

ной и третичной профилактики и, особенно, с точки зрения мишеней для их проведения, в том числе необходимо представить себе, какие нужны условия для оказания помощи в конкретном регионе. Немаловажное значение имеет исследование экономики здравоохранения, собственно экономики и механизмов дальнейшего использования установленных показателей течения болезни (процесса), объективная оценка исходов состояния здоровья.

Основной стратегией в улучшении диагностики и лечения мышечно-скелетных нарушений является усовершенствование образованности в отношении этих болезней и их бремени в обществе. При этом специальный аспект должен касаться влияния на обучающие программы в медицинских академиях и университетах России, а также улучшения препода-

вания ревматологии, с точки зрения диагностики и мастерства, врачам первого контакта. В образовательных программах рекомендуется предусмотреть тщательное изучение основ профилактики и лечения мышечно-скелетных заболеваний, рекомендовать в практику такие лекарства, которые обладали бы модулирующей болезнью способностью и минимумом побочных эффектов, шире пропагандировать реабилитационные мероприятия, включая сберегающие хирургические вмешательства.

Рабочее совещание ВОЗ видит конечный результат Декады в снижении на 25% частоты суставной деструкции и остеопоретических переломов, тяжелых травм конечностей, прямых и не прямых расходов на медицинскую помощь больным с болями в спине.

Поступила 11.12.200 г.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК: 616.72-002.77-092

КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ ГИСТОХИМИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ СИСТЕМЫ КРОВИ И РЕВМАТОИДНЫМ ФАКТОРОМ У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

*А.Б.Зборовский, Б.В.Заводовский, А.В.Рвачев, О.В.Быкова,
Т.В.Сердюкова, Т.А.Панкратова.*

Лаборатория методов лечения заболеваний суставов (зав. - к.м.н. Б.В.Заводовский) Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной ревматологии РАМН (дир. - акад. РАМН А.Б.Зборовский), г. Волгоград и кафедра госпитальной терапии Волгоградской медицинской академии (рект. - акад. РАМН В.И.Петров)

Резюме

У 83 больных ревматоидным артритом с интервалом в 3 недели определяли ревматоидный фактор и гистохимические показатели - активность 5'нуклеотидазы в нейтрофилах, лимфоцитах, моноцитах, сукцинатдегидрогеназы - в лимфоцитах, миелопероксидазы - в моноцитах и нейтрофилах, Na^+ - K^+ АТФ-азы в лимфоцитах и нейтрофилах. Изучались статистические связи между гистохимическими показателями и ревматоидным фактором при параллельном (одновременном) определении данных показателей, а также при их последовательном определении. Показано, что гистохимические показатели опережают появление ревматоидного фактора на 3 недели. Выявлено, что образование ревматоидного фактора в большей степени связано с нарушением функции макрофагов, чем лимфоцитов и нейтрофильных гранулоцитов. Для прогнозирования уровня ревматоидного фактора наиболее воспроизводимые результаты получаются при

определении миелопероксидазы в моноцитах. Обсуждается роль макрофагальной системы при ревматоидном артрите.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, ревматоидный фактор, макрофаги, лимфоциты, нейтрофилы, миелопероксидаза, сукцинатдегидрогеназа, 5'нуклеотидаза, $Na^+ - K^+$ АТФ-аза.

Введение.

В патогенезе ревматоидного артрита (РА) важное место занимают иммунные нарушения. При РА обнаружен широкий спектр аутоантител к коллагенам, гликозаминогликанам, ДНК, антинуклеарные антитела. Наиболее изученной группой аутоантител, участие в патогенезе которых доказано наиболее полно, являются ревматоидные факторы (РФ), представляющие собой антитела к Fc-фрагменту агрегированного IgG человека. Наличие РФ ассоциируется при РА с некоторыми клиническими проявлениями: ревматоидный фактор чаще выявляется при системных проявлениях РА, IgG-РФ повышается при поражении сердечно-сосудистой системы, щитовидной железы, ревматоидном васкулите, IgM-РФ повышается при поражении скелетных мышц, щитовидной железы, IgA-РФ повышается при поражении кожи; при серопозитивном РА более эффективны базисные препараты. Снижение титров РФ сопровождается клиническим улучшением. [2]. Таким образом, информация об иммунном статусе больных РА может дать возможность прогнозировать обострения данного заболевания.

Целью работы было прогнозирование иммунологических нарушений при РА за 2-3 недели до их появления путем определения энзимов в клетках крови больных.

В основе исследования лежит следующая рабочая гипотеза. Как известно, иммунный ответ включает в себя 3 основные фазы [8]:

1. фазу распознавания, во время которой макрофаги и лимфоциты реагируют с чужеродным антигеном;
2. фазу активации, заключающуюся в клональной пролиферации и дифференцировке лимфоцитов, распознающих соответствующие антигены;
3. эффекторную фазу, которая приводит к элиминации чужеродного антигена из организма.

Наибольший интерес вызывает 2 фаза иммунного ответа, которая начинается с процессов презентации антигенов и активации лимфоцитов. В ходе этого процесса в иммунных клетках наступают некоторые метаболические изменения, которые могут быть обнаружены

лабораторными методами. Так, при активации лимфоцитов уже через 2 минуты в них нарастает количество $Na^+ - K^+$ АТФ-азы [3], через 8 часов меняется уровень 5'нуклеотидазы [3], через 24-48 часов растет количество дегидрогеназ, например сукцинатдегидрогеназы [12]. Аналогичные изменения выявляются и в клетках фагоцитарного ряда. При активации последних растет активность миелопероксидазы, лейцинаминопептидазы, щелочной фосфодиэстеразы I и снижается уровень 5'нуклеотидазы. Параллельно с этими процессами растет количество DR-антигенов на мембранах макрофагов, происходит выработка интерлейкинов [3].

После активации лимфоцитов наступает этап пролиферации и дифференцировки, протекающий в органах иммунной системы - лимфатических узлах, селезенке, костном мозге. Итогом данного этапа является образование короткоживущих плазматических клеток, продуцирующих антитела, в частности, ревматоидные факторы. Между активацией клеток иммунной системы и образованием плазматиков проходит 2-3 недели.

Таким образом, теоретически возможным является прогнозирование иммунных нарушений путем определения энзимов в клетках периферической крови.

Клиническая характеристика больных.

Под нашим наблюдением находилось 83 больных с достоверным диагнозом РА, из которых 69 женщин (83,13%), 14 мужчин (16,87%) в возрасте от 17 до 76 лет. Диагноз ставился на основании критериев Американской Ревматологической Ассоциации [8]. Средний возраст больных составлял $49,67 \pm 1,49$ лет. Средняя длительность заболевания составила $8,47 \pm 0,89$ лет. Среди больных, находившихся под наблюдением, минимальную степень активности РА (I) имели 21 человек, среднюю (II) - 55, максимальную (III) - 7 пациентов. Медленнопрогрессирующее течение диагностировано у 46 больных, быстро прогрессирующее - у 37 пациентов. Рентгенологическая стадия поражения суставов по Steinbrocker: у 3 пациентов - 0 стадия, у 13 - I, у 36 - II, у 29 - III, у 2 - IV. У 1 больного нарушения функции суставов не выявлено, у 9 пациентов отмечалась ФНС I сте-

пени, у 67 - II и у 6 - III степени. Суставная форма РА верифицирована у 47 пациентов. Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц - доноров станции переливания крови.

Материалы и методы исследования.

У больных с интервалом в 3 недели определяли РФ и гистохимические показатели - активность 5'нуклеотидазы (5НТ) в нейтрофилах, лимфоцитах, моноцитах, сукцинатдегидрогеназы (СДГ) - в лимфоцитах, миелопероксидазы (МП) - в моноцитах и нейтрофилах, Na^+K^+ АТФ-азы (АТФ-аза) в лимфоцитах и нейтрофилах. Изучались статистические связи между гистохимическими показателями и РФ при параллельном (одновременном) определении данных показателей, а также при их последовательном определении.

Активность ферментов определялась в мазках лейкоконцентрата периферической кро-

АТФ-азы учитывался процент клеток, дающих положительную реакцию на данный фермент. При учете реакции на СДГ подсчитывалось среднее количество гранул осадка диформаза на (в пересчете на 1 клетку). Ревматоидный фактор определялся методом латекс-агглютинации с использованием реагента производства НПФ DAC-Spectromed (Кишинев, Молдова). Статистическая обработка результатов проводилась с использованием статистического пакета «Statistica for Windows».

Результаты исследований и их обсуждение.

В таблице 1 представлены данные, отражающие связь между гистохимическими показателями РФ у больных РА при параллельном (одновременном) определении.

Серопозитивные и серонегативные по РФ пациенты отличались только по уровню Na^+K^+ АТФ-азы в нейтрофилах. Интенсивность

Таблица 1.

Связь между гистохимическими показателями и ревматоидным фактором при РА при параллельном (одновременном) определении

Показатель	Уровень энзимов в клетках крови у доноров (n=30)	Уровень энзимов в клетках крови при первом обследовании у больных	
		Серопозитивных по РФ при первом обследовании (n=63)	Серонегативных по РФ при первом обследовании (n=20)
СДГ в лимфоцитах	26,62±1,44	25,60±1,74	20,76±3,68
АТФаза в лимфоцитах	5,72±1,00	17,85±3,99 #	34,15±6,86 #
АТФаза в нейтрофилах	14,60±1,81	26,47±7,47	66,97±11,74 *#
5НТ в нейтрофилах	60,00±10,34	73,72±12,44	63,33±18,13
5НТ в лимфоцитах	70,18±10,11	89,04±16,93	81,66±30,45
5НТ в моноцитах	75,00±5,91	65,95±10,68	65,83±20,63
МП в нейтрофилах	207,82±0,95	199,37±0,57 #	200,16±0,60 #
МП в моноцитах	117,55±1,77	151,41±2,68 #	143,50±4,63 #

Примечания:

* - Достоверные различия между серопозитивными и серонегативными по РФ больными ($p < 0,05$)

- Достоверные различия с группой доноров

ви гистохимическими методами. МП - методом Грэхема с использованием в качестве субстрата α -нафтола [7], 5НТ и АТФ-аза - методом с солями свинца по Вахштейну и Мейзель [1], СДГ - методом Нахласа в модификации Р.П.Нарцисова [6]. Активность 5НТ, МП учитывалась с использованием гистохимического коэффициента, определяемого в соответствии с принципом Астальди [6]. При определении

обмена веществ в лимфоцитах и макрофагах не влияла на иммунологические показатели. Мы связываем это с тем, что РФ, входя в состав иммунных комплексов, активирует эффекторное звено иммунитета (3 фазу иммунного ответа), стимулирует миграцию нейтрофилов в очаг воспаления. Это находит отражение в клеточном составе синовиальной жидкости больных РА, в которой как известно, пре-

обладают именно нейтрофильные гранулоциты [5], а также в обнаруженных нами энзимных изменениях.

тивными по РФ. Уровень энзимов в нейтрофилах не влиял на уровень РФ. Нам представляется интересным тот факт, что наличие РФ свя-

Таблица 2.

Связь между гистохимическими показателями и ревматоидным фактором при РА при последовательном (с интервалом в 3 недели) определении

Показатель	Уровень энзимов в клетках крови у доноров (n=30)	Уровень энзимов в клетках крови при первом обследовании у больных	
		Серопозитивных по РФ при втором обследовании (n=55)	Серонегативных по РФ при втором обследовании (n=28)
СДГ в лимфоцитах	26,62±1,44	24,95±2,27	14,46±1,23* #
АТФаза в лимфоцитах	5,72±1,00	25,09±5,17 #	34,24±6,95 #
АТФаза в нейтрофилах	14,60±1,81	51,77±9,07 #	59,97±7,80 #
5НТ в нейтрофилах	60,00±10,34	46,62±8,80	95,75±43,12
5НТ в лимфоцитах	70,18±10,11	52,93±10,27	131,25±20,89* #
5НТ в моноцитах	75,00±5,91	45,87±8,11	106,50±17,21 * #
МП в нейтрофилах	207,82±0,95	199,52±0,90 #	198,80±1,88 #
МП в моноцитах	117,55±1,77	153,41±3,61 #	133,20±6,80 * #

Примечания:

* – Достоверные различия между серопозитивными и серонегативными по РФ больными (p < 0,05)

– Достоверные различия с группой доноров

При исследовании связи между гистохимическими показателями и РФ при последовательном определении (с интервалом в 3 неде-

зано с маркерами активации макрофагов - снижением 5НТ и повышением МП в моноцитах, что говорит о важной роли мононуклеарных фагоцитов в генерации РФ.

Таблица 3.

Прогнозирование иммунологических сдвигов при РА методом многофакторного регрессионного анализа

ПОКАЗАТЕЛЬ	Коэффициент	Достоверность (P)
СДГ в лимфоцитах	0,07492	0,690
АТФаза в лимфоцитах	-0,38819	0,097
АТФаза в нейтрофилах	0,31480	0,203
5'нуклеотидаза в нейтрофилах	1,66984	0,064
5'нуклеотидаза в лимфоцитах	-0,51694	0,358
5'нуклеотидаза в моноцитах	-1,33911	0,087
Миелопероксидаза в нейтрофилах	0,41153	0,078
Миелопероксидаза в моноцитах	0,70509	0,006

ли) были получены следующие результаты (таблица 2). РФ выявлялся только у тех больных, у которых за 3 недели до определения РФ была достоверно более высокая активность СДГ в лимфоцитах, МП в моноцитах, а также имело место снижение 5НТ в лимфоцитах и моноцитах по сравнению с больными, серонегативными по РФ.

Учитывая то, что уровень РФ зависел сразу от нескольких показателей, мы подвергли наши данные многофакторному регрессионному анализу с целью выявить один показатель, который в наибольшей степени отражал прогностические возможности гистохимических методов и который мог быть рекомендован для практического применения. Результаты регрессионного анализа могут быть представлены формулой вида: $Y = k_1 * X_1 + k_2 * X_2 + \dots + k_n * X_n$, где Y - геометрический титр РФ при втором определении, $X_1 - X_n$ - изучаемые гистохимические показатели при первом определении (усредненные значения которых приведены в таблице 2), $k_1 - k_n$ - коэффициенты. Величина коэффициентов $k_1 - k_n$, их значения и достоверность приведены в таблице 3. Из таблицы видно, что РФ был в наи-

большей степени связан с уровнем МП в моноцитах. Остальные показатели были менее значимыми и не повышали информативность математической модели.

Полученные данные представляются нам интересными с тех позиций, что дают возможность заранее прогнозировать появление в крови РФ. Если данные антитела действительно участвуют в патогенезе РА (а не простые свидетели аутоиммунного воспаления), то появляется возможность прогнозировать обострение РА путем регулярного мониторинга за уровнем МП в моноцитах периферической крови.

В литературе, посвященной механизмам образования РФ при РА, в основном делается акцент на нарушение функции В-лимфоцитов. Рассматривается, в частности, поликлональная активация лимфоцитов, вызванная вирусами, например, Эпштейна-Барр [4]. Нарушению фагоцитоза при этом заболевании уделялось меньше внимания.

Мы попытались по данным литературы и результатам собственных исследований представить все возможные механизмы (в том числе гипотетические), которые могут вызвать нарушения фагоцитоза при РА, способствовать образованию РФ и давать гистохимические изменения, аналогичные обнаруженным нами.

Нарушение функции фагоцитов может быть вызвано следующими факторами:

1. Известно, что РА ассоциируется с наличием некоторых антигенов гистосовместимости класса II, например, HLA DR4 [8]. Механизмы реализации «патогенных» свойств данных антигенов до сих пор не выяснен. DR-антигены являются рецепторами иммунокомпетентных клеток. Наиболее изученной их функцией является участие в презентации антигена от макрофага Т-лимфоциту. Мы считаем, что при РА имеется наследственная неполноценность DR-антигенов, приводящая к нарушению процессинга и презентации антигенов. Следствием данных процессов могут стать нарушение специфичности антителообразования и обнаруженные нами биохимические изменения в иммунокомпетентных клетках.
2. Обнаруженным ранее дефектом гликозилирования молекулы IgG при РА [9]. Данный феномен рассматривался как причина антигенности иммуноглобулинов при РА. Мы предполагаем, что дефектная молекула IgG препятствует нормальной опсонизации и

утилизации иммунных комплексов при РА, что может найти отражение в метаболических процессах в моноцитах.

3. Устойчивостью антигенов (или возбудителей РА) к протеолитическим ферментам макрофага.
4. Персистенцией вирусов внутри клеток фагоцитарного ряда.
5. Нельзя исключить роль наследственных ферментных дефектов, приводящих к неполноценному фагоцитозу.

Из данных литературы известно, что РФ не строго специфичен для РА. Данный феномен встречается при СКВ, болезни Шегрена, ССД и других ревматических и неревматических заболеваниях, туберкулезе, проказе, вирусных инфекциях [8]. Большинство из них сопровождается неспособностью мононуклеарных фагоцитов элиминировать возбудители или иммунные комплексы из организма. В свете наших данных можно предположить, что РФ является общим иммунологическим феноменом, сопровождающим нарушенный фагоцитоз. Более частое выявление РФ при РА, очевидно, связано с тем, что при этом заболевании нарушения функции макрофагов выражены наиболее резко.

В лечении РА широко используются базисные препараты, которые способны накапливаться в клетках ретикулоэндотелиальной системы. Имеются многочисленные подтверждения того, что в механизме их действия большую роль играет влияние на процессы фагоцитоза и презентации антигенов [11, 13]. Логично предположить, что у больных с наиболее нарушенной функцией макрофагов (т.е. с серопозитивным РА, при котором выявлен максимальный уровень МП в моноцитах), данные препараты должны оказывать наибольший эффект, что и было обнаружено в ранее проведенных исследованиях [2, 10].

Таким образом, при РА выявлены изменения функции мононуклеарных фагоцитов, тесно связанные с иммунологическими показателями. Изучение системы макрофагов может расширить наши представления о патогенезе РА, способствовать созданию новых методов лечения данного заболевания.

Выводы.

1. Определение энзимов в клетках крови может быть использовано для прогнозирования иммунологических нарушений при РА, уточнения механизмов патогенеза данного заболевания.

2. Теоретически возможным является прогнозирование обострений РА в амбулаторной практике.
3. По данным метода многофакторного регрессионного анализа образование РФ в большей степени связано с нарушением функции макрофагов, чем лимфоцитов и нейтрофиль-

ных гранулоцитов.

4. При прогнозировании уровня РФ методами математического моделирования наиболее воспроизводимые результаты получены при определении МП в моноцитах.
5. При появлении в крови РФ параллельно растет уровень Na^+-K^+ АТФ-азы в нейтрофилах.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Бутенко З.А., Глузман Д.Ф., Зак К.П. Цитохимия и электронная микроскопия клеток крови и кровяных органов. Киев. «Наукова думка», 1978, 248.
2. Зборовский А.Б., Сивордова Л.Е., Деревянко Л.И., и др. Эффективность Д-пенициллина и метотрексата при лечении ревматоидного артрита в зависимости от уровня ревматоидных факторов разных классов. Тер. архив, 1999, 71, 1, 60-63.
3. Иммунология. Под ред. У.Пола. Т. I. М., Мир, 1987, 480.
4. Клиническая иммунология и аллергология. Под ред. Л.Йегера. Т.2. М., Медицина, 1990, 528.
5. Клиническая ревматология. Под ред. Х.Л.Ф.Каррея. М., Медицина, 1990, 448.
6. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник. Под ред. Меньшиков В.В. М., Медицина, 1987, 368.
7. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М., Мир, 1969, 648.
8. Ревматические болезни. Рук-во для врачей. Под ред. В.А.Насоновой, Н.В.Бунчука. М., Медицина, 1997, 520.
9. Ройт А. Основы иммунологии. М., Мир, 1991, 412.
10. Сейсенбаев А.Ш., Немцов Б.Ф., Алибекова Р.И., Овсянникова Р.С. Клиническое отражение иммунологической неоднородности ревматоидного артрита. Ревматология. 1987, 1, 12-17.
11. Сигидин Я.А., Жуковская Г.Н. Новый принцип лечения ревматоидного артрита - комбинированная базисная терапия. Клини. мед., 1990, 1, 119-124.
12. Хейгоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия. М., Медицина, 1983, 320.
13. Choy E., Panayi G. Mechanisms of action of second line agents and choice of drugs in combination therapy. Clin. Exp. Rheumatol., 1999, 17, 6, suppl. 18, 20-28.

Summary

Relation between rheumatoid factor (RF) and levels of Myeloperoxidase (MPO), Na^+-K^+ -ATPase (ATPase), 5'-Nucleotidase (5'-NT), Succinate dehydrogenase (SDG) in cells of peripheral blood of rheumatoid arthritis (RA) patients was investigated. 83 RA patients were observed. The activities of MPO, ATPase, 5'NT, SDG in blood cells were determined by histochemical methods. In patients having increasing MPO activity in monocytes, normal level of SDG in lymphocytes and decreasing of 5'NT in monocytes and lymphocytes increasing of RF level was noted in 3 weeks after histochemical changes ($p < 0.05$). Determination of MPO in monocytes was the most informative test for forecasting of immunological changes in RA. The role of macrophage system in RA is discussed.

Key words: RA, RF, macrophage, lymphocytes, myeloperoxidase, succinate dehydrogenase, Na^+-K^+ -ATPase.

УДК: 616.5-002.525.2-07

Поступила 03.08.2000 г.

ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКИ У РУССКИХ И ГРУЗИН

З.С.Алекберова,* В.А.Насонова,* Т.М.Решетняк,*

В.Г.Цитланадзе,** Е.Ю.Картвелишвили,** Н.Г.Каландадзе.**

Институт ревматологии (дир. - академик РАМН В.А.Насонова) РАМН, Москва*
Центр ревматологии Грузии, Тбилиси**

Резюме.

Представлен сравнительный анализ клинических признаков и лабораторных данных у больных СКВ в разных этнических и расовых группах (грузин и русских).

Ключевые слова: СКВ, этнические особенности.

Известно, что системная красная волчанка (СКВ), поражающая преимущественно мо-

лодых женщин, характеризуется широким спектром клинических и лабораторных проявлений.