

УДК: 616-002.77:612.017.1:616-005.1-08

Царенок С.Ю., Горбунов В.В.

## ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОКИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ И ЛИМФОЦИТАРНО-ТРОМБОЦИТАРНАЯ АДГЕЗИЯ У БОЛЬНЫХ ПОВТОРНОЙ РЕВМАТИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКОЙ

ГОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия Росздрава (ректор – заслуженный врач РФ, д.м.н., профессор А.В.Говорин)

В последние десятилетия отмечается патоморфоз многих заболеваний, в том числе и ревматических, характеризующийся атипичным или малосимптомным течением, что во многом затрудняет диагностику, а, следовательно, и отсрочивает назначение адекватной терапии. Ревматическая лихорадка часто протекает латентно, без выраженного экссудативного компонента, особенно на фоне уже имеющихся пороков сердца [1,2]. В связи с этим поиск новых маркеров воспаления представляется перспективным [3].

В настоящее время большое внимание уделяется изучению клинического значения цитокинов, отражающих нарушения иммунитета, гемостаза и принимающих участие в развитии воспаления и сердечной недостаточности при многих заболеваниях соединительной ткани, в том числе и ревматической лихорадке [5, 6, 7]. Известно, что в дебюте острой ревматической лихорадки происходят значительные нарушения клеточного иммунитета: повышение концентрации ИЛ-1, неоптерина, растворимых рецепторов цитокинов. Развитие ревматического вальвулита ассоциируется с увеличением ИЛ-1 $\square$ , а при прогрессирующем поражении клапанов - с повышением ИЛ-1 $\square$  [8]. В последнее десятилетие широко изучаются межклеточные взаимодействия, в основе которых лежат механизмы сигнализации, опосредованные цитокинами. Адгезивные взаимодействия между тромбоцитами и лейкоцитами являются ведущими звеньями механизмов, обеспечивающих миграцию лейкоцитов в зону повреждения и развитие там иммунных и reparативных реакций [9]. Изучение механизмов адгезии тромбоцитов и лимфоцитов при ряде заболеваний позволили установить патогенетическое и клиническое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии, характеризующее как состояние иммунитета, так и гемостаза [10]. Однако аналогичных исследований межклеточного взаимодействия при ревматической лихорадке не проводилось. В связи с этим мы поставили цель изу-

чить клиническое значение определения уровней провоспалительных и противовоспалительных цитокинов и интенсивность адгезии тромбоцитов и лимфоцитов у больных ревматической болезнью сердца (РБС) в зависимости от активности воспалительного процесса.

**Материалы и методы:** обследовано 84 больных повторной ревматической лихорадкой и хронической ревматической болезнью сердца (56 женщин и 28 мужчин), находившихся на лечении в ревматологическом отделении Дорожной клинической больницы ст. Чита-2 Забайкальской железной дороги. Из них повторная ревматическая лихорадка была диагностирована у 64 больных, а хроническая ревматическая болезнь сердца - у 20. Возраст пациентов составлял от 22 до 60 лет. Средний возраст женщин  $48,73 \pm 9,34$ , мужчин -  $46,89 \pm 8,15$ . Основные клинические проявления повторной ревматической лихорадки включали: ревмокардит, артриты. Ревмокардит расценивали как слабо выраженный у 42 пациентов и умеренный - у 15 больных. Доказательством перенесенной стрептококковой инфекции служил повышенный уровень антистрептолизина-О (АСЛ-О) у 49 больных. У всех пациентов при проведении ЭхоКГ выявлены ревматические пороки сердца: у 30 больных - митральный стеноз, у 3 - недостаточность митрального клапана, у 20 - сочетанный митральный порок, у 2 - недостаточность аортального клапана, 4 больных - сочетанный аортальный порок и 25 пациентов имели комбинированные пороки. Хроническая сердечная недостаточность 0 стадии установлена у 6 больных, 1 стадии у 15 пациентов; 2А стадии у 64. Больные к моменту обследования получали профилактику экстенцилином в дозе 2,4 млн. ед., при 2А стадии недостаточности кровообращения и мерцании предсердий назначались препараты дигиталиса, мочегонные средства, ингибиторы АПФ в терапевтических дозах. Контрольную группу составили 26 практически здоровых человек.

Диагноз ревматической лихорадки выставлен согласно критериям Киселя - Джонса (в модификации Ассоциации ревматологов России, 2003), в которых в том числе предусмотрено определение лабораторных маркеров С-реактивного белка (СРБ), скорости оседания эритроцитов (СОЭ), АСЛ-О. Интерлейкины определяли методом иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов ООО "Протеиновый контур". Результаты оценивали на спектрофотометре СФ-26 при длине волны 450 нм. Для оценки

Таблица 1

Показатели острой фазы воспаления у больных ревматической болезнью сердца и ревматической лихорадкой  $M \pm SD$

Показатель	Больные РБС n=27	Больные РЛ, 1группа n=42	Больные РЛ, 2 группа n=15
СРБ, мг/л	7,83±0,85	19,96±14,18*	60,74±19,28**
Фибриноген, г/л	2,49±0,4	3,51±0,51*	4,66±0,77**
СОЭ, мм/час	7,3±2,9	16,18±2,56*	27,56±4,48**

Примечание: \* - достоверность различий между больными ревматической болезнью сердца и ревматической лихорадкой с минимальной активностью ( $p<0,05$ ), \*\* - достоверность различий между больными ревматической лихорадкой минимальной активности и выраженной активности ( $p<0,05$ ). РБС - ревматическая болезнь сердца, РЛ- ревматическая лихорадка, СРБ- С-реактивный белок, СОЭ- скорость оседания эритроцитов.

функционального состояния иммунокомпетентных клеток нами применен тест лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (ЛТА) по методу, предложенному Витковским Ю.А. и соавт. (1999) [10]. Количество лимфоцитарно-тромбоцитарных розеток подсчитывали в камере Горяева после получения общего пула лимфоцитов путем наслаждения гепаринизированной крови на урографин-фиксикол (плотность 1,077) и центрифугирования при 1500 об/мин в течение 40 мин, после чего интерфазное кольцо забирали пипеткой.

Статистическую обработку проводили при помощи программы "BIOSTAT" и электронных таблиц EXCEL 2000 для Windows (Microsoft, USA). В некоторых случаях распределение признака было ассиметричным, поэтому нами применялись непараметрические методы статистики. При сравнении нескольких групп сначала проводились вычисления критерия Крускаля - Уолиса, а затем группы сравнивались попарно при помощи вычисления критерия Дана. Корреляционный анализ выполнен с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Достоверными считали отличия при  $p<0,05$ . Работа одобрена этическим комитетом учреждения.

**Результаты и обсуждения.** Для диагностики ревматической лихорадки у всех пациентов, кроме учета клинических критериев, исследована концентрация С-реактивного белка, фибриногена, скорость оседания эритроцитов. Выявлено достоверное увеличение указанных показателей по мере повышения активности ревматического процесса. Причем наиболее выраженные изменения отмечались со стороны увеличения уровня СРБ, определяемого количественным методом (таблица 1). В результате проведенного исследо-

Таблица 2

Показатели цитокинов и лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии у больных ревматической болезнью сердца и ревматической лихорадкой  $M \pm SD$

Показатель	Здоровые n=26	Больные РБС n=27	Больные РЛ, 1группа n=42	Больные РЛ, 2 группа n=15
ЛТА, %	14±1,5	20,6±2,2*	24,7±2,7**	32,2±4***
Ln(ИЛ-1 $\square$ , пкг/мл)	3,42±0,49	3,74±0,23*	4,39±1,12**	6,5±0,61***
Ln(ФНО- $\square$ , пкг/мл)	2,95±0,54	4,77±0,98*	4,92±0,72**	5,15±0,82**
Ln(ИЛ-4, пкг/мл)	3,1±0,45	2,65±0,03*	2,88±0,59*	3,61±1,17***

Примечание: \* - достоверность различий с контрольной группой ( $p<0,05$ ), \*\* - достоверность различий между больными ревматической болезнью сердца и ревматической лихорадкой с минимальной активностью ( $p<0,05$ ), \*\*\* - достоверность различий между больными ревматической лихорадкой минимальной активности и выраженной активности ( $p<0,05$ ). Ln - натуральный логарифм показателя концентрации. ЛТА - Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия.

вания установлено, что у больных ревматической болезнью сердца (РБС) и ревматической лихорадкой (РЛ) происходит увеличение продукции провоспалительных цитокинов - ИЛ-1 $\square$  и ФНО- $\square$  и снижение концентрации ИЛ-4. При этом, у больных ревматической лихорадкой с минимальной активностью ревмокардита (1группа) наиболее максимально повышалась концентрация ФНО- $\square$  (таблица 2), у пациентов с выражеными воспалительными изменениями (2 группа) наиболее сильно изменялось содержание ИЛ-1 $\square$  (таблица 2). Концентрация ИЛ-4 снижалась у больных ревматической болезнью сердца и ревматической лихорадкой с минимальной активностью. В группе пациентов с высокой активностью ревмокардита содержание этого цитокина было повышенено (таблица 2). В ряде работ показано, что профиль синтеза цитокинов может существенно меняться в различных фазах заболевания. Например, при ревматоидном артрите в дебюте заболевания отмечается увеличение числа клеток, синтезирующих ИЛ-2 и интерферон- гамма, а в хронической стадии - клеток, синтезирующих ИЛ-6, ИЛ-10 и ФНО- $\square$  [11]. Результаты нашего исследования показывают, что в разные периоды ревматической болезни сердца изменяется профиль синтеза цитокинов. Нами изучена лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия (ЛТА) у данной категории больных. Во всех исследуемых группах выявлено усиление ЛТА пропорциональное степени активности воспалительного процесса (таб-

Таблица 3

Коэффициенты корреляции между уровнем цитокинов, ЛТА и лабораторными показателями активности у больных ревматической болезнью сердца и повторной ревматической лихорадкой

	ЛТА	ИЛ-1 $\square$	ФНО- $\square$	ИЛ-4
ЛТА		0,54 p=0,005	0,53 p=0,005	-
ИЛ-1 $\square$	0,54 p=0,005	-	-	-
ФНО- $\square$	0,53 p=0,005	-	-	-
ИЛ-4	-	-	-	-
СРБ	0,649 p=0,008	0,842 p=0,004	0,648 p=0,006	-
СОЭ	-	0,74 p=0,001	-	0,32 p=0,037
Фибриноген	-	0,88 p=0,004	0,68 p=0,008	-

Примечание: в таблице приведены только статистически значимые коэффициенты корреляции при  $p < 0,05$ . Использован коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

лица 2). В исследованиях Ю.А. Витковского и соавт. [10] было установлено, что способность образовывать розетки обладают CD 4+ (T-хелперы) лимфоциты, а при инкубации с ИЛ-2 количество розеткообразующих лимфоцитов увеличивалось в 4 раза за счет CD 16+ клеток (натуральные киллеры). Эти данные свидетельствуют о том, что индуктором взаимодействия тромбоцитов и лимфоцитов CD 4+ и CD16+ является ИЛ-2, способствующий пролиферации Т-клеток и стимулирующий натуральные киллеры. Секреция ИЛ-2 индуцируется под влиянием ИЛ-1 [9], его концентрация повышается при воспалительных заболеваниях, в том числе и аутоиммунных [12,13], что способствует повышению ЛТА. Для выявления возможных патогенетических взаимосвязей содержания провоспалительных цитокинов, острофазовых показателей и лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии проведен корреляционный анализ. Установлена достоверная корреляционная связь между концентрацией провоспалительных цитокинов и острофазовыми показателями (таблица 3). Уровень ЛТА достоверно коррелирован с концентрацией С-реактивного белка, ИЛ-1 $\square$  и ФНО- $\square$  (таблица 3). Усиление ЛТА отражает изменения клеточного иммунитета (активация розеткообразующей способности у натуральных киллеров). Усиление продукции провоспалительных цитокинов, в частности ИЛ-1 $\square$ , приводит к повышению адгезивного взаимодействия между лимфоцитами и тромбоцитами объективно отражающимся в изменении теста ЛТА. Учи-

тывая вышеизложенное, можно прийти к выводу, что данный тест служит одним из неспецифических маркеров активации ревматического процесса.

Таким образом, у больных ревматической болезнью сердца и ревматической лихорадкой выявлено увеличение концентрации ИЛ-1 $\square$  и ФНО- $\square$  в сыворотке крови, их содержание прямо пропорционально показателям острой фазы воспаления. У обследованных больных происходило усиление лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии, причем ее уровень положительно коррелирован с лабораторными маркерами воспаления, а также концентрацией провоспалительных цитокинов. Учитывая полученные, данные можно сделать вывод, что лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия отражает активность ревматического процесса и может быть использована как один из неспецифических маркеров для диагностики ревматической лихорадки.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Фоломеева О.М., Армиджанова В.Н., Якушева Е.О. и др. Заболеваемость населения России ревматическими болезнями (анализ за 10 лет). Тер. архив 2002; 5: 5-11.
2. Белов Б.С. Острая ревматическая лихорадка: современное состояние проблемы. Русский мед. журнал 2004; Т.12; 6: 418-421
3. Насонов Е.Л. Современные направления иммuno-логических исследований при хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваниях человека. Тер. архив 2001: 8;68-69.
4. Насонова В.А., Кузьмина Н.Н., Белов Б.С. Современная классификация и номенклатура ревматической лихорадки. Клиническая медицина 2004; 8: 61-66.
5. Насонов Е.Л., Самсонов М.Ю., Тилз Г. Растворимые молекулы адгезии (P-селектин, ICAM-1, ICAM-3) при ревматоидном артите. Тер. архив 1999; 5: 17-20.
6. Кузник Б.И. Физиология и патология системы крови. Чита; 2004.
7. Беленков Ю.Н., Агеев Ф.Т., Мареев В.Ю. Нейрогормоны и цитокины при сердечной недостаточности: новая теория старого заболевания? Сердечная недостаточность 2000; Т.1; 4: 135-138.
8. Насонов Е.Л., Самсонов М.Ю., Тилз М. и др. Активация клеточного иммунитета при острой ревматической лихорадке: клиническое и патогенетическое значение. Вест. РАМН 1996; 11: 41-44.
9. Hawrylowich C.M., Howells G.L., Feldmann M. Platelet-derived interleukin-1 induces human endothelial adhesion molecule expression and cytokine production. J. Exp. Med. 1991; 174(4): 785-790.

10. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Феномен лимфоцитро-тромбоцитарного розеткообразования. Иммунология 1999; 4: 35-37.
11. Насонова В.А., Бунчук Н.В. Избранные лекции по клинической ревматологии. М. Медицина; 2001. 29-45.
12. Мазуров В.И., Лила А.М., Шелухин В.А. Продукция интерлейкина-2 мононуклеарными клетками периферической крови у больных ревматоидным артритом. Тер. архив 1991; 2; 89-91.
13. Медведев А.Н., Баранов А.А., Цыпанова Л.А. Ревматоидный артрит и интерлейкины. Новости фармации и медицины 1995; 1: 39.