <sub>4</sub>	31,0 $\pm$ 2,0 <sub>4</sub>	3,1 $\pm$ 0,3 <sub>1,4</sub>	2,2 $\pm$ 0,1 <sub>4</sub>	0,7 $\pm$ 0,03 <sub>1,3,4</sub>	0,9 $\pm$ 0,05 <sub>3,4</sub>
Атрофічна, n = 30	64,0 $\pm$ 2,8 <sub>4</sub>	20,0 $\pm$ 1,7 <sub>4</sub>	9,3 $\pm$ 0,5 <sub>1,2</sub>	9,0 $\pm$ 1,0 <sub>4</sub>	28,0 $\pm$ 1,0 <sub>1,4</sub>	2,8 $\pm$ 0,2 <sub>1,4</sub>	2,0 $\pm$ 0,2 <sub>4</sub>	0,5 $\pm$ 0,06 <sub>1,2,4</sub>	0,6 $\pm$ 0,05 <sub>1,2,4</sub>
Контроль, n = 20	57,0 $\pm$ 2,1 <sub>1,2,3</sub>	33,2 $\pm$ 0,5 <sub>1,2,3</sub>	10,1 $\pm$ 0,5 <sub>1</sub>	2,8 $\pm$ 0,06 <sub>1,2,3</sub>	5,9 $\pm$ 0,3 <sub>1,2,3</sub>	2,0 $\pm$ 0,2 <sub>1,2,3</sub>	0,5 $\pm$ 0,03 <sub>1,2,3</sub>	0,1 $\pm$ 0,01 <sub>1,2,3</sub>	0,2 $\pm$ 0,02 <sub>1,2,3</sub>

**Примітка:** <sup>1</sup> – відмінності порівняно з показником контролю достовірні ( $p < 0,05$ ), <sup>2</sup> – відмінності порівняно з показником стадії еритеми та набряку достовірні ( $p < 0,05$ ), <sup>3</sup> – відмінності порівняно з показником склеротичної стадії достовірні ( $p < 0,05$ ), <sup>4</sup> – відмінності порівняно з показником атрофічної стадії достовірні ( $p < 0,05$ ).

початок розвитку склеротичних процесів у сосочковому і ретикулярному шарах дерми і частковою атрофією придатків шкіри, особливо волосяних фолікулів і сальних залоз.

Показовим було синхронне зменшення кількості клітин-продуцентів ІЛ-1 зі зменшенням кількості CD4 Т-лімфоцитів. Така динаміка цього цитокіну також свідчить про затихання запального процесу в дермі та зменшення секреції нейтральних протеаз – колагенази та еластази, що стабілізує структуру сполучної тканини і запобігає подальшому руйнуванню колагену.

Разом із зниженням загальної кількості Т-лімфоцитів та їхніх різновидів у склеротичній стадії виявлялася значна зміна кількості макрофагів, що було пов'язано з утилізацією й елімінацією продуктів деструкції тканин шкіри? Зниження кількості клітин Т-системи імунітету порівняно з їхнім вмістом у попередній стадії узгоджувалося з даними гістологічного дослідження біоптатів шкіри хворих на ОСД у склеротичній стадії, коли на фоні різко вираженого склерозу дерми, гіподерми й атрофії епідермісу ознаки імунного запалення були або відсутні, або слабко виражені за винятком окремих випадків, які потребують правильної оцінки характеру процесу і корекції загальноприйнятої терапії.

При атрофічній стадії ОСД на тлі вираженого склерозу, що розвинувся, та гіалінозу, редукції судин і придатків шкіри, згасання альтеративно-деструктивних і запальних процесів кількість загальних Т-лімфоцитів досягала найменших величин, але до показників норми не знижувалася. З боку різновидів Т-лімфоцитів (CD4) теж спостерігалось зниження їх вмісту, але він у 4,5 разу ще перевищував норму. Кількість супресорів CD8 протягом усіх стадій перебігу хвороби залишалася високою, майже без змін, що є свідомством того, що імунні реакції не динамічні та полягають в основі патогенезу ОСД. Кількість В-лімфоцитів залишалася зниженою, що є ознакою пригнічення В-системи імунітету. Показники вмісту в шкірі клітин-продуцентів ІЛ-1 та ІЛ-2 в атрофічній стадії мали найменші показники, але ще в 5 і 3 рази відповідно перевищували норму. Така динаміка показників імунного гомеостазу в шкірі свідчить, що остаточного закінчення імунного запалення в організмі та шкірі не настає, і тому у хворого спостерігається хронізація та рецидиви хвороби. Вміст макрофагів нормалізувався, однак спостерігалось збільшення клітин, що містять рецептори до HLA-DR антигену (у 4 рази).

Отже, результати аналізу імунної системи шкіри при атрофічній стадії ОСД відображують згасання імунного процесу в міру розвитку склеротичних і атрофічних змін у шкірі, але жоден з показників не має тенденції до нормалізації, окрім вмісту макрофагів, що й зрозуміло, бо вже у склеротичній, тим більше в атрофічній стадії ОСД вже немає продуктів розпаду в тій кількості, що була при еритематозній стадії.

У цілому, стан імунорфологічних змін при ОСД можна охарактеризувати як активацію Т-системи імунітету, пригнічення В-системи імунітету. Високі показники CD3, CD4 та CD8 із самого початку захворювання та слабка їх динаміка свідчить, що висока активність імунного запалення пошкоджує стінки судин з розвитком плазматичного просочування, фібриноїдного набряку та фібриноїдного некрозу, оточуючої сполучної тканини з деструкцією колагену.

Високий вміст у дермі HLA-DR антигену, який є продуктом імуномодуляторних генів може свідчити про генетично обумовлену схильність до патології сполучної тканини, особливо колагену, яка пошкоджується під впливом активації Т-системи імунітету, високого вмісту клітин-продуцентів ІЛ-1 та ІЛ-2, що сприяє місцевому запаленню. Прогностичною ознакою переходу процесу в наступну стадію є суттєве зниження в дермі рівнів CD4, клітин-продуцентів ІЛ-1 та ІЛ-2, кількості макрофагів CD16 і зменшення значення імунорегуляторного індексу.

Слід відзначити, що у хворих на ОСД в атрофічній стадії як у крові, так і у шкірі не спостерігається нормалізації усіх імунологічних показників, що характеризує відсутність ремісії, а лише клінічне покращення, на фоні персистування хвороби.

## ВИСНОВКИ

1. ОСД залежно від стадії запального процесу супроводжується зменшенням кількості загальних лімфоцитів крові за рахунок субпопуляцій, а саме Т-хелперів CD4 та Т-супресорів CD8, молекул адгезії ендотеліоцитів CD54, особливо при стадіях еритеми та набряку і склеротичній. У зв'язку з порушенням клітинних контактів ендотеліоцитів розвивається стовщення стінки судин, плазматичне просочування і міграція імунних клітин у периваскулярний простір і дерму.

2. У патогенезі ОСД важлива роль належить активації Т-клітинної ланки імунної системи у шкірі, що характеризується появою імунного

запалення, переважно із CD4- і CD8-лімфоцитів, а також клітин-продуцентів ІЛ-1 і ІЛ-2, які є медіаторами запалення. Поява в епідермісі цитотоксичних CD8-лімфоцитів сприяє його деструкції.

3. У хворих на ОСД спостерігається суттєве підвищення у крові прозапальних – ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ФНП- $\alpha$ , протизапального (ІЛ-4) цитокінів та макрофагів CD16, В-лімфоцитів CD20, активатору ІЛ-2 CD25 на фоні суттєвого зниження ІНФ- $\gamma$ , що є свідченням активації як Т-, так і В-систем імунітету.

4. ОСД при всіх досліджуваних стадіях супроводжується підвищенням вмісту у крові імунoglobulinів класу G та M, антитіл до нДНК, дДНК, фДНК, ЦК. Зменшення вмісту CD8-лімфоцитів сприяє підвищенню рівня ЦК, які і пошкоджують

БМ, клітини та їх ядра, що сприяє придбанню пошкодженими тканинами антигенних властивостей, утворенню аутоантитіл та нових імунних комплексів.

5. Діагностичними маркерами активності запального процесу при ОСД є вміст у крові маркерів ранньої стадії активації клітин – CD25, ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-4, ІЛ-6, ФНП- $\alpha$ ; вміст у лімфатичних інфільтратах шкіри високої концентрації Т-хелперів і Т-супресорів, HLA-Dr-антигену, клітин-продуцентів ІЛ-1 та ІЛ-2. Ці показники є адекватними й високочутливими при оцінці імунологічних змін у хворих на ОСД, а також інформативними у визначенні їх перебігу, прогнозу та лікування.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. *Гриневич Ю.А., Алферов А.Н.* Определение концентрации циркулирующих иммунных комплексов // Лабораторное дело. – 1981. – № 8. – С. 493.
2. *Гусева Н.Г.* Системная склеродермия: клиника, диагностика, лечение / Н.Г. Гусева // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2002. – № 4. – С. 5-15.
3. *Казмірчук В.С.* Клінічна імунологія і алергологія / В.С. Казмірчук, Л.В. Ковальчук. – Вінниця: Нова книга, 2006. – 528 с.
4. *Камышников В.С.* Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С. Камышников. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медпресс-информ, 2004. – 920 с.
5. *Коваленко В.Н., Шуба Н.М.* Ревматические болезни: номенклатура, классификация, стандарты диагностики и лечения. – К., 2002. – 244 с.
6. *Лапач С.Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К.: Морион, 2000. – 320 с.
7. *Лимфоциты* / Под ред. Дж. Клауса. – М., 1990. – 393 с.
8. *Мавров И.И.* Основы диагностики и лечения в дерматологии и венерологии: Пособие для врачей, интернов и студентов / И.И. Мавров, Л.А. Болотная, И.М. Сербина. – Х.: Факт, 2007. – 792 с.
9. *Надашкевич О.Н.* Системна склеродермія. Частина перша / О.Н. Надашкевич. – Львів, 2006. – 133 с.
10. *Невская Т.А.* В-клеточные нарушения при системной склеродермии: взаимосвязь с фиброзом и васкулопатией, новые подходы к лечению / Т.А. Невская, Л.П. Ананьева, Н.Г. Гусева // Научно-практическая ревматология. – 2009. – № 1. – С. 42-60.
11. *Abraham D.J.* Scleroderma: from cell and molecular mechanisms to disease models / D.J. Abraham, J. Varga // Trends Immunol. – 2005. – Vol. 26. – P. 587-595.
12. *Giacomelli R.* Peripheral blood mononuclear cells of patients with systemic sclerosis produce increased amounts of interleukin-6, but not transforming growth factor beta 1 / R. Giacomelli, P. Cipriani, C. Danese // J. Rheumatol. – 1996. – Vol. 23, No. 2. – P. 291-296.
13. *Systemic sclerosis Th2 cells inhibit collagen production in dermal fibroblasts via membrane-associated tumor necrosis factor alpha* / C. Chizzolini, B. Merkli, J. Stocker et al. // Arthritis Rheum. – 2003. – Vol. 48. – P. 2593-2604.

**ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ ОГРАНИЧЕННОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ****CHARACTERISTICS OF IMMUNOLOGICAL CHANGES OF PATIENTS WITH LIMITED SCLERODERMA DEPENDING ON THE STAGE OF DISEASE****В.В. Савенкова****V.V. Savenkova**

**Резюме.** На основании проведенных исследований дана оценка клеточного, гуморального иммунитета в крови и иммуноморфологических изменений в коже больных ограниченной склеродермией в зависимости от стадии заболевания. Уточнены некоторые звенья патогенеза заболевания. Установлены диагностические маркеры, характеризующие остроту процесса и позволяющие назначить адекватную терапию.

**Resume.** On the basis of these studies estimated the cellular, humoral immunity and immunomorphological changes in the skin of patients with limited scleroderma, depending on the stage of disease. Clarified some links of the pathogenesis of the disease. Established diagnostic markers that characterize the severity of the process and allow to assign an adequate therapy.

**Ключевые слова:** ограниченная склеродермия, клеточный иммунитет, гуморальный иммунитет, иммуноморфологические нарушения, патогенез.

**Keywords:** limited scleroderma, cellular immunity, humoral immunity, immunomorphological violations, pathogenesis.