

СИСТЕМА ИНТЕРФЕРОНА У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ, ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСАМИ ГЕПАТИТА В и С

Р.М.Балабанова¹, Е.В.Вратских¹, Т.П.Оспельникова², В.И.Киселева³.

¹ГУ Институт ревматологии РАМН, Москва

²ГУНИИ эпидемиологии и микробиологии РАМН им. Н. Ф. Гамалеи, Москва

³Медицинский радиологический научный Центр РАМН, г.Обнинск

Резюме

Цель. Уточнить состояние интерференового статуса (ИНФ-статуса) у больных ревматоидным артритом (РА), ассоциированным с вирусами гепатита В, С и криоглобулинемией (КГМ).

Материал и методы. Проведено определение показателей ИНФ-статуса 74 больных с достоверным РА, распределенных на 4 группы: инфицированные вирусами гепатита С (НСV) и В (НВV) (соответственно 1 и 2 группы), 3 - РА с криоглобулинемией (КГМ), 4 - РА без гепатита В, С, КГМ. Показатели ИНФ-статуса определяли микрометодом в цельной гепаринизированной крови.

Результаты. У носителей вирусов гепатита (1 и 2 группы) существенно повышен титр циркулирующего ИНФ при глубоком подавлении ИНФ-продуцирующей способности иммуноцитов. У больных РА с гепатитом В угнетение продукции α и γ -ИНФ было максимальным (III степень), при РА с гепатитом С - несколько слабее (II степень).

Заключение. Изучение ИНФ-статуса больных РА, ассоциированным с вирусами гепатита и КГМ, является важным не только в теоретическом, но и в практическом отношении. Актуальность дальнейшего исследования этой проблемы обусловлена необходимостью выбора для терапии препаратов с учетом патологии системы ИНФ.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, система интерферона, криоглобулинемия, вирусы гепатита В и С.

Система интерферона (ИНФ) - неспецифическая система, направленная на защиту организма от чужеродной генетической информации и обеспечивающая тем самым нуклеиновый гомеостаз организма в целом [6, 7].

Система ИНФ сформировалась у позвоночных в филогенезе одновременно с возникновением иммунной системы, отличаясь уже на ранних этапах формирования элиминацией чужеродных нуклеиновых кислот со специфическими механизмами их распознавания. В отличие от эволюции иммунной системы, которая шла по пути увеличения разнообразия антител и специализации клеток иммунной системы (В- и Т- лимфоциты, хелперы, супрессоры, эффекторы), система ИНФ совершенствовалась по пути видовой специфичности распознавания "своего от чужого" [6], что сделало ее важнейшим фактором неспецифической резистентности организма.

Среди многочисленных механизмов действия ИНФ, таких как противовирусный, антимикробный, антипролиферативный, антитуморогенный и др., наиболее важным для ревматологии является иммуномодулирующий (за счет стимуляции фагоцитоза, активности естественных киллеров, экспрессии главного комплекса гистосовместимости, угнетения выработки антител, пролиферации лимфоцитов, реакций гиперчувствительности замедленного типа) [6].

ИНФ- α синтезируют практически все иммуноциты, но преимущественно макрофаги и В-лимфоциты. Основными продуцентами ИНФ- β являются клетки фибробластного и эпителиоидного типа, ИНФ- γ - Т-лимфоциты с участием вспомогательных клеток, в основном моноцитов и макрофагов [7].

Ф. И. Ершовым в 1986 г для характеристики функциональной активности системы ИНФ организма было предложено интегральное понятие - "интерфероновый ста-

тус" [6], включающее содержание различных типов ИНФ в циркулирующей крови, способность клеток продуцировать ИНФ. В норме физиологический ИНФ-статус характеризуется низкими концентрациями ИНФ в сыворотке крови вместе с выраженной способностью лейкоцитов и лимфоцитов продуцировать α и γ -ИНФ [6, 7, 14].

При обследовании здоровых лиц установлено, что в подавляющем большинстве случаев титры циркулирующего ИНФ не превышают фоновых значений ($\leq 2-8$ МЕ\мл), у 80% наблюдается высокий уровень ИНФ- α ($\geq 640-1280$ МЕ\мл) и средний уровень ИНФ- γ ($\geq 32-64$ МЕ\мл), ИНФ спонтанный ≤ 2 ЕД\мл [6].

Нарушения интерферогенеза могут быть первичными или вторичными (приобретенными). Первичная недостаточность интерферообразования может быть связана с дефектами генов, контролирующих продукцию ИНФ. Примером могут служить цитогенетические аномалии 5-й хромосомы, где локализируются гены, контролирующие продукцию ИНФ. К настоящему времени изучено состояние системы ИНФ у больных, страдающих различными острыми и хроническими вирусными, онкологическими, аутоиммунными, аллергическими и другими заболеваниями. Однако нет единого мнения в отношении того, является ли дефицит системы ИНФ первичной причиной возникновения различных заболеваний или же, напротив, эти заболевания приводят к развитию вторичного дефицита системы ИНФ [5, 7-11]. Решение этого вопроса особенно значимо для хронических заболеваний, т. к. вирусы, являясь иммуносупрессорами и персистируя в организме хозяина, вызывают нарушения как в системе иммунитета, так и в системе ИНФ. С другой стороны, возможно, именно дефект в системе ИНФ способствует хронизации вирусной инфекции, в том числе при ревматических заболеваниях.

Ранее нами было показано, что у больных РА снижена способность лейкоцитов и лимфоцитов к продукции α - и γ -ИНФ [1-3, 12, 13, 15, 16, 17].

Цель настоящего исследования: уточнить состояние ИФН статуса у больных РА, течение которого осложнено инфицированием вирусами гепатита В, С.

Материал и методы

Нами обследовано 74 пациента (26 муж, 48 жен) с достоверным диагнозом РА по критериям Американской Коллегии Ревматологов, 1987. Клиническая характеристика больных приведена в таблице 1. Возраст больных варьировал от 17 до 70 лет и в среднем составил $48,93 \pm 11,52$ лет; средняя продолжительность заболевания - $63,7 \pm 69,7$ мес (от 2 до 302 мес). Преимущественное большинство составили больные II (42 чел) и III степени активности РА (20 чел). Серопозитивными по ревматоидному фактору были 56 больных (75%).

Все пациенты были разделены на 4 группы:

1 группу составили 19 больных РА, инфицированных вирусом гепатита С, из них фаза репликации вируса - у 16 больных; во 2 группу включены 22 пациента с РА, инфицированных вирусом гепатита В, из них фаза репликации вируса - у 3 человек; 3 группу составили 14 больных РА с криоглобулинемией (КГМ); в 4 группу были включены 19 больных РА без сопутствующей вирусной инфекции и КГМ. Вирусологическая характеристика обследованных пациентов приведена в таблице 2. Определение маркеров вирусов гепатита В, С проводилось на базе отдела радиационной биохимии (рук. отдела - д.м.н., проф А.С.Саенко) Медицинского радиологического научного Центра РАМН, г. Обнинск.

ИФН статус оценивали путем определения сывороточного, спонтанного ИФН, способности продуцировать ИФН- α , ИФН- γ лейкоцитами при его индукции in vitro вирусом Ньюкасла (ГУНИИ эпидемиологии и микробиологии РАМН им. Н.Ф. Гамалеи, лаборатория интерферонотерапии, зав.лаб. д.м.н. акад. РАМН Ф.И. Ершов). Показатели ИФН статуса определяли микрометодом в цельной гепаринизированной крови [4].

Кровь забирали из вены в объеме 0,5-1,0 мл и переносили в стерильную центрифужную пробирку, содержащую 10-20 Ед гепарина. Определение показателей ИФН статуса осуществляли в стерильных 96-луночных круглодонных планшетах в 3-х повторях (9 лунок на каждую пробу). В лунки, содержащие каждая по 160 мкл среды RPMI - 1640 (с глутамином и гентамицином), вносили в первые три - по 20 мкл ВБН (вирус болезни Ньюкасла, штамм Канзас), а во вторые - по 20 мкл ФГА, в третьи - по 20 мкл среды RPMI - 1640, затем во все 9 лунок - по 20 мкл цельной крови. Содержимое каждой лунки перемешивали. Планшеты закрывали крышкой и инкубировали при 37°C 24 часа в атмосфере 5% CO_2 . Оставшуюся кровь центрифугировали для получения сывороточного ИФН.

Определение активности ИФН: титрование ИФН проводили в 96-луночных плоскодонных планшетах с диплоидной культурой фибробластов человека М19 в среде Игла с 2% бычьей сывороткой (10^5 кл/мл). Предварительно куль-

Таблица 1
Клиническая характеристика больных РА

Параметры	Количество больных n=74	% от общего числа пациентов
Жен	48	64,9
Муж	26	35,1
Возраст, годы	$48,93 \pm 11,52$	
До 20	1	1,4
20-40	16	21,6
41-60	45	60,8
старше 60	12	16,2
Длительность РА, мес.	$63,7 \pm 69,7$	
Менее 1 года	6	8,1
1-3 года	21	28,4
4-6 лет	6	8,1
7-10 лет	15	20,2
более 10 лет	26	35,2
Серопозитивные по РФ	56	75
Активность РА: I степень	12	16,2
II степень	42	56,8
III степень	20	27
Рентгенологические стадии		
1	18	24,3
2	33	44,5
3	11	14,9
4	12	16,3

туру клеток М-19 в объеме 200 мкл на 1 лунку выращивали 24-48 часов (до образования сплошного монослоя) при 37°C 24 часа в атмосфере 5% CO_2 . В качестве тест-вируса использовали вирус везикулярного стоматита, штамм Индиана. За единицу активности ИФН принимали величину, обратную его разведению, задерживающую деструкцию монослоя на 50% (МЕ/мл). В каждое титрование брали референс-ИФН с известной активностью, любезно предоставленный профессором В. П. Кузнецовым.

Результаты исследования

ИФН статус у обследованных больных отличался от показателей у здоровых лиц. Так, у носителей вирусов гепа-

Таблица 2
Вирусологическая характеристика больных РА

Маркеры	1 группа РА+НСВ n=19		2 группа РА+НВВ n=22		3 группа РА+ КГМ n=14		4 группа РА n=19	
	Абс. число	% от группы	Абс. число	% от группы	Абс. число	% от группы	Абс. число	% от группы
HBsAg	-	-	12	54,5	-	-	-	-
At HBsAg	-	10,5	12	54,5	-	-	-	-
At HBcor суммар.	1	5,2	18	81,8	-	-	-	-
At HBcor IgM	1	5,2	1	4,5	-	-	-	-
HBeAg	1	5,2	1	4,5	1	7,1	-	-
At HBeAg	-	-	19	86,3	-	-	-	-
At HCV суммар.	19	100	1	4,5%	-	-	-	-
At HCV IgM	13	68,4	-	-	-	-	-	-
DNA HBV	-	-	3	19	-	-	-	-
RNA HCV	16	3	-	-	-	-	-	-

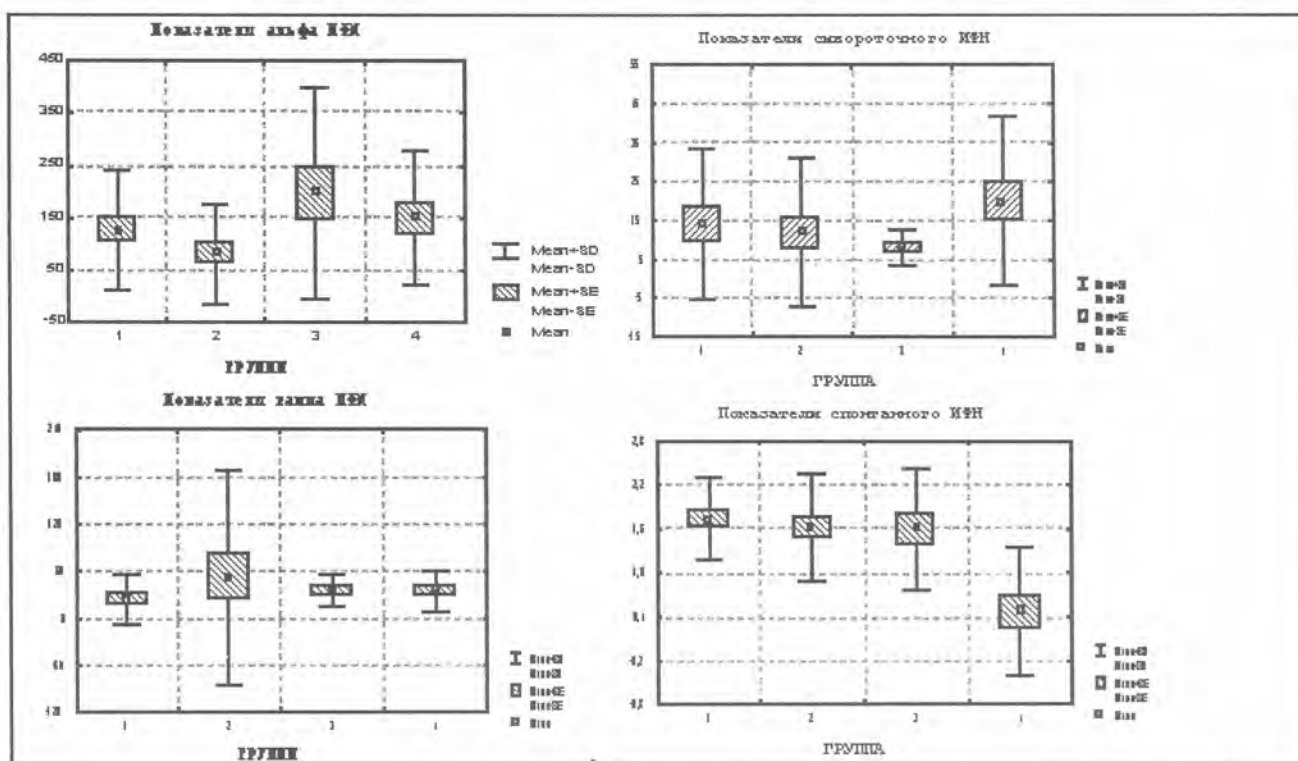


Таблица 3

Показатели ИФН статуса у больных РА с сопутствующим инфицированием ВГВ, ВГС и криоглобулинемией

Показатель, МЕ/мл	1 группа РА+HCV n=19	2 группа РА+HBV n=22	3 группа РА+KGM n=14	4 группа РА n=19	Норма
α - ИФН	126,31±11	79,61±94,78	196,6±201,83	150,55±129,8	640-1280
Min	5,3	8	40	8	1280
Max	8	320	640	20	
Медиана	320	32	80	480	
	80			100	
γ - ИФН	24,63±31,2	51,71±136,36	35,2±20,9	35,33±26,6	32-64
Min	2	6	8	16	
Max	128	2	64	128	
Медиана	16	640	32	16	
		16			
Сывороточный ИФН	14,1±19,4	11,8±19,18	8±4,5	20±21,6	2-8
Min		0	4	0	< 4
Max	2	80	16	64	
Медиана	8				
Спонтанный ИФН	1,73±0,5	1,6±0,74	1,6±0,8	0,47±0,8	< 2
Min	0	0	0	0	
Max	2	2	2	2	
Медиана	2	2	2	0	

тита (1 и 2 группы) был существенно повышен титр циркулирующего ИФН при глубоком подавлении ИФН-продуцирующей способности иммуноцитов. У больных РА с гепатитом В угнетение продукции α и γ-ИФН было максимальным (III степень), при РА с гепатитом С - несколько слабее (II степень).

Полученные нами данные выявили некоторые статистически значимые различия в ИФН статусе у обследованных больных (таблица 3, рисунок).

При проведении множественного сравнения групп с использованием теста Ньюмена-Кейлса получено достоверное различие между показателями спонтанного ИФН у больных неосложненным РА и РА с сопутствующим инфицированием вирусом гепатита С ($p=0,000004$), вирусом гепатита В ($p=0,000014$), КГМ ($p=0,00069$).

Состояние системы ИФН у больных РА с КГМ можно расценить как промежуточное между показателями 1, 2 и 4

групп. Фоновые показатели циркулирующего ИФН у этой группы больных сочетались с умеренной недостаточностью α и γ-ИФН (I и II степени). При проведении множественного сравнения групп с использованием теста Ньюмена-Кейлса получено достоверное различие между показателями - ИФН во 2 и 3 группах ($p=0,01$).

У больных РА без гепатита В и (или) С изменения ИФН статуса оказались не столь выраженными, как у пациентов 1 и 2 групп, хотя у них обнаружился сывороточный ИФН, снижение продукции α-ИФН I и II степени.

Обсуждение

Определение ИФН-статуса при стрессах, острых вирусных и бактериальных инфекциях (грипп, ОРВИ, микоплазменные пневмонии, гепатит) и аллергических заболеваниях показало различную степень его нарушений, проявляющихся в основном глубоким подавлением ИФН-про-

дуцирующей способности иммуноцитов [21]. При хронических заболеваниях вирусной природы (герпес, гепатит) наблюдается особо глубокое подавление интерфероногенеза, причем степень подавления, как правило, коррелирует с тяжестью хронического процесса. Реже встречается выпадение одного из звеньев системы ИФН, что выражается в подавлении продукции ИФН- α и ИФН- γ . Так, при аутоиммунных заболеваниях (системной красной волчанке, РА), на фоне умеренного уровня циркулирующего ИФН- γ обнаружена ингибция продукции лейкоцитами ИФН- α [19].

Наши ранние работы также свидетельствуют о нарушении ИФН-статуса при РА [1-3, 12, 13, 15, 16, 17]. Частота рецидивирующих вирусных инфекций свидетельствует о дефекте противовирусного барьера у этих больных.

Распространенность гепатита в России не может нестораживать, т.к. по мнению экспертов ВОЗ, свыше 90% первичного рака печени этиологически связано с вирусами гепатита В, С. Более того, вирусные гепатиты среди всех вирусных инфекций занимают первое место по летальности [18, 20].

ЛИТЕРАТУРА

- Балабанова Р. М. Иммуномодулирующая терапия ревматоидного артрита. Тер. архив, 1991, 63, 5, 124-129.
- Балабанова Р. М., Деметьева С. П., Панасюк А. Ф., Миронова Л. Л. Система ИФН при ревматоидном артрите. Тер. архив, 1989, 61, 5, 15-18.
- Балабанова Р. М., Егорова О. Н. Новые подходы к терапии ревматоидного артрита. Тер. архив, 1996, 68, 12, 78-82.
- Григорян С.С., Майоров М. А., Иванова А. М., Ершов Ф. И. Оценка интерферонового статуса по пробам цельной крови. Вopr. вирусол., 1988, 4, 433-436.
- Ершов Ф. И. Противовирусные средства. Клинич. фармакол. и терапия, 1995, 4, 72-75.
- Ершов Ф. И. Система интерферона в норме и при патологии. М., Медицина, 1996, 135-145.
- Ершов Ф. И., Жданов В.М. Интерферон и гомеостаз. Вестник АМН СССР, 1985, 7, 35-40.
- Ершов Ф.И., Чижов Н.П. Лечение вирусных инфекций. Клинич. фармакол. и терапия, 1995, 4, 75-78.
- Игнатова Т.М. Хронический гепатит С: клинико-морфологическая характеристика, течение, лечение. Дисс. д.м.н. М., 2000, 40.
- Крель П. Е. α -интерферон в лечении хронических вирусных заболеваний печени. Medical market, 2000, 34, 1, 20-21.
- Крель П. Е., Игнатова Т. М., Апросина З. Г., Вязов С. О. Опыт лечения хронического вирусного гепатита С ИФН- α и комплексом цитокинов. Клинич. фармакол. и терапия, 1996, 5, 1, 24-29.
- Насонова В.А., Балабанова Р.М., Плесковская Г.Н. и соавт. Эффективность индукторов эндогенного интерферона на течение аутоиммунного процесса у F1 и бредных NZB\NZW мышей. Вopr. вирусол., 1990, 35, 5, 408-411.
- Олонин Ю.А., Балабанова Р.М. Комбинированная иммуномодулирующая терапия при ревматоидном артрите. Тер. архив, 1996, 68, 5, 13-16.
- Оспельникова Т. П. Системы интерферона и иммунитета при воспалительных гинекологических заболеваниях. Коррекция нарушений индукторами интерферона. Диссер. к. м.н. М., 1998, 12.
- Сейланов Л.С., Балабанова Р.М. Система интерферона при ревматоидном артрите. Ревматол., 1990, 2, 54-60.
- Шегловитова О. Н., Балабанова Р. М., Кульева А. М. и соавт. Система интерферона у больных ревматоидным артритом и системной склеродермией. Вopr. вирусол., 1993, 37, 154-60.
- Ярилина А. А., Никонова М. Ф., Литвина М. М., Балабанова Р. М., Ярилин А. А. Эффект ?-2b-интерферона на функциональную активность Т- лимфоцитов у больных ревматоидным артритом in vitro и in vivo. Тер. архив, 2000, 72, 5, 9-17.
- Davis G.L., Hoofnagle J. H. Interferon in viral hepatitis: role in pathogenesis and treatment. Hepatol., 1986, 6, 5, 1038-1041.
- Kurichara T., Abe K., Ishiguro H. et al. Effect of interferon therapy in patient with chronic active hepatitis type C associated with interstitial pneumonia and rheumatoid arthritis: a case report. Clin. Ther., 1994, 16, 1028-1035.
- Tolentino P., Dianzani F., Zucca M., Gianchino R. Decreased interferon response by lymphocytes from children with chronic hepatitis. J. Interf. Res., 1992, May, 3-6.
- Uze G., Lutella G. Mogensen K. E. Review: ? and ?- interferons and their receptors and their friends and relations. J. Interf. Res., 1995, 15, 1, 3-26.

Absract

Interferon system in patients with rheumatoid arthritis infected with hepatitis B and C viruses.

R.M. Balabanova, E.V. Vratskih, T.P. Ospelnikova, V.I. Kiseleva

Objective. To assess interferon (IFN) status state in pts with rheumatoid arthritis (RA) associated with hepatitis B and C viruses and cryoglobulinemia (CGM).

Material and methods. IFN status was assessed in 74 pts with definite RA divided in 4 groups: infected with viruses of hepatitis C (HCV) and B (HBV) (respectively group 1 and 2), RA with CGM (group 3), RA without hepatitis B, C and CGM. IFN status indices were assessed with micromethod in hole heparinized blood.

Results. Hepatitis viruses carriers (groups 1 and 2) had significantly elevated circulating IFN level and deep immunocytes IFN producing ability down regulation. In HBV+ RA pts and IFN production decrease was maximal (degree III), in HCV+ RA pts - weaker (degree II).

Conclusion. IFN status examination in pts with RA associated with hepatitis viruses and CGM has not only theoretical but also practical importance. Actuality of further study of this problem is determined by necessity of appropriate treatment selection considering IFN system pathology.

Key words: rheumatoid arthritis, interferon system, cryoglobulinemia, hepatitis B and C viruses

Поступила 4.04.03