

УДК 578.245:616.72-002.77+578.825.13

**ПРОДУКЦИЯ ИНТЕРФЕРОНОВ У  
БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ С  
ПРИЗНАКАМИ ПЕРЕНЕСЕННОЙ ИНФЕКЦИИ  
ВИРУСА ЭПШТЕЙН-БАРР**

**Дыкун И. Я., Менкус Е. В., Жмуркова В. В.,  
Мурадян О. В**

**ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им.  
И.И. Мечникова АМН Украины»**

Не смотря на все неудачи в поиске этиологического фактора ревматоидного артрита (РА), ученые не сдаются и каждый раз выдвигают на эту роль новые микроорганизмы. В последние годы это вирусы, в первую очередь вирус Эпштейн-Барр (ВЭБ) [1]. В поддержании иммунного статуса макроорганизма большое значение имеют интерфероны (ИНФ), которые помимо специфического (противовирусного) оказывают иммуномодулирующее воздействие. Это проявляется в регуляции экспрессии генов главного комплекса гистосовместимости, модуляции клеточной дифференцировки и созревания, подавлении пролиферации клеток, а также влияют на эндокринную систему [2,3].

Интерферон- $\alpha$  (ИФН- $\alpha$ ) является важным медиатором межклеточных взаимодействий. Этот цитокин обладает иммуномодулирующим, противовирусным, антимикробным, противоопухолевым, антипролиферативным эффектами. Интерферон- $\alpha$  стимулирует врожденный иммунный ответ и постоянно участвует в согласовании начального врожденного с последующим адаптивным иммунным ответом. Интерферон- $\alpha$  активирует макрофаги, NK-клетки, подавляет пролиферацию и дифференцировку соматических клеток. К индукторам ИФН- $\alpha$  относятся вирусы и их продукты, среди которых ведущее место занимают двухцепочечные РНК, продуцируемые во время вирусной репликации, а также бактерии, микоплазмы и простозои, цитокины и ростовые факторы (интерлейкин-1 (ИЛ-1), интерлейкин-2 (ИЛ-2), фактор некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), CSF-1 и др.) и генно-инженерные препараты ИФН- $\alpha$  [4].

Имеются данные, указывающие на то, что фактор некроза опухоли и ИФН- $\gamma$  потенцируют действие друг друга в отношении стимуляции миграции нейтрофилов и секреции кислородных радикалов. Так, предварительная обработка макрофагов ИФН- $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  способствует гиперпродукции ИЛ-1 этими клетками. ИФН- $\gamma$  способен ингибировать дифференцировку В-клеток, в то же время стимулируя их пролиферативный ответ. При РА преобладает интраартикулярная активность Th1-клеток, которые стимулируют синовиальные макрофаги, производящие такие провоспалительные цитокины, как ИФН- $\gamma$ , ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  [5,6].

Целью настоящей работы явилось изучение содержания ИФН- $\alpha$  и ИФН- $\gamma$  в синовиальной

жидкости больных РА в зависимости от наличия признаков ВЭБ-паст инфекции.

Материалы и методы исследования. Обследовано 37 пациентов РА (средний возраст  $53,7 \pm 3,1$ ; ранги 30-71 года), среди которых было 9 мужчин и 28 женщин (соотношение мужчины/женщины составило примерно 1:3). У всех больных во время первого обследования отмечалась та или иная степень активности заболевания. Диагноз РА устанавливался на основании критериев Американской ревматологической ассоциации (АРА), 1987р [7]. Активность заболевания оценивали по значениям Шкалы Активности Болезни - DAS (от англ. Disease Activity Score) [8]. Контрольную группу составили 11 пациентов ОА с реактивным синовитом на момент обследования. В контрольной группе было 8 женщин и 3 мужчины, средний возраст которых составил  $(56 \pm 2,9)$ ; ранги 48-73) лет.

Иммуноглобулины класса G (IgG) к ядерному антигену ВЭБ определяли в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА) при помощи тест-системы с набором реагентов «ВекторВЭБ – NA – IgG», (ЗАТ «Вектор-Бест», Россия).

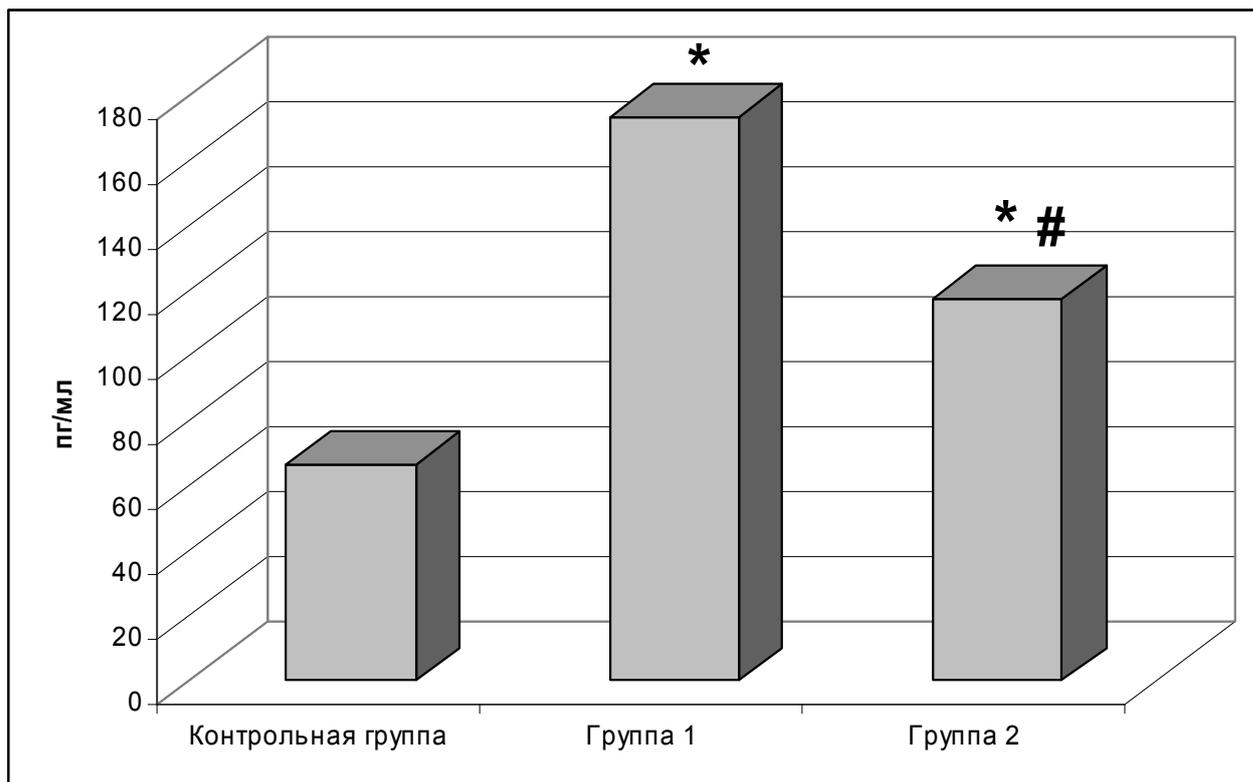
Интерферон- $\gamma$  и ИФН- $\alpha$  определяли в синовиальной жидкости методом ИФА с помощью наборов готовых реактивов «гамма-Интерферон-ИФА-БЕСТ» и «альфа-Интерферон-ИФА-БЕСТ» (ЗАТ «Вектор-Бест», Россия).

Статистический анализ проводился с использованием пакета статистических программ SPSS версия 15.0. Порог статистической ошибки различных тестов был установлен на уровне 5%. Характер данных описательной статистики зависел от типа переменных. Считали среднее значение, сумму, стандартное отклонение, минимум и максимум для непрерывных переменных и частоту и процентные части для порядковых или номинальных переменных. Для сравнения данных использовали t-тест (Стьюдента), Вилкоксона и  $\chi^2$ .

Результаты. У 24 пациентов (75%) (группа А) в сыворотке крови были выявлены иммуноглобулины класса G (IgG) к ядерному ВЭБ антигену. Соответственно, эти пациенты составили группу А, а пациенты с РА – 13 человек (35%), у которых данные антитела не выявлялись, составили группу В. В контрольной группе IgG к ядерному антигену ВЭБ были выявлены у 6 (55%) пациентов.

Значение DAS для группы А составляло, соответственно,  $(3,8 \pm 1,2)$ , а для группы В –  $(3,3 \pm 0,8)$ ,  $p < 0,05$ .

Уровень ИФН- $\alpha$  в синовиальной жидкости больных РА с признаками паст-инфекции ВЭБ (группа 1) составил  $(173 \pm 38)$  пг/мл, у пациентов без признаков паст-инфекции ВЭБ (группа 2) -  $(117 \pm 44)$  пг/мл, что было достоверно ниже, чем в группе 1 ( $p < 0,05$ ), в контрольной группе -  $(66,5 \pm 19)$  пг/мл, что было достоверно ниже, как по сравнению с группой 1 ( $p < 0,01$ ), так и по сравнению с группой 2 ( $p < 0,05$ ), рисунок 1.



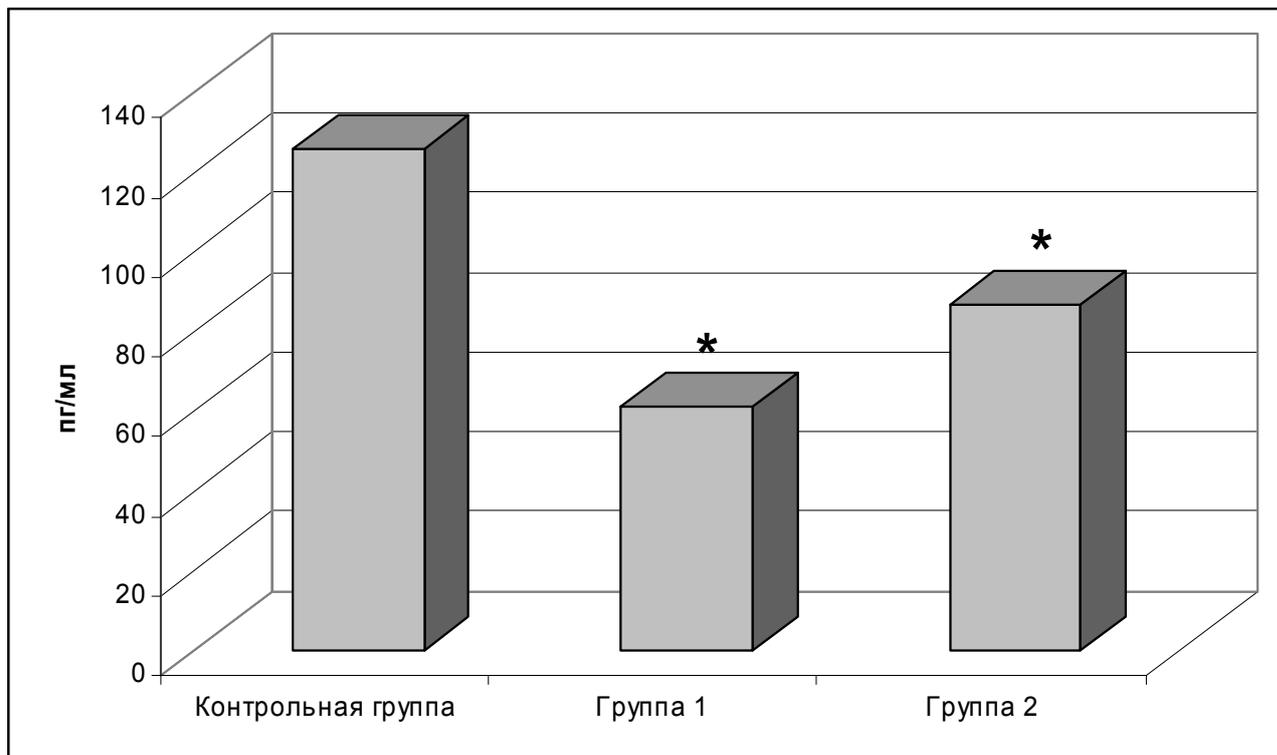
**Рисунок 1. Содержание ИФН-α в синовиальной жидкости у больных РА**

\*  $p < 0,05$  при сравнении с контрольной группой

#  $p < 0,05$  при сравнении с данными в группе 1 и группе 2

Концентрация ИФН-γ в синовиальной жидкости больных РА в группе 1 равнялась  $(61,2 \pm 19,2)$  пг/мл, в группе 2 -  $(86,6 \pm 24,3)$  пг/мл, что значимо не отличалось от группы 1 ( $p < 0,2$ ), при наличии тенденции к снижению. В контрольной группе

содержание ИФН-γ составило  $(126 \pm 21)$  пг/мл, что было достоверно выше, как по сравнению с группой 1 ( $p < 0,01$ ), так и по сравнению с группой 2 ( $p < 0,05$ ), рисунок 2.



**Рисунок 2. Содержание ИФН-γ в синовиальной жидкости у больных РА**

\*  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой

Проведенный далее корреляционный анализ между уровнями интерферонов и показателями активности РА, входящими в формулу расчета DAS (СОЕ - скорость оседания эритроцитов, ЧПС - число припухших суставов, ЧБС - число болезненных суставов, ОСЗ - общее состояние здоровья, НАQ-опросник оценки качества жизни (от англ. Health Assessment Questionnaire), показал, что между содержанием ИФН- $\alpha$  в синовиальной жидкости больных РА, уровнем СОЭ и числом припухших суставов существует прямая корреляционная

зависимость. В то же время, для ИФН- $\gamma$  не было показано корреляционной связи ни с одним из приведенных показателей (таблица 1).

**Таблица. Корреляционный анализ для некоторых переменных у больных РА**

	СОЕ	ЧПС	ЧБС	ОСЗ	НАQ	DAS	ИФН- $\alpha$	ИФН- $\gamma$
СОЕ	1							
ЧПС	0,62*	1						
ЧБС	0,47*	0,41*	1					
ОСЗ	0,31	0,50*	0,29	1				
НАQ	0,13	0,67*	0,45*	0,33	1			
DAS	0,42*	0,59*	0,51*	0,53*	0,61*	1		
ИФН- $\alpha$	0,51*	0,47*	0,33	0,29	0,22	0,35	1	
ИФН- $\gamma$	-0,34	-0,27	-0,17	-0,10	-0,07	-0,29	-0,22	1

Примечание: \* -  $p < 0,05$  при сравнении групп.

#### Выводы:

1. В группе пациентов РА с признаками пастинфекции ВЭБ отмечается более высокая активность заболевания.
2. У пациентов РА по сравнению с пациентами ОА с реактивным синовитом отмечается достоверно более низкое содержание в синовиальной жидкости ИФН- $\gamma$  и достоверно более высокое содержание ИФН- $\alpha$ , причем в группе пациентов с признаками ВЭБ пастинфекции оно было также достоверно выше, чем в группе без таких признаков.
3. Существует прямая корреляционная зависимость между содержанием ИФН- $\alpha$  в синовиальной жидкости больных РА, уровнем СОЭ и числом припухших суставов. В то же время, для ИФН- $\gamma$  корреляционной зависимости с показателями, использованными для расчета DAS не установлено.

#### Список литературы

1. Costenbader, K. Epstein-Barr virus and rheumatoid arthritis: is the link? [Text] / K.H. Costenbader, E.W. Karlson // Arthritis Research & Therapy. – 2006. – Vol. 8(1). – P. 1186-1893. - ISSN: 1478-6354.
2. Moss, D. The Immunology of Epstein-Barr Virus Infection. [Text] / D. J. Moss, S. R. Burrows, S. L. Silins, I. Misko R. Khanna // Philosophical Transactions of the Royal Society of London. – 2001. - № 1408. - P. 475-488. - ISSN: 0264-3952.
3. Ronnelid, J. Production of T-cell cytokines at the single-cell level in patients with inflammatory arthritides: enhanced activity in synovial fluid compared to blood [Text] / J. Ronnelid, L. Berg, S. Rogberg et al. // The Journal of Rheumatology. – 2005. - Vol. 32(7). - P. 1349-53. - ISSN: 1462-0324.
4. Akbar, A. IFN-alpha and IFN-beta: a link between immune memory and chronic inflammation [Text] / A.N.

Akbar, J.M. Lord, M. Salmon // Immunology Today. – 2000. – Vol.21. – P.337–342. - ISSN: 1471-4906.

5. Петров, А. Порухення клітинного імунітету в дебюті ревматоїдного артриту: можливі діагностичні значення [Текст] / А.В. Петров // Український ревматологічний журнал. – 2005. – №19. – С. 7-11. – ISSN 1607-2669.

6. Zhang, Q. TNF inhibits production of stromal cell-derived factor 1 by bone stromal cells and increases osteoclast precursor mobilization from bone marrow to peripheral blood [E-Resource] / Q. Zhang, R. Guo, E. M. Schwarz, B. F. Boyce, L. Xing // Arthritis Research & Therapy. – 2008. - Vol.10. - doi:10.1186/ar2391 – ISSN 1478-6362.

7. Arnett, F. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis [Text] / F.C. Arnett, S.M. Edworthy, D.A. Bloch et al. // Arthritis & Rheumatism. – 1988. – Vol.31. – P. 315-324. - ISSN: 0004-3591.

8. Riel, P. Development and Validation of Response Criteria in Rheumatoid Arthritis: Steps Towards an International Consensus on Prognostic Markers [Text] / P.L. van Riel, A.M. van Gestel, L.B.A. van de Putte // British Journal of Rheumatology. – 1996. – Vol.35. – P. 4-7. - ISSN 0263-7103.

УДК 578.245:616.72-002.77+578.825.13

#### ПРОДУКЦИЯ ИНТЕРФЕРОНОВ У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ С ПРИЗНАКАМИ ПЕРЕНОСЕННОЙ ИНФЕКЦИИ ВИРУСА ЭПШТЕЙН-БАРР

Дыкун И. Я., Менкус Е. В., Жмуркова В. В., Мурадян О. В

Цель работы: изучить содержание интерферона- $\alpha$  (ИФН- $\alpha$ ) и интерферона- $\gamma$  (ИФН- $\gamma$ ) в синовиальной жидкости (СЖ) больных ревматоидным артритом (РА) в зависимости от наличия признаков паст-

инфекции вируса Эпштейн-Барр (ВЭБ). Установлено, что у пациентов с РА с признаками ВЭБ паст-инфекции отмечается более высокая активность заболевания и достоверно более высокое содержание ИФН- $\alpha$  в СЖ при отсутствии различий в содержании ИФН- $\gamma$  по сравнению с пациентами без признаков ВЭБ паст-инфекции. Также показано наличие прямой корреляционной зависимости между содержанием ИФН- $\alpha$ , уровнем СОЭ и числом припухших суставов.

**Ключевые слова:** ревматоидный артрит, вирус Эпштейн-Барр, интерферон альфа, интерферон гамма.

УДК 578.245:616.72-002.77+578.825.13

**ПРОДУКЦІЯ ІНТЕРФЕРОНІВ У ХВОРИХ НА РЕВМАТОЇДНИЙ АРТРИТ З ОЗНАКАМИ ПЕРЕНЕСЕНОЇ ІНФЕКЦІЇ ВІРУСУ ЕПШТЕЙН-БАРР**

**Дикун І. Я., Менкус О. В., Жмуркова В. В., Мурадян О. В.**

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України»

Мета роботи: вивчити вміст інтерферону- $\alpha$  (ИФН- $\alpha$ ) та інтерферону- $\gamma$  (ИФН- $\gamma$ ) у синовіальній рідині (СР) хворих на ревматоїдний артрит (РА) залежно від наявності ознак паст-інфекції вірусу Епштейн-Барр (ВЕБ). Встановлено, що у пацієнтів з РА з ознаками ВЕБ-паст інфекції відзначається вища активність захворювання, достовірний вищий вміст ИФН- $\alpha$  у СР за відсутності відмінностей у вмісті ИФН- $\gamma$  в порівнянні з пацієнтами без ознак ВЕБ паст-інфекції. Також показана наявність прямої кореляційної залежності між вмістом ИФН-  $\alpha$ , рівнем ШОЕ і числом припухлих суглобів.

**Ключові слова:** ревматоїдний артрит, вірус Епштейн-Барр, інтерферон альфа, інтерферон гамма.

UDC 578.245:616.72-002.77+578.825.13

**INTERFERON PRODUCTION IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS AND EBV INFECTION SIGNS**

**Dykun I. Ya., Menkus O. V., Zhmurkova V. V., Muradyan O. V.**

Aim of research: to examine the interferon  $\alpha$  (INF- $\alpha$ ) and interferon  $\gamma$  (INF- $\gamma$ ) contents in synovial fluid (SF) in patients with rheumatoid arthritis (RA) depending on Epstein-Barr virus (EBV) infection signs. It was found that RA patients with EBV infection signs have had higher disease activity and significantly higher contents of INF- $\alpha$  in SF while INF- $\gamma$  levels did not differ comparing to RA patients without EBV infection signs. Positive correlation was shown between INF- $\alpha$  contents, ESR level and swollen joint count as well.

**Key words:** rheumatoid arthritis, Epstein-Barr virus, interferon alfa, interferon gamma.