

УДК 616.72-002.77:612.017.1:579.8:616-097:615.37

© А. А. Алексеева, 2010.

## ОСОБЕННОСТИ ГУМОРАЛЬНОГО АУТОИММУННОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

А. А. Алексеева

Кафедра внутренней медицины №2 (заведующий кафедрой - проф. В.А. Белоглазов),  
Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского»,  
г. Симферополь.

### FEATURES OF THE HUMORAL IMMUNE RESPONSE IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

G. A. Alekseeva

#### SUMMARY

The aim of our study was to examine some indicators of humoral immunity in patients with rheumatoid arthritis (RA), depending on the characteristics of pathological process. The study involved 129 patients with RA and I-II degrees of inflammatory activity and disease duration from 1 year to 20 years RA patients was an increase in serum concentrations of anticardiolipin antibodies, cryoglobulins, and antibodies to heat shock protein hsp60, a more pronounced during the early period of the disease and very little dependent on the degree of activity of the articular process. A direct correlation between the level of cryoglobulins and anticardiolipin antibodies and the development of Raynaud's syndrome.

### ОСОБЛИВОСТІ ГУМОРАЛЬНОЇ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ У ХВОРИХ НА РЕВМАТОІДНИЙ АРТРИТ

Г. А. Алексеева

#### РЕЗЮМЕ

Метою нашого дослідження було вивчення деяких показників гуморального імунітету у хворих на ревматоїдний артрит (РА) в залежності від особливостей перебігу патологічного процесу. Було обстежено 129 хворих Рас I-II ступенями активності запального процесу і тривалістю захворювання від 1 року до 20 років. У хворих на РА відзначене підвищення сироваткової концентрації антикардіоліпінових антитіл, криоглобулінів і антитіл до білка теплового шоку hsp60, більш виражене в ранній період захворювання і яке мало залежить від ступеня активності суглобового процесу. Виявлено прямі кореляційні зв'язки між рівнем криоглобулінів і антикардіоліпінових антитіл і розвитком синдрому Рейно.

**Ключевые слова:** ревматоидный артрит, криоглобулины, антикардиолипиновые антитела, белки теплового шока

Ревматоидный артрит (РА) – одно из наиболее часто встречающихся и тяжелых хронических воспалительных заболеваний человека с высокой социальной значимостью, что объясняется его высокой распространенностью, тенденцией к неуклонному прогрессированию, часто приводящему к инвалидизации больных [5]. Кроме этого, для РА характерно увеличение показателей общей смертности и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний по сравнению с общей популяцией, которое не всегда можно объяснить повышенной экспрессией традиционных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний [4]. Важной особенностью течения кардиоваскулярных заболеваний у больных РА является стертость клинической симптоматики и атипичность симптомов в условиях снижения физической активности больных [8,9].

Таким образом, в настоящее время становится актуальным поиск новых «нетрадиционных» предикторов нежелательных кардиоваскулярных событий у больных РА. Согласно Т-клеточно-цитокиновой те-

рии развития РА, Т-хелперы стимулируют пролиферацию и дифференцировку В-клеток в плазматиты, которые секретируют измененный Ig[3,4]. При ревматических заболеваниях, связанных с активацией В-лимфоцитов, резко увеличивается концентрация гетерогенных антител к фосфолипидам, в том числе и антител к кардиолипину класса IgG, IgM [7,10]. Кроме того, длительная выработка антител запускает процессы их элиминации путем модификации строения, присоединения сигнальных молекул с изменением иммунологической реактивности, одним из таких механизмов аутоагрессии может быть выработка криоглобулинов – аутоантител с аномальными температурными свойствами, большая концентрация которых приводит к развитию криоглобулинемии[2]. В частности, белки теплового шока и липополисахарид (ЛПС) бактериальных агентов могут модулировать клеточную функцию в направлении дисрегуляции метаболизма липидов, индуцирования воспалительного каскада цитокинов и запускать синтез перекрестно реагирующих антител, а также инициировать

и способствовать развитию атерогенеза [6, 11]. В доступной литературе данные о роли криоглобулинов, антикардиолипидных антител и антиэндоксинных антител в патогенезе РА достаточно немногочисленны и противоречивы.

Целью нашей работы явилось изучение концентрации криоглобулинов, антикардиолипидных и антиэндоксинных антител у больных РА

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены больные с РА в стадии обострения (n=129, из которых 14 мужчин и 115 женщин) с I—II степенями активности воспалительного процесса и длительностью заболевания от 1 года до 20 лет. В исследование включались пациенты от 19 до 70 лет (средний возраст  $46,28 \pm 1,00$  года). Все больные находились на стационарном лечении в ревматологическом отделении КРУ «КБ им. Н. А. Семашко» г. Симферополя. Все больные обследовались в соответствии со стандартами диагностики, диагноз соответствовал критериям Американской ревматологической ассоциации. Всем пациентам проводилась соответствующая стандартная медикаментозная терапия, включающая болезнь модифицирующие препараты (метотрексат в дозе от 7,5 до 20 мг в неделю в комбинации с фолиевой кислотой), и симптоматическое лечение. В исследование не включались больные с сопутствующими заболеваниями сердечно-сосудистой, эндокринной, централь-

ной и периферической нервной систем. Контрольная группа состояла из 32 практически здоровых человека, сопоставимых по полу и возрасту.

Выделение криоглобулинов из сыворотки крови проводили по методу предложенным Kalavidourgius A. и Jonson R., усовершенствованным Константиновой Н.А.[2]. Определение антител к кардиолипину класса IgG, IgM проводилось при помощи иммуноферментного анализа (методом ELISA) с использованием тест-системы ORG 515 Anti-Cardiolipin IgG / IgM, Германия. Содержание антиэндоксинных антител к относящемуся к семейству белков теплового шока hsp60 эндотоксин-ассоциированному протеину клеточной стенки E.coli (анти-ЭП) классов А, М и G (соответственно IgA-анти-ЭП, IgM-анти-ЭП и IgG-анти-ЭП) в сыворотках крови больных РА и лиц из контрольной группы определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа [1].

Статистический анализ проводился с помощью пакета прикладных программ "Statistica 6.0" (StatSoft, USA, 2001). Достоверными считали различия показателей при  $p < 0,05$ .

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении сывороточной концентрации изучавшихся в нашем исследовании факторов гуморального иммунитета было установлено, что их уровень имел значительные различия по сравнению с контрольной группой (таблица 1).

Таблица 1.

**Концентрация антикардиолипидных и антиэндоксинных антител, криоглобулинов у пациентов с ревматоидным артритом.**

Показатели	Больные РА (n=129)	Группа контроля (n=32)
IgM к кардиолипину, MPL U/ml	$5,81 \pm 0,43^{**}$	$2,17 \pm 0,19$
IgG к кардиолипину, GPL U/ml	$6,13 \pm 0,51^{**}$	$2,44 \pm 0,22$
Криоглобулины, мкг/мл	$98,78 \pm 5,81^{**}$	$48,72 \pm 2,09$
IgA-анти-ЭП ед.опт.плотности	$0,286 \pm 0,013$	$0,235 \pm 0,026$
IgM-анти-ЭП ед.опт.плотности	$0,288 \pm 0,016^*$	$0,215 \pm 0,02$
IgG-анти-ЭП ед.опт.плотности	$0,658 \pm 0,032^{**}$	$0,364 \pm 0,031$
Ревматоидный фактор, МЕ/мл	$103,59 \pm 12,20^{**}$	$9,03 \pm 0,68$
СРБ, мг/мл	$29,55 \pm 2,07^{**}$	$3,79 \pm 0,49$

\*- достоверность различий между сравниваемыми группами,  $p < 0,05$

\*\* - достоверность различий между сравниваемыми группами,  $p < 0,001$

Анализируя результаты концентраций антител к кардиолипину класса М и G, выявлено, что средние значения у пациентов с РА не выходят за пределы принятых нормативов, однако существенно в 2,68 и 2,48 раза превышают соответствующие показатели в группе контроля. Также у больных РА обнаружено

достоверное ( $p < 0,001$ ) повышение уровня криоглобулинов. Оценка цифрового материала, представленного в таб.1 свидетельствует, что имеет место достоверная разница между показателями IgM-анти-ЭП у больных РА и практически здоровых людей ( $0,288 \pm 0,016$  ед. опт. пл. против  $0,215 \pm 0,02$  ед. опт. пл.  $p < 0,05$ ), а также

выявлено достоверное возрастание на 80,77% ( $p < 0,001$ ) уровня IgG-анти-ЭП в сыворотке крови пациентов, страдающих РА. Между показателями гуморального звена иммунитета нами установлены следующие корреляционные связи, а именно: выявлена прямая корреляционная связь между уровнем РФ и антикардиолипиновым Ig M ( $r=0,4302$ ,  $p < 0,05$ ) и Ig G ( $r=0,4217$ ,  $p < 0,001$ ), суммарным уровнем криоглобулинов ( $r=0,5737$ ,  $p < 0,001$ ) и показателем IgM-анти-ЭП ( $r=0,4930$ ,  $p < 0,05$ ), что дает основание предположить более высокую частоту выявляемости криоглобулинемии и эндотоксинемии, а также повышения концентрации антикардиолипиновых антител у больных

с серопозитивным вариантом РА. При исследовании корреляции уровня изучаемых гуморальных факторов иммунитета и системными проявлениями РА наибольшая сила корреляционной связи была установлена между наличием синдрома Рейно и концентрацией криоглобулинов в крови у больных РА ( $r=0,5260$ ,  $p < 0,001$ ), уровнем IgM к кардиолипину ( $r=0,3078$ ,  $p < 0,001$ ), наличием антикардиолипиновых антител класса G ( $r=0,2885$ ,  $p < 0,001$ ) и РФ ( $r=0,3015$ ,  $p < 0,001$ ).

Нами был проведен сравнительный анализ гуморальных иммунных факторов от длительности течения РА. Результаты проведенного исследования представлены в таблице 2.

Таблица 2

**Концентрация антикардиолипиновых антител, криоглобулинов и антиэндотоксиновых антител у больных РА в зависимости от длительности заболевания.**

Показатели	Больные РА (n=129)	Группа контроля (n=32)
IgM к кардиолипину, MPL U/ml	5,81 $\pm$ 0,43**	2,17 $\pm$ 0,19
IgG к кардиолипину, GPL U/ml	6,13 $\pm$ 0,51**	2,44 $\pm$ 0,22
Криоглобулины, мкг/мл	98,78 $\pm$ 5,81**	48,72 $\pm$ 2,09
IgA-анти-ЭП ед.опт.плотности	0,286 $\pm$ 0,013	0,235 $\pm$ 0,026
IgM-анти-ЭП ед.опт.плотности	0,288 $\pm$ 0,016*	0,215 $\pm$ 0,02
IgG-анти-ЭП ед.опт.плотности	0,658 $\pm$ 0,032**	0,364 $\pm$ 0,031
Ревматоидный фактор, МЕ/мл	103,59 $\pm$ 12,20**	9,03 $\pm$ 0,68
СРБ, мг/мл	29,55 $\pm$ 2,07**	3,79 $\pm$ 0,49

\*- достоверность различий между показателями группы 1-ой группы и группы контроля;

\*\* - достоверность различий между показателями группы 2-ой группы и группы контроля

\*\*\* - достоверность различий между показателями группы 3-ей группы и группы контроля

Оценивая полученные в ходе работы данные, следует отметить увеличение концентраций антикардиолипиновых антител различных классов, криоглобулинов вне зависимости от сроков заболевания по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе, с максимальным их уровнем при «раннем» РА и сохраняющимся повышением при длительности заболевания более 10 лет. Так, содержание IgM к кардиолипину при сроках заболевания менее 6 лет в 2,87 ( $p < 0,001$ ) раза превышает аналогичный показатель в группе контроля, а концентрация антикардиолипиновых антител класса G соответственно в 3,07 раза ( $p < 0,001$ ) в сравнении с контрольной группой. При длительности РА более 10 лет отмечается тенденция к снижению уровня антикардиолипиновых антител по сравнению с начальными этапами заболевания, но превышает концентрацию IgM и IgG к фосфолипидам в 2,44 ( $p < 0,001$ ) и 2,3 ( $p < 0,001$ ) раза соответственно в сравнении с уровнем вышеуказанных антител у практически здоро-

вых лиц. Также зависимость от длительности заболевания выявлена при изучении показателей криоглобулинемии при различной продолжительности РА. Так, максимальное значение криоглобулинов выявлено у пациентов, страдающих РА менее 6 лет, которое на 164,43% превысило показатели в группе контроля ( $p < 0,001$ ). Выявлена статистически значимое снижение уровня криоглобулинов при длительности заболевания от 6 до 10 лет на 24,49% ( $p < 0,05$ ), а также «позднем» РА на 28,48% ( $p < 0,05$ ) в сравнении с концентрацией криоглобулинов у пациентов, страдающих РА 5 и менее лет. Достоверное увеличение на 33,62% ( $p < 0,05$ ) IgA-анти-ЭП наблюдается на ранних сроках РА и наиболее выраженное повышение IgA-анти-ЭП при сроках заболевания от 5 до 10 лет (на 44,26%,  $p < 0,005$ ) по сравнению с контрольной. У пациентов с длительным анамнезом заболевания отмечается достоверное снижение величин IgA-анти-ЭП в сравнении с аналогичными показателями у больных на ранних этапах болезни (в 1,49 раз  $p < 0,001$ )

и длительностью РА от 5 до 10 лет (в 1,61 раза,  $p < 0,001$ ). Уровень IgM-анти-ЭП у больных со сроком заболевания менее 5 лет превосходил аналогичный показатель в контрольной группе в 2 раза ( $p < 0,001$ ), а у больных с длительностью РА от 6 до 10 лет в 1,41 раза соответственно ( $p < 0,001$ ).

Однако у пациентов, имеющих длительное течение РА, отмечено снижение уровня IgM-анти-ЭП 1,5 раза по сравнению с группой контроля ( $p < 0,01$ ). Содержание IgG-анти-ЭП у больных 1-ой и 2-ой групп достоверно превышает показатели контрольной группы ( $p < 0,05$ ). Максимально высокий уровень IgG-анти-ЭП (в 2,25 раза) отмечается у больных на ранних этапах заболевания РА ( $p < 0,001$ ), а также у пациентов с длительностью заболевания от 6 до 10 лет ( $p < 0,01$ ) – в 1,69 раз по сравнению с группой контроля. Обращает на себя внимание, что при длительном течении РА определяется тенденция к снижению концентрации IgG-анти-ЭП в сыворотке крови по сравнению с изучаемым показателем у больных с продолжительностью заболевания до 5 лет ( $p < 0,001$ ), однако сохраняется статистически значимое повышение уровня IgG-анти-ЭП в сравнении с практически здоровыми лицами ( $p < 0,001$ ).

При сравнении сывороточных концентраций изучаемых факторов гуморального иммунитета в зависимости от активности заболевания, было установлено, что у пациентов с минимальной степенью активности РА отмечается повышение уровня IgG-анти-ЭП ( $0,690 \pm 0,042$  ед.опт.плотн. против  $0,364 \pm 0,031$  ед.опт.плотн.,  $p < 0,001$ ), при отсутствии статистически значимых изменений уровней IgA-анти-ЭП и IgM-анти-ЭП. При умеренной активности аутоиммунного процесса выявлено дальнейшее увеличение IgM-анти-ЭП ( $0,304 \pm 0,030$  ед.опт.плотн. против  $0,215 \pm 0,02$  ед.опт.плотн.,  $p < 0,05$ ) и IgG-анти-ЭП ( $0,594 \pm 0,040$  ед.опт.плотн. против  $0,364 \pm 0,031$  ед.опт.плотн.,  $p < 0,001$ ). Также выявлено повышение криоглобулинов при минимальной степени активности РА в 1,98 раза ( $p < 0,001$ ) и в 2,15 раза ( $p < 0,001$ ) при умеренной активности РА в сравнении с концентрацией криоглобулинов у практически здоровых лиц.

Выявлены увеличение содержания антикардиолипидных антител класса М и G при минимальной активности заболевания в 2,58 и 2,42 раз соответственно при сравнении с когортой доноров ( $p < 0,001$ ) с последующим ростом IgM и IgG к кардиолипидным ( $p < 0,001$ ) в 2,94 и 2,65 раз при умеренной активности патологического процесса. Оценивая показатели гуморального звена иммунитета у больных РА, достоверных отличий между концентрациями анти-эндотоксиновых антител, антикардиолипидных антител и уровнем криоглобулинов у пациентов с умеренной активностью РА в сравнении с минимальным течением РА нами обнаружено не было.

Однако выявлены слабые положительные корреляционные связи между уровнем СРБ и содержанием

криоглобулинов в крови всех больных РА ( $r = 0,398893$ ,  $p < 0,001$ ), а также концентрацией IgM и IgG к кардиолипину ( $r = 0,348697$ ,  $p < 0,001$  и  $r = 0,213264$ ,  $p < 0,05$  соответственно).

#### ВЫВОДЫ

1. У больных РА определяется повышение уровней криоглобулинов, антикардиолипидных антител и анти-ЭП-антител классов А, М и G по сравнению с этими показателями в контрольной группе.
2. Напряженность продукции изучаемых гуморальных иммунных факторов мало зависит от степени активности воспалительного процесса, однако более выражено в ранний период заболевания.
3. Отмечены прямые корреляционные связи между уровнем криоглобулинов и титрами РФ, уровнем криоглобулинов и антикардиолипидных антител и развитием синдрома Рейно.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гордиенко Ан.И., Белоглазов В.А., Гордиенко Ал.И. Микротурбидиметрический метод определения IgA, IgM, IgG человека. // Иммунология та алергологія.—2000.—№1.—С.12-15.
2. Константинова Н.А. // Криоглобулины и патология. - М.: 1999. - 176с
3. С.В. Лапин, А. Л. Маслянский, В. И. Мазуров, А. А. Тотолян. Сравнительная характеристика специфических аутоантител при ревматоидном артрите // Терапевтический архив. — 2005. — № 12. — С. 53–59.
4. Насонов Е.Л., Попкова Т.В. Кардиоваскулярные проблемы в ревматологии // Научно – практич. ревматол.- 2004.-№4.-С.4-8.
5. Ревматоидный артрит. Диагностика и лечение // Под ред. В.Н. Коваленко. -К.:Морион- 2001. -272с.
6. Яковлев М.Ю. Роль системной эндотоксинемии в физиологии и патологии человека // Сборник трудов 1-ой сессии РМАПО. — М.1995.—С.10-11.
7. Cervera R., Asherson R.A., Lie J.T. Clinicopathologic correlations of the antiphospholipid syndrome // Sem. Arthr. Rheum. — 1995. — V. 24, № 4. — P. 262—2726.
8. DeMaria A.N. Relative risk of cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis // Am. J. Cardiol.- 2002-№ 89.-P.33-38.
9. Goodson N. Coronary artery disease and rheumatoid arthritis // Curr. Opin. Rheumatol.-2002.-№14,2.-P. 115-120.
10. Hughes, G.R.V., Harris, E.N. and Gharavi, A.E. The Anticardiolipin Syndrome. // J. Rheumatol. 1986; 13, 3: 486 - 4897.
11. V. P. van Halm, Slot M. C., Nurmohamed M. T., Cohen Tervaert J. W., Dijkmans B. A. C., Voskuyl A. E. Antibodies against human 60 kDa heat shock protein are not associated with cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis // Ann Rheum Dis - 2006. – Vol.65- P.590–594.