

УДК 616.72 - 002.77

НАРУШЕНИЯ В СИСТЕМЕ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ПРИ БОЛЕЗНЯХ ИММУННОЙ АУТОАГРЕССИИ У ДЕТЕЙ

Киселева Л.П., Савво В.М., Панченко Л.А.

Харьковская медицинская академия последипломного образования

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

Болезни иммунной аутоагрессии (БИА) представляют собой моноорганные и/или полиорганные (системные) заболевания, в основе развития которых лежат патологические иммунные реакции, направленные против антигенов собственных клеток и неклеточных структур организма [1, 2].

Несмотря на многочисленные исследования, проводимые на протяжении десятилетий, многие звенья патогенеза отдельных болезней иммунной аутоагрессии остаются нераскрытыми. Наиболее изученными представляются механизмы развития заболеваний, обусловленных: а) изменениями в системе иммунобиологического надзора (ИБН), б) болезнями, вызванными нарушениями вне системы ИБН (антигензависимых).

Нарушения в системе ИБН как инициальные звенья патогенеза болезней иммунной аутоагрессии:

- мутации в пролиферирующих лимфоцитах с появлением в организме клонов Т- и В-лимфоцитов с измененным геномом;
- нарушение оптимального соотношения количества и/или активности Т-супрессоров и Т-хелперов;
- срыв толерантности Т-лимфоцитов к аутоантигенам при избыточном воздействии костимулирующих факторов;
- поликлональная антигенноспецифическая активация Т- и В-лимфоцитов [2, 3].

Нарушения вне системы иммунобиологического надзора:

- отмена естественной толерантности к антигенам организма;
- антигенная мимикрия с развитием перекрестной иммунной аутоагрессии;
- модификация антигенов тканей организма при инфицировании вирусами и бактериями, внедрение чужеродной ДНК в геном клетки, образование гибридного генома [4,5].

По доминирующему механизму развития БИА подразделяются на:

- Т-клеточные, развивающиеся в основном с участием цитотоксических клеток Т-киллеров; В-клеточные (гуморальные), ведущую роль в развитии патологии играют иммуноглобулины; БИА, развивающиеся с участием обоих звеньев иммунного ответа - и гуморального, и клеточного [1, 2, 6].

К группе болезней иммунной аутоагрессии относятся ревматические заболевания, из них наиболее распространенное как у взрослых, так и у детей -

ревматоидный артрит (РА) – системное заболевание соединительной ткани с преимущественным поражением опорно-двигательного аппарата. В основе развития ревматоидного артрита лежат иммунопатологические реакции, обусловленные дисбалансом клеточного и гуморального звеньев иммунитета, гиперпродукцией антител, аутоантител. При РА наблюдаются клональная экспансия Т-лимфоцитов, пролиферация В-лимфоцитов, неконтролируемый синтез иммуноглобулинов плазматическими клетками [7-10]. Как и все полигеннонаследуемые заболевания, РА отличается полиморфизмом клинических проявлений от моноартикулярных вариантов суставной формы с поражением глаз до тяжелых системных форм [2, 3, 7].

Целью настоящего исследования явилось сопоставительное изучение нарушений в системе иммунобиологического надзора при разных вариантах ювенильного ревматоидного артрита у детей.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 89 детей, заболевших ювенильным ревматоидным артритом (ЮРА) в возрасте 1,5-14 лет (52 девочки, 37 мальчиков). У 77 (86,5 %) детей имела место суставная форма заболевания, у 12 (13,5%) – суставно-висцеральная. Диагноз ЮРА устанавливался согласно критериям МКБ10 М.08.0. При определении клинического варианта заболевания использовались Восточно-Европейские критерии (1980). 18 (20,2 %) больных были серопозитивны по антинуклеарному фактору, 15 – по ревматоидному фактору. В группе больных преимущественно суставной формы (77 детей) моноартикулярный вариант начала ЮРА имел место у 33 (42,8 %) детей, олигоартикулярный – у 32 (41,5 %), полиартикулярный с поражением 5 и более суставов в первые 3 месяца болезни – у 12 (15,6 %) детей. Все больные исследованы в активной фазе заболевания. Оценивались общее состояние больного, активность суставного синдрома (число болезненных суставов – ЧБС, и число припухших суставов – ЧПС), функциональное состояние. Активность заболевания оценивалась по индексу активности болезни – Disease Activity Score (DAS) в модификации DAS4. Показателями лабораторной активности были уровень СОЭ, гемоглобина, лейкоцитов и тромбоцитов, а также уровень С-реактивного протеина в сыворотке крови. Анатомическая стадия костно-хрящевой деструкции определялась с помощью рентгенографии суставов стандартным методом по Штейн-брокеру. При оценке состояния различных органов, в том числе органов зрения, использовались общепринятые клинические и функциональные методы исследования.

Объем иммунологических исследований включал оценку параметров клеточного и гуморального звеньев иммунитета, циркулирующих иммунных комплексов, антинуклеарного и ревматоидного факторов. Материалом для исследования служила периферическая кровь, у 24 (27 %) больных ЮРА – синовиальная жидкость. Идентификация субпопуляции Т-лимфоцитов (CD 4, CD 8) проводилась по

оценке чувствительности к теофиллину (A. Shore, 1978), у части детей с помощью моноклональных антител с оценкой результатов на проточном цитофлюориметре. Уровень иммунных комплексов в крови и синовиальной жидкости определялся преципитацией полиэтиленгликолем по методу Digeon (1977), основанным на селективной преципитации растворимых иммунных комплексов в 3,88% концентрации высокомолекулярного полиэтиленгликоля.

Определение Ig A, M, G проводилось методом радиальной иммунодиффузии в агаре по Mancini, наличие антиядерного фактора (АНФ) в сыворотке крови – иммунолюминисцентным методом.

Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием методов вариационной статистики, общепринятых в медико-биологических исследованиях. Для каждого вариационного ряда рассчитывалась среднеарифметическая и ошибка среднеарифметической. Достоверность разницы между выборками определяли с помощью критерия Стьюдента. Теснота связи между отдельными клиническими параметрами и функциональными показателями иммунных нарушений, а также взаимосвязь между показателями клеточного и гуморального звеньев иммунитета определялась величинами коэффициентов парной и бисериальной корреляции. Для измерения тесноты связи между признаками, имеющими альтернативную характеристику, использовался коэффициент ассоциации Пирсона (Φ).

Результаты и обсуждение

Анализ иммунного статуса проводился в зависимости от исходной формы заболевания (ЮРА), степени активности патологического процесса. Всего обследовано 89 детей. Исследования проводились в активной фазе заболевания до начала медикаментозной терапии и на фоне ее при первичном поступлении, а также при последующих поступлениях, связанных с обострением патологического процесса. Результаты исследований сопоставлялись с иммунограммами здоровых детей. При оценке показателей клеточного звена иммунитета нами выявлена умеренная Т-лимфоцитопения у больных как суставной, так и суставно-висцеральной формами заболевания. В подгруппе больных с моноартикулярным вариантом начала ЮРА умеренная супрессия клеточного звена иммунитета наблюдалась только при II степени активности процесса. Относительное содержание Т-лимфоцитов в крови у данных больных составило 84,8% от нормы ($44,8 \pm 1,6$ и $52,8 \pm 1,2$, $p < 0,01$). Статистически значимых различий в абсолютном содержании Т-лимфоцитов у больных моноартритом с разной степенью активности не получено. Более, чем у половины детей данной подгруппы наблюдалось снижение уровня Т-хелперов в крови, тогда как относительное содержание супрессорной субпопуляции Т-лимфоцитов у большей части больных соответствовало норме. Относительное содержание Т-лимфоцитов коррелировало с уровнем Т-хелперов ($r = 0,53$, $p < 0,01$). Уровень Т-хелперов отрицательно коррелировал с супрессорной субпопуляцией ($r =$

$0,43$, $p < 0,01$). Отсутствовала корреляция между Т-лимфоцитами и Т-супрессорами (положительная у здоровых детей).

Изменения в содержании клонов Т-лимфоцитов у больных с олигоартритом соответствовали таковым при моноартрите. Относительное содержание Т-хелперов крови у них составило $36,9 \pm 2,3$; абсолютное – $248,2 \pm 37,5$ ($426,8 \pm 52,3$ в 1 мкл при моноартрите). Степень супрессии клеточного звена иммунитета нарастала с увеличением активности патологического процесса. О нарушении системы прямых и обратных связей между субпопуляциями Т-лимфоцитов в данной подгруппе говорит отсутствие какой-либо корреляции между Т-хелперами и Т-супрессорами, наличие слабой отрицательной связи между Т-лимфоцитами и Т-супрессорами ($r = -0,13$, $p < 0,01$). В подгруппе больных с полиартритом соотношение иммунорегуляторных Т-лимфоцитов не было в пределах нормального распределения ни у одного ребенка. Наиболее глубокие изменения в клеточном звене иммунитета наблюдались нами у больных с суставно-висцеральной формой заболевания. Практически у всех детей данной группы был резко снижен общий пул Т-лимфоцитов в крови, уровень Т-хелперов составил в среднем $27,4 \pm 2,6\%$, что достоверно ниже содержания данной субпопуляции у больных суставной формой ЮРА. Статистически значимых различий в уровне Т-супрессоров в сравниваемых группах нами не получено.

Наряду с нарушениями в Т-клеточном звене иммунитета как у больных суставной, так и суставно-висцеральной формами РА, наблюдалась пролиферация В-лимфоцитов, уровень которых в крови составил в среднем $25,5 \pm 1,8\%$ и $26,7 \pm 2,0\%$ против $15,8 \pm 1,1\%$ у здоровых детей ($p_1 < 0,001$, $p_2 < 0,001$). У 25,8% детей суставной формой болезни и 42,6% суставно-висцеральной формы имело место одновременная гиперпродукция 3 основных классов иммуноглобулинов. Чаще отмечалось избирательное повышение уровня одного из иммуноглобулинов. Одним из основных механизмов развития РА является иммунокомплексное повреждение тканей [1, 3]. В наших наблюдениях в общей группе больных уровень ЦИК в крови был достоверно выше такового у здоровых детей ($77,1 \pm 6,2$ – $112,6 \pm 11,3$ и $41,2 \pm 3,2$, $p_1 < 0,001$, $p_2 < 0,001$), достигнув максимума при II-III степени активности. Наиболее высокий уровень ЦИК в крови ($186,0$ усл.ед.) выявлен при развитии увеита. Между Т-лимфоцитами крови и ЦИК, ЦИК и Т-хелперами имела место отрицательная корреляционная связь ($r = -0,21$, $-0,39$, $-0,76$). Плацдармом иммунопатологических реакций при РА является синовиальная оболочка и суставной хрящ, сосудистая стенка мелких артерий. Проведенное нами у 24 больных исследование синовиальной жидкости показало преобладание Т-лимфоцитарной инфильтрации ее при РА, что свидетельствует в пользу участия клеточных иммунных реакций в развитии ревматоидного синовита. Уровень ЦИК в синовиальной жидкости был выше нормы в данной среде у всех обследованных детей (4-45 усл.ед.). Между Т-лимфоцитами в крови и синовиальной жидкости, уров-

ниями иммуноглобулинов А и G определялась положительная корреляционная связь ($r=0,5; 0,38$). Отрицательная корреляция имела место между уровнями Т-супрессоров в крови и В-лимфоцитов в синовиальной жидкости ($r=-0,33, p<0,01$). У части больных (46,6%) отмечена гиперпродукция В-лимфоцитов, иммуноглобулина А в синовиальной среде.

С целью определения значимости нарушения иммунного гомеостаза в развитии РА было проведено сопоставление клинических проявлений заболевания с дисбалансом в Т- и В-клонах лимфоцитов, уровнем ЦИК. Выявлена тесная связь между интенсивностью экссудативной реакции в воспаленных суставах и гиперпродукцией В-лимфоцитов ($r=0,43, p<0,01$), повышением уровня СОЭ более 20 мм/ч и иммуноглобулином G выше 16 г/л ($r=0,56, p<0,01$). Длительность сохранения локальных признаков поражения суставов коррелировала со снижением общего пула Т-лимфоцитов ($r=0,03, p<0,01$). Наиболее значимой была связь между развитием костно-хрящевой деструкции в течение первого года болезни и стойкой супрессией Т-клеточного звена иммунитета ($\Phi=1, p<0,01$). Аналогичная связь установлена между снижением уровня Т-лимфоцитов, гиперпродукцией иммунных комплексов, иммуноглобулина G и прогрессирующим течением заболевания.

Выводы

Проведенные клинико-иммунологические сопоставления выявили сложную взаимосвязь клинических проявлений ревматоидного артрита у детей с изменением в иммунном гомеостазе, что подтверждает патогенетическую связь последних. Нарушения в системе иммунобиологического надзора при ЮРА характеризуются изменением соотношения количества и активности клонов Т-лимфоцитов (Т-хелперов и Т-супрессоров), что, возможно, и является инициальным звеном патогенеза данного заболевания. В развитии болезни участвуют оба звена иммунного ответа – и гуморальный, и клеточный. Имеет место супрессия Т-лимфоцитов хелперов, активация В-клеточного звена иммунитета.

Список литературы

1. Литвицкий П.Ф. Система иммунобиологического надзора и иммунопатологические синдромы // Вопросы современной педиатрии. Ревматология. Дайджест. – 2006-2009. – С. 33-56
2. Алексеева Е.И., Литвицкий П.Ф. Ювенильный ревматоидный артрит: этиология, патогенез, клиника, алгоритм диагностики и лечения / М.: ВЕДИ, 2007. – 368 с.
3. Самсыгина Г.А., Щербакова Л.Ю. Кардиология и ревматология детского возраста / М.: Медпрактика, 2004. – 735 с.
4. Samuel M. Behar, Stevan A. Porcelli. Mechanisms of autoimmune disease induction // Arthritis and rheumatism. – 1995 - Vol. 38, № 4. – P. 458-476
5. Shadidi K.K., Aarvak T., Jeansson S. T cell responses to viral, bacterial and protozoon antigens in rheumatoid inflammation. Selection migration of T cells

to synovial tissue // Rheumatology. – 2001.- Vol. 40,- P. 1120-1125

6. Коваленко В.М., Борткевич О.П., Гавриленко Т.И., Білявська Ю.В., Ришова Н.О. Визначення ролі інтерлейкіну 17 у імунопатогенезі ревматоїдного артриту // Тези наукових доповідей V Національного Конгресу ревматологів України, м. Київ / Український ревматологічний журнал. - №4. – 2009. – С. 35
7. Коротеєв Д.Е., Раденська С.Г., Лоповок, В.А. Насонова, Иванова Н.Н. Синовиальная оболочка на ранней стадии ревматоидного артрита: клинико – морфологические сопоставления // Тер. архив. – 2003. - №5. – С. 12-20
8. David E. Vocum T cells: patogenic Cells and therapeutic targets in rheumatoid arthritis // Seminars in arthritis and rheumatism, Vol. 29. – 1999. - №1. – P. 27-35
9. Podyakov L., Lampo J., Heimbürger M. Genetics markers for efficacy of tumor necrosis factor blocking therapy in rheumatoid arthritis // Annals of the rheumatic disease. – Vol. 62, 2003. – P. 526-529
10. Cutalo M., Seriole B., Craviotto C., Pizzorri C., Sulli A.. Circadian rhythms in RA // Annals of the rheumatic disease. – 2003.- Vol. 62.- P. 593-596

УДК 616.72 - 002.77

НАРУШЕНИЯ В СИСТЕМЕ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ПРИ БОЛЕЗНЯХ ИММУННОЙ АУТОАГРЕССИИ У ДЕТЕЙ

Киселева Л.П., Савво В.М., Панченко Л.А.

Исследованы показатели клеточного и гуморального звеньев иммунитета у 89 больных РА в крови и у 24 - в синовиальной жидкости. Проведен корреляционный анализ полученных результатов с клиническими проявлениями болезни. Выявлена Т-клеточная инфильтрация синовиальной жидкости, повышенное содержание ЦИК в ней, негативная корреляция между данными показателями в крови и в синовиальной жидкости. Полученные данные свидетельствуют о возможно ведущей роли клона Т-лимфоцитов в инициации и прогрессировании РА.

Ключевые слова: артрит, лимфоциты, циркулирующие иммунные комплексы.

УДК 616.72 - 002.77

ПОРУШЕНИЯ В СИСТЕМІ ІМУНОБІОЛОГІЧНОГО НАГЛЯДУ ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ АУТОАГРЕСІЇ У ДІТЕЙ

Кисельова Л.П., Савво В.М., Панченко Л.О

Досліджено показники клітинної та гуморальної ланок імунітету у 89 хворих на ЮРА у крові та у 24 – у синовіальній рідині. Проведений кореляційний аналіз отриманих результатів з клінічними ознаками хвороби. Виявлена Т-клітинна інфільтрація синовіальної рідини, підвищення рівня ЦИК, негативний кореляційний зв'язок між даними показниками у крові і у синовіальній рідині. Отримані дані свідчать про можливу ведучу роль клону Т-лімфоцитів у ініціації та прогресуванні РА.

Ключові слова: артрит, лімфоцити, циркулюючі імунні комплекси.

UDC 616.72 - 002.77

**CHANGES IN THE IMMUNOBIOLOGICAL
CONTROL SYSTEM IN CHILDREN WITH IM-
MUNE AUTOAGGRESSION DISEASE**

Kyselyova L.P., Savvo V.M., Panchenko L.A.

We have studied in peripheral blood of 89 patients and synovial fluid of 24 patients diagnosed with rheumatoid arthritis (RA) the levels of CD3, CD4, CD8 T- lymphocytes, CD19 B-lymphocytes, Ig A,M,G, circulating immune complexes. We have also correlated the results with disease activity index. We have found the higher levels of T cells and circulating immune complexes in the synovial fluid. A negative correlation was found between T cells and circulating immune complexes in blood, T suppressors in blood and B-lymphocytes in the synovial fluid. T cells is still thought to be a central event in the initiation and progression of the disease.

Key words: arthritis, lymphocytes, circulating immune complex.