

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ СИНДРОМА ИММУНО-ЭНДОКРИННОЙ ДИСФУНКЦИИ У БОЛЬНЫХ ОЧАГОВОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ В СТАДИИ ОБОСТРЕНИЯ

Проф. Я. Ф. КУТАСЕВИЧ, М. А. АТА

ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины», Харьков, Украина

Представлены результаты иммуноферментных исследований, проведенных в группе больных очаговой склеродермией в стадии обострения до лечения и после окончания терапии. Установлено достоверное повышение антител к нативной ДНК, что отражает развитие выраженных аутоиммунных реакций. У пациентов с дисфункциональными состояниями тимуса выявлены антитела к Р-протеину и актину миофибрилл миоидных клеток тимуса, что свидетельствует о формировании синдрома иммуноэндокринной дисфункции с участием активных клонов Т-лимфоцитов, повышенной гуморальной сенсibiliзацией и лимфоцитотоксичностью.

Ключевые слова: ограниченная склеродермия, синдром иммуноэндокринной дисфункции, иммуноферментные методы исследования, терапия.

На современном этапе развития дерматологии склеродермию рассматривают как аутоиммунное заболевание, в основе нарушений которого лежит взаимодействие аутоантигенов с лимфоидными клетками. При этом Т-хелперы, активированные экзо- или эндогенными факторами, вырабатывают лимфокины, стимулирующие фибробласты [1, 2]. Известно, что тимус является иммунокомпетентным органом и обеспечивает направленную дифференцировку и клональную селекцию иммунокомпетентных Т-лимфоцитов [3, 4]. Повышенный уровень коллагеновых белков — источник активной антигенной стимуляции — создает фон, на котором при генетической предрасположенности происходят аутоиммунные реакции. У больных очаговой склеродермией (ОСД) в стадии обострения возникает порочный круг взаимовлияния лимфоидных и коллагенсинтезирующих клеток за счет состояния дисфункции основного иммунокомпетентного органа — тимуса, что ведет к прогрессированию фиброзного процесса с формированием синдрома иммуноэндокринной дисфункции (СИЭД) [1, 7].

Оптимизация и повышение эффективности диагностики у больных этой категории могут быть достигнуты лишь при комплексном, объективно обоснованном подходе к выбору диагностических исследований возникающих клиничко-патогенетических механизмов с использованием новых иммуноферментных методов, ориентированных на распознавание ряда дисфункций при хронических дерматозах.

Цель данной работы — изучить особенности формирования СИЭД у больных ОСД на основании результатов иммуноферментных исследований, проведенных у них до и после лечения.

Под нашим наблюдением было 107 пациентов с ОСД в стадии обострения, находившихся на стационарном лечении в отделении дерматоло-

гии ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины» (Харьков) с 2014 по 2018 г. Все пациенты случайным образом были распределены на три сопоставимые по всем параметрам группы, которые произвольно формировались из больных, соответствующих критериям включения, и были репрезентативны по полу, возрасту, исходным клиническим и лабораторным показателям.

В основную группу вошли 33 (34,01%) больных ОСД, получавших комплексное лечение по схеме, методика которой была разработана в клинике института: традиционная терапия пенициллином по 5,0 млн в/м на протяжении 10–12 сут; витамином С 10,0%-ным — по 2,0 мл в/м 10–15 сут; никотиновой кислотой 1,0%-ной — по 1,0 мл в/м 10–15 сут; наружно — мазь «Траумель С» и аппликации с раствором димексида 1:4 (согласно стандартам терапии ОСД). В этой группе дополнительно проводилось лечение тиотриазолином 2,5%-ным по 4,0 мл в/м в течение 10–15 сут и цитофлавином по 10,0 мл на 200,0 мл физиологического раствора в/в капельно 10 сут с последующим переходом на таблетированную форму препарата (по 2 таблетки 2 раза в день) — 25 сут.

В I группу сравнения было включено 34 (35,05%) пациента, получавших только традиционную терапию; во II — 30 (30,92%) больных, которые лечились по схеме традиционной терапии с добавлением тиотриазолина 2,5%-ного по 4,0 мл в/м на протяжении 10–15 сут.

Контрольная группа была сформирована из здоровых добровольцев.

Длительность заболевания у пациентов, участвовавших в исследовании, на момент первоначального обращения составляла от 5 мес до 30 лет (в среднем — $2,6 \pm 0,5$ года). Наиболее часто начало заболевания приходилось на возрастной период 46–60 лет, при этом средний возраст дебюта ОСД составил $48,24 \pm 2,94$ года.

Скрининговое исследование антиядерных антител ANA проводился методом непрямой иммунофлюоресцентной микроскопии с определением типа сывороточных специфических антиядерных антител к мишеням клеточных ядер: рибонуклеопротеинам – U1-nRNP, Sm; аппарату Гольджи, анти-SS-A/Ro, анти-SS-B/La, MI-2, Ku с применением набора реактивов производства Euroimmun (Germany).

Исследования по люминесцентной микроскопии осуществлялось на базе диагностической лаборатории молекулярных и клеточных технологий с иммуноферментным и иммунофлюоресцентным анализом ГУ «Институт общей и неотложной хирургии им. В. Т. Зайцева НАМН Украины» с помощью современного микроскопа Olympus BX 53 (Япония) и программного обеспечения.

Достоверность расхождений (*p*) сравниваемых групповых средних определяли с помощью *t*-критерия Стьюдента – Фишера [7].

У пациентов с ОСД в стадии обострения изучали показатели клеточного иммунитета – экспрессию поверхностных маркеров дифференцировки CD в зависимости от состояния больных (табл. 1).

При этом до лечения у больных были следующие показатели субпопуляции лимфоцитов: CD2+ = 270,0±90,0 (27,6±3,3%), CD3+ = 600,0±100,0 (39,8±4,6%), CD4+ = 790,0±180,0 (45,9±9,3%), CD8+ = 130,0±70,0 (10,0±2,0%). Иммунорегуляторный индекс (ИРИ) CD4+/CD8+ находился на уровне 4,5±0,3.

После проведенной терапии у всех больных основной группы наблюдалось некоторое угнетение показателей Т-клеточного иммунитета. В ходе исследования установлено незначительное умень-

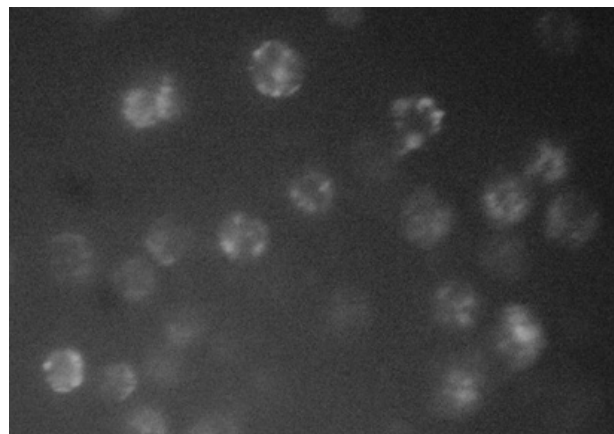


Рис. 1. Экспрессия поверхностных маркеров дифференцировки CD2+ на Т-лимфоцитах у больной очаговой склеродермией. Увеличение 20×10

шение относительного количества наиболее функционально значимой лимфоидной субпопуляции CD3+ общих Т-лимфоцитов на 5% относительно контрольных значений показателя (*p* ≤ 0,05). Относительные величины, характеризующие экспрессию дифференцировочных маркеров CD на Т-хелперной (CD4+) субпопуляции, в основной группе были на уровне референтных значений. Экспрессия Т-киллерной (CD8+) субпопуляции Т-лимфоцитов была снижена в среднем на 17% относительно референтных значений и на 10% выше, чем в группе с ОСД до лечения.

Выявлено достоверное повышение экспрессии дифференцировочного маркера CD2+ активных Т-лимфоцитов, участвующих в стимуляции В-клеток, в 1,7 (*p* ≤ 0,05) раза по сравнению с контрольной группой здоровых доноров (рис. 1).

Таблица 1

Уровень субпопуляций лимфоцитов у больных очаговой склеродермией

Субпопуляции лимфоцитов	Обследованные группы				
	показатели иммунного статуса в группе здоровых доноров и у больных ОСД до лечения		больные ОСД после лечения		
	референтные значения (здоровые доноры)	больные ОСД до лечения	основная группа	I группа сравнения	II группа сравнения
CD2+, абс. ч × 10 ⁶ /л	400,0±95,0	270,0±90,0	340,0±58,0	290,00±50,0	280,00±60,0
CD2+, %	16,3±3,4	27,6±3,3*	15,7±2,8	25,00±3,2	23,00±2,4
CD3+, абс. ч × 10 ⁶ /л	1100,0±450,0	600,0±100,0	1020,0±72,0	640,0±60,0*	720,0±48,0*
CD3+, %	62,0±6,5	39,8±4,6	59,0±15,2	36,25±4,1*	48,25±5,7
CD4+, абс. ч × 10 ⁶ /л	600,0±195,0	790,0±180,0	620,0±180,0	730,00±40,0*	680,00±58,0
CD4+, %	38,3±6,5	45,9±9,3	37,0±7,6	43,50±3,4	42,50±4,2
CD8+, абс. ч × 10 ⁶ /л	300,0±98,0	130,0±70,0	190,00±30,0	165,00±20,0*	130,00±45,0*
CD8+, %	23,4±4,4	10,0±2,0	19,93±2,23	13,2±1,13*	12,0±2,6
CD4+/ CD8+	2,1±0,5	4,5±0,3	2,2±0,38	3,4±0,3*	2,6±0,23

* Вероятность отличий от основной группы *p* ≥ 0,95 (*p* > 0,05).

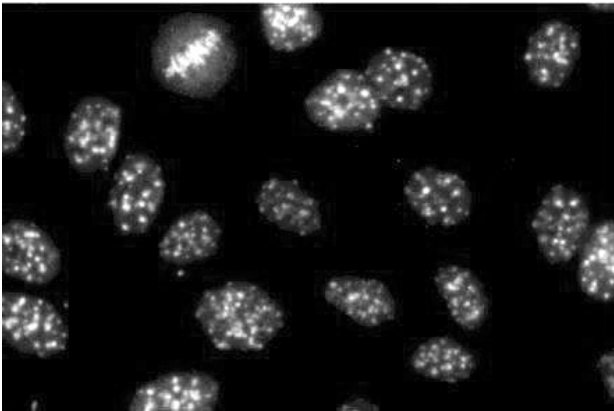


Рис. 2. Антиядерные ДНК на нейтрофильном субстрате у больной с очаговой склеродермией. Увеличение 40×10

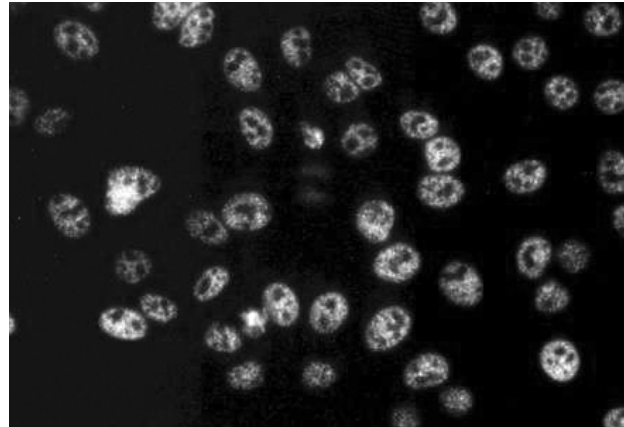


Рис. 3. Антитела к двойной спирали нативной ДНК на клетках тимуса у больной с очаговой склеродермией. Увеличение 20×10

У пациентов обеих групп сравнения, в отличие от основной группы, отмечено уменьшение (в среднем в 1,5 раза) абсолютного количества CD2+, CD3+ и CD8+ субпопуляций Т-лимфоцитов. Наблюдалось повышение (в 2,2 раза по сравнению с контрольной группой доноров) иммунорегуляторного индекса CD4+/CD8+ до $4,5 \pm 0,3$ в группе ОСД до лечения, что указывает на наличие аутоиммунного процесса. В основной группе данный показатель был на уровне референтных значений.

Таким образом, в динамике не произошло нормализации исследуемых показателей, в особенности пострадала экспрессия маркеров дифференцировки CD, очевидно, за счет состояния дисфункции основного иммунокомпетентного органа — тимуса. Известно, что тимус является иммунокомпетентным органом и обеспечивает направленную дифференцировку и клональную селекцию иммунокомпетентных Т-лимфоцитов.

В экстремальных состояниях на фоне формирования СИЭД при ОСД скомпроментированный тимус продуцирует избыточное количество гормонов и агрессивные клоны Т-лимфоцитов, утратившие толерантность при дифференцировке в медуллярной зоне тимуса.

Наличие специфически связывающихся антител устанавливалось методом иммунофлюоресцентного анализа на чиповых слайдах с иммобилизованными стандартными субстратами: нейтрофилами, клетками тимуса и поперечно-полосатой мышцы.

Результаты иммунофлюоресцентного анализа интенсивного связывания специфических антител с нейтрофильным субстратом у больной М. с ОСД отражены на рис. 2. Рис. 3 и 4 иллюстрируют связывание специфических антител с ДНК и Р-протеином клеток тимуса у этой же больной.

У пациентки с выявленными антителами к актину миофибрилл обнаружены формирование активных клонов Т-лимфоцитов, высокая гуморальная сенсibilизация и выраженная лимфоцитотоксичность (рис. 5).

Учитывая сложную структурно-функциональную организацию тимуса, можно предположить, что медиаторные факторы, клоны дифференцированных лимфоцитов способствуют развитию неконтролируемого цитокинового каскада.

Анализ полученных результатов исследования общей резистентности и специфических иммунных реакций у больных с ОСД показал, что значения исследуемых параметров достоверно не отличаются от контрольных величин, за исключением показателей, которые характеризуют высокую гуморальную сенсibilизацию и степень эндогенной интоксикации. Выявлен индивидуальный характер изменения показателей резистентности и иммунного ответа, зависящий от состояния больных ОСД.

У пациентов с выраженной гуморальной сенсibilизацией и повышенной активностью фагоцитоза наблюдалось, как правило, снижение экспрессии дифференцировочных маркеров CD. У ряда пациентов с обострением заболевания отмечали либо иммуносупрессию в гуморальном и клеточном звеньях, либо избыточную активацию неспецифической резистентности и гуморальных реакций, включая индуцированную лимфоцитотоксичность и образование антител к нативной ДНК.

В качестве удобных прогностических тестов формирования СИЭД у больных ОСД в стадии обострения могут быть использованы показатели экспрессии маркеров клеточной дифференцировки иммунокомпетентных клеток — CD.

Активность белков системы комплемента и фагоцитирующая функция нейтрофильных гранулоцитов имеют важное прогностическое значение, поскольку недостаточность активности белков, избыточная лимфоцитотоксичность, а также высокий титр антител к ДНК являются негативным прогностическим тестом, указывающим на формирование СИЭД у больных ОСД в стадии обострения.

У всех больных с ОСД установлено достоверное повышение антител к нативной ДНК, что

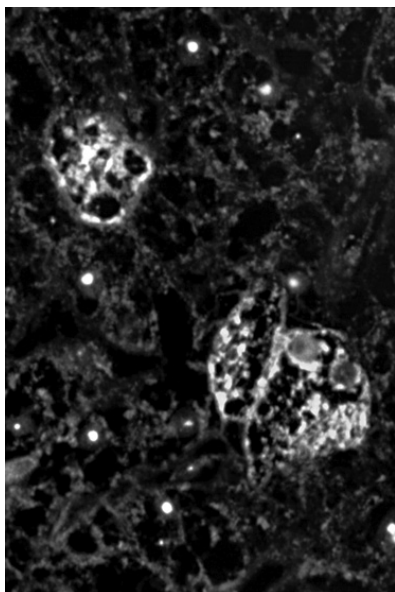


Рис. 4. Антитела к Р-протеину клеток тимуса у больно́й с очагово́й склеродермією. Увеличение 40×10

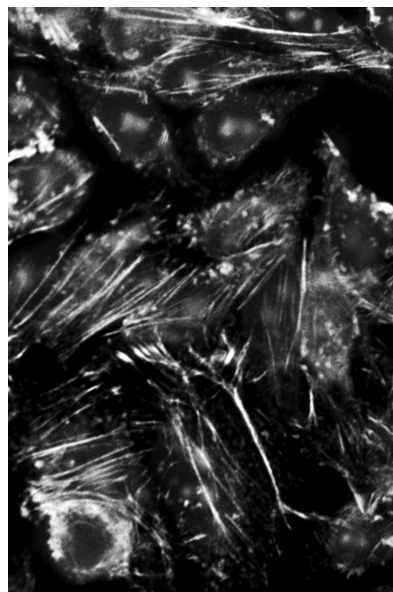


Рис. 5. Антитела к актину мышечных миофибрилл у пацієнтки с очагово́й склеродермією. Увеличение 20×10

свидетельствует о развитии выраженных аутоиммунных реакций. У пациентов с дисфункциональными состояниями тимуса выявлены антитела к Р-протеину и актину миофибрилл миоидных кле-

ток тимуса, что свидетельствует о формировании СИЭД с участием активных клонов Т-лимфоцитов, повышенной гуморальной сенсибилизации и лимфоцитотоксичности.

Список литературы

1. Савенкова В. В. Комплексна терапія хворих на обмежену склеродермію та хронічний червоний вовчак з урахуванням патогенетичних розладів, клінічних та регіонально-екологічних особливостей перебігу: автореф. дис. на здобуття наукового ступеня д-ра мед. наук за спец. 14.01.20 «Шкірні та венеричні хвороби» / В. В. Савенкова; Інститут дерматології і венерології НАМН України.— Харків, 2011.— 35 с.
2. Лапин С. В. Иммунологическая лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний / С. В. Лапин, А. А. Тотолян.— СПб.: Человек, 2010.— С. 12–24.
3. Применение современных способов диагностики очаговой склеродермии / Я. Ф. Кутасевич, И. А. Олейник, М. А. Ата [и др.] // Spatial aspects of socioeconomic systems of development: the economy, education and health care. «Współczesne problemy zarządzania: ekonomia, education, opieka zdrowotna i farmacja», 2015.— Opole, Poland.— P. 258–265.
4. Dhaliwal C. Perineural inflammation in morphea (localized scleroderma): Systematic characterization of a poorly recognized but potentially useful histopathological feature / C. Dhaliwal, A. Mackenzie, A. Biswas // J. Cutaneous Pathology.— 2014.— № 41 (1).— P. 28–35.
5. Ama M. A. Иммунологические нарушения у больных ограниченной склеродермией / М. А. Ата // Дерматология та венерология.— 2018.— № 3 (81).— С. 82.
6. Salhotra A. Sclerodermatous chronic GVHD in patients receiving tyrosine kinase inhibitors after allogeneic hematopoietic cell transplantation / A. Salhotra, N. Tsai, S. H. Thomas // J. Bone Marrow Transplantation.— 2015.— № 50 (1).— P. 139–141.
7. Ланг Т. А. Как описывать статистику в медицине / Т. А. Ланг, М. Сесик; пер. с англ.; под ред. В. П. Леонова.— М.: Практическая медицина, 2011.— 480 с.

ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ СИНДРОМУ ІМУНОЕНДОКРИННОЇ ДИСФУНКЦІЇ У ХВОРИХ НА ВОГНИЩЕВУ СКЛЕРОДЕРМІЮ У СТАДІЇ ЗАГОСТРЕННЯ

Я. Ф. КУТАСЕВИЧ, М. А. АТА

Подано результати імуноферментних досліджень, проведених у групі хворих на вогнищеву склеродермію у стадії загострення до лікування і після закінчення терапії. Установлено достовірне підвищення антитіл до нативної ДНК, що відображує розвиток виражених аутоимунних реакцій. У пацієнтів із дисфункціональними станами тимуса виявлено антитіла до Р-протеїну й ак-

тину міофібрил міоїдних клітин тимусу, що свідчить про формування синдрому імуноендокринної дисфункції за участю активних клонів Т-лімфоцитів, підвищену гуморальну сенсibiliзацію і лімфотоксичність.

Ключові слова: вогнищева склеродермія, синдром імуноендокринної дисфункції, імуноферментні методи дослідження, терапія.

FEATURES OF FORMATION OF IMMUNO-ENDOCRINE DYSFUNCTION SYNDROME IN PATIENTS WITH LOCALIZED SCLERODERMA AT AGGRAVATION STAGE

Ya. F. KUTASEVICH, M. A. ATA

In this article the results of immunoassay studies performed in the group of patients with focal scleroderma at the stage of aggravation before the treatment and after the end of therapy are presented. A significant increase in antibodies to native DNA has been established, which reflects the development of pronounced autoimmune responses. In the patients with dysfunctional thymus, the antibodies to P-protein and actin myofibrils of the thymic myoid cells were found, that indicated the formation of an immuno-endocrine dysfunction syndrome involving active T-lymphocyte clones, increased humoral sensitization and lymphocytotoxicity.

Key words: limited scleroderma, immuno-endocrine dysfunction syndrome, enzyme immunoassay methods, therapy.

Поступила 10.12.2018