

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЯ СПОНТАННОЙ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ В-ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ С ПОРАЖЕНИЕМ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Юсупов Ф.А., Мамасаидов А.Т. *, Мурзалиев А.М. *,
Грошев С.А.

Центр постдипломного обучения Кыргызской Государственной Медицинской Академии, г. Ош;

**Кыргызская Государственная Медицинская Академия, г. Бишкек, Кыргызская Республика*

Резюме. Целями исследования являлись анализ и уточнение клинического значения показателя спонтанной пролиферативной активности В-лимфоцитов у больных системной красной волчанкой (СКВ) с поражением нервной системы. Обследованы 52 больных СКВ с поражением нервной системы и 14 больных СКВ без поражения нервной системы. В качестве контроля исследованы 30 здоровых доноров. Спонтанную пролиферативную активность В-лимфоцитов оценивали с помощью метода цитофлуорометрии, основанной на количественном изучении степени активности ядерного хроматина лимфоидных клеток. В результате исследования обнаружен высокий уровень спонтанной пролиферативной активности В-лимфоцитов у больных СКВ с поражением нервной системы. Показана целесообразность использования коэффициента спонтанной пролиферативной активности В-лимфоцитов в качестве дополнительного иммунологического показателя для уточнения активности патологического процесса при СКВ с поражением нервной системы, особенно для определения минимальной активности болезни.

Ключевые слова: спонтанная пролиферативная активность В-лимфоцитов, системная красная волчанка, нервная система.

F.A. Yusupov, A.T. Mamasaidov, A.M. Murzaliev, S.A. Groshev

CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL SIGNIFICANCE OF SPONTANEOUS PROLIFERATIVE ACTIVITY OF B-LYMPHOCYTES IN SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS WITH NERVOUS SYSTEM AFFECTIONS

Abstract. The aim of the research was analyse and specificate the clinical significance of the level of spontaneous proliferative activity of B-lymphocytes in systemic lupus erythematosus (SLE) with the nervous system affections. 52 patients with SLE with the nervous system affections and 14 patients with SLE without affections of nervous system were examined. 30 healthy donors were examined as a control group. Spontaneous proliferative activity of B-lymphocytes was measured by quantitative citofluorometry based on quantitative assessment of chromatin activity. The obtained results showed a high level of spontaneous proliferative activity of B-lymphocytes in SLE with the nervous system affections.

Адрес для переписки:

Юсупов Фуркат Абдулахатович.

*Адрес: Кыргызская Республика, 714000, г. Ош,
Ошская областная объединенная клиническая
больница, отделение неврологии.*

Тел.: +996 (3222) 5-74-87 (раб.),

+996 (502) 3-14-164 (com.).

E-mail: nevruug@yandex.ru

We have shown the advisability of using the coefficient of spontaneous proliferative activity of B-lymphocytes as additional immunological index for specification of pathological process activity in SLE with the nervous system affections. This index is especially useful in minimal activity of disease. (Med. Immunol., 2004, vol. 6, № 6, pp 567-572)

Введение

При системной красной волчанке (СКВ) поражение нервной системы – частое и тяжелое проявление заболевания [1, 7, 8, 11]. Клиническая картина поражения нервной системы при СКВ чрезвычайно пестра. Она включает как различные органические поражения центральной и периферической нервной систем, так и разнообразные функциональные и психические нарушения, изменения интеллекта, поведения и т.д.

Механизмы повреждения центральной нервной системы (ЦНС) при СКВ сложны и до конца не изучены, но данные современных иммунологических и инструментальных методов исследования свидетельствуют о важной роли иммунных и сосудистых нарушений в патогенезе церебральных расстройств при этом заболевании [3, 5, 12]. Большие затруднения возникают и при проведении дифференциального диагноза между СКВ с поражением ЦНС и другими неврологическими и психическими заболеваниями, в установлении органической природы возникших нейропсихических симптомов. До сих пор отсутствуют специфические тесты лабораторной и иммунологической диагностики поражения ЦНС при СКВ [1]. В то же время известно, что ведущим звеном иммунопатогенеза СКВ является поликлональная В-активация, проявляющаяся, в частности, повышением пролиферативной активности В-лимфоцитов [3, 5, 9, 10, 12].

Целью нашего исследования являлся анализ и уточнение клинического значения показателя спонтанной пролиферативной активности В-лимфоцитов (СПАВЛ) у больных СКВ с поражением нервной системы.

Материалы и методы

Под нашим наблюдением находились 52 больных достоверной СКВ с поражением нервной системы (не менее 5 критериев АРА) и 14 больных СКВ, составивших группу сравнения, у которых нейропсихические расстройства при клиническом обследовании не выявлялись. Абсолютное большинство больных были женщины (47 человек), средний возраст пациентов с поражением ЦНС составил $28,7 \pm 1,4$ года, а больных без поражения ЦНС – $25,3 \pm 1,2$ года (от 15 до 40 лет). Активность болезни в обеих группах была преимущественно I-II степени, а течение СКВ у большинства – подострое или хроническое. Средняя продолжительность СКВ с поражением ЦНС и без такового существенно не различалась: $6,8 \pm 1,2$ и $5,2 \pm 1,1$ года соответственно. Средняя давность поражения ЦНС составила 3,6 года. У 10 больных церебральные симптомы появились в дебюте СКВ до развития полисиндромной картины болезни, у 39 человек – в первые 4 года от ее начала, а у остальных 3 больных – через 8 лет.

На момент первичного обследования картина болезни была полисиндромной и характеризовалась поражением кожи по типу «бабочки» или неспецифическими эритематозными высыпаниями (14), изъязвлениями слизистых оболочек носоглотки (9), кожи (4), миалгиями (8), поражением почек по типу диффузного нефрита или проявляющимся только мочевым синдромом (6), капилляритами (19), сетчатым ливедо (25).

Неврологический статус больных характеризовался асимметрией лицевой иннервации у 12 человек, асимметрией сухожильных рефлексов у 8 человек, патологическими рефлексами у 9 человек, координационными нарушениями (пальце-носовая проба) у 7 больных, нистагмом у 8 человек, ослаблением конвергенции глазных яблок у 4 больных; окуловестибулярные нарушения и девиация языка имели место у 6 больных. В единичных случаях выявлены снижение или угнетение сухожильных рефлексов, неустойчивость в позе Ромберга, парезы.

В качестве контроля обследовано 30 здоровых доноров.

Все больные СКВ находились на стационарном лечении в кардиоревматологическом отделении и были обследованы в первые дни госпитализации до лечения и в конце стационарного лечения.

СПАВЛ оценивали с помощью метода количественной цитофлуорометрии (КЦФ), который основан на количественном изучении степени активности ядерного хроматина лимфоидных клеток [4]. При этом из выделенных из периферической крови лимфоцитов формировали монослойные культуры лимфоцитов на предметном стекле, после чего полученный монослой клеток погружали в камеры для культивирования с полной питательной средой с добавлением В-клеточного митогена-липополисахарида (ЛПС) 5 мкг/мл производства НИИЭМ им. И.Ф. Гамалея. Затем камеры помещали в холодильник при 4°C (опыт) на 2 часа. После чего окрашивали 0,001% акридиновым оранжевым и проводили КЦФ на базе люминесцентного микроскопа ЛЮ-МАМ с фотометрической приставкой ФМЭЛ-1, работающей в автоматическом режиме. Измеряли интенсивность флуоресценции в области 640 и 530 нм. Затем определяли параметр А, как отношение флуоресценции $\Phi 640/\Phi 530$. При этом параметр А отражает соотношение РНК/ДНК ядерного хроматина [4]. Сравнивая уровень параметра А в опыте и контроле, выводили показатель СПАВЛ. Положительным результатом метода считали значение СПАВЛ, равное 12 условным единицам (усл. ед.) и более.

Статистическую обработку полученных данных проводили на персональном компьютере с помощью пакета статистических программ с выводением критерия t-Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Уровни СПАВЛ у обследованных лиц представлены в табл.1.

Как видно из табл. 1, показатель СПАВЛ у здоровых лиц достоверно ($p < 0,001$) ниже, чем у больных СКВ в целом. При этом уровень СПАВЛ у больных СКВ с поражением нервной системы превышает соответствующий показатель у больных СКВ без поражения нервной системы ($t = 1,07$, $p > 0,05$). Показатель СПАВЛ выше нормы обнаружен лишь у 5 здоровых лиц (16,6%), тогда как у больных СКВ с поражением нервной системы и без такового частота положительных случаев составляет соответственно 48 (92,3%) и 12 (85,7%).

Уровень СПАВЛ у больных СКВ с поражением нервной системы после стационарного лечения была ниже, чем до лечения (табл.2), но разница была статистически недостоверна ($t = 1,88$, $p > 0,05$). При этом значение СПАВЛ у больных СКВ с поражением нервной системы после лечения было достоверно выше, чем у здоровых лиц ($t = 6,15$, $p < 0,001$). Несмотря на то, что в целом у больных СКВ с поражением нервной системы в процессе лечения не наступило нормализации исследуемого показателя, количество больных с повышенным уровнем СПАВЛ снизилось с 92,3 % до 76,9 %.

Уровень СПАВЛ при различных клинических вариантах СКВ с поражением нервной системы представлен в табл.2.

Как видно из табл.2, у больных с минимальной (I степенью) активностью СКВ с поражением нервной системы перед началом лечения уровень СПАВЛ значительно превышал нормальные показатели ($t = 6,58$, $p < 0,001$). При повторном обследовании (после стационарного лечения) показатель СПАВЛ достоверно снизился ($t = 2,63$, $p < 0,05$), а количество больных с повышенным уровнем СПАВЛ уменьшилось с 81,2% до 62,5%. При этом данный показатель у больных с I степенью активности СКВ

с поражением нервной системы после лечения оставался достоверно выше ($t = 4,16$, $p < 0,001$), чем у здоровых лиц.

Следует особо отметить, что показатель СПАВЛ по сравнению с общепринятыми лабораторными показателями у больных СКВ с поражением нервной системы и минимальной степенью активности в ходе лечения был динамичен. Как известно, отсутствие лабораторных сдвигов у больных с I степенью активности СКВ затрудняет оценку результатов, поэтому определение СПАВЛ может быть использовано для оценки адекватности лечения.

У больных СКВ с поражением нервной системы с умеренной (II степень) активностью процесса показатель СПАВЛ достоверно превышал соответствующий показатель не только у здоровых лиц ($t = 8,22$, $p < 0,001$), но и у больных с минимальной (I степень) активностью ($t = 2,56$, $p < 0,05$). Повышенный уровень СПАВЛ обнаружен у 22 (95,6%) больных со II степенью активности СКВ с поражением нервной системы. К концу стационарного лечения значение СПАВЛ хотя и снизилось (статистически недостоверно: $t = 1,68$, $p > 0,05$), но оставалось достоверно выше нормальных значений ($t = 6,17$, $p < 0,001$). Процент больных с повышенным уровнем СПАВЛ после проведенного лечения в группе СКВ с поражением нервной системы умеренной активностью снизился (с 95% до 78,2%).

У больных с максимальной (III степень) активностью СКВ с поражением нервной системы уровень СПАВЛ был повышенным у всех больных - 13 человек (100%). В этой группе больных показатель СПАВЛ достоверно превышал соответствующий показатель у здоровых лиц ($t = 10,7$, $p < 0,001$) и у больных СКВ с поражением нервной системы и минимальной активностью ($t = 4,51$, $p < 0,001$) начал снижаться в процессе лечения, но это снижение, как и при II степени активности, не достигает статистической достоверности ($t = 1,9$, $p > 0,05$). Различие в отно-

Табл.1. УРОВЕНЬ СПАВЛ У ОБСЛЕДОВАННЫХ ЛИЦ

Группы обследованных	Число обследованных	M±m, усл. ед.	Частота положительных результатов	
			Абс.	%
1. Здоровые	30	4,7±1,9	5	16,6
2. Больные:				
2.1. СКВ с поражением нервной системы	52	26,1±1,8	48	92,3
2.2. СКВ без поражения нервной системы	14	23,3±1,9	12	85,7

Табл.2. УРОВЕНЬ И ЧАСТОТА ОБНАРУЖЕНИЯ СПАВЛ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ВАРИАНТАХ СКВ С ПОРАЖЕНИЕМ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Обследованные подгруппы	n	До лечения			Перед выпиской		
		M±m, усл. ед.	Частота положительных результатов СПАВЛ		M±m, усл. ед.	Частота положительных результатов СПАВЛ	
			Абс.	%		Абс.	%
СКВ с поражением нервной системы в целом	52	26,1±1,8	48	92,3	21,2±1,9	40	76,9
I ст. активности	16	20,5±1,63	13	81,2	14,7±1,5	10	62,5
II ст. активности	23	26,9±2,0	22	95,6	22,0±2,1	18	78,2
III ст. активности	13	30,5±1,5	13	100,0	25,2±2,3	12	92,3
Острое течение	19	30,2±2,0	19	100,0	25,5±2,1	17	89,4
Подострое течение	16	27,6±2,3	15	93,7	22,4±2,2	12	75,0
Хроническое течение	17	20,5±1,55	14	82,3	16,3±1,54	11	64,7
АНФ (+)	46	28,1±2,0	44	95,6	23,6±1,6	37	80,4
АНФ (-)	6	20,1±3,7	4	66,6	16,2±2,9	3	50,0
АФС (-)	30	27,89±2,43	30	100,0	22,9±1,9	25	83,3
АФС (+)	22	21,39±1,6	18	81,8	17,0±1,75	15	68,1

сительном значении СПАВЛ еще менее заметно, чем при умеренной активности. Процент больных с повышенным уровнем СПАВЛ за время лечения снизился со 100% до 92,3%. При этом уровень СПАВЛ у больных с III степенью активности СКВ с поражением нервной системы к концу лечения превышал нормальные показатели ($t=7,06$, $p<0,001$).

Из приведенных данных видно, что значение СПАВЛ достоверно возросло при переходе от минимальной (I) степени активности к максимальной (III). Увеличивалась и доля больных, у которых выявлялся повышенный уровень СПАВЛ. Разница в количестве больных, имеющих повышенный уровень СПАВЛ в начале и в конце лечения, наоборот,

уменьшилась при переходе от I к III степени активности.

Из 17 находившихся под нашим наблюдением больных СКВ с поражением нервной системы и хроническим течением 14 (82,3%) имели повышенный уровень СПАВЛ (таблица 2). Значение СПАВЛ при поступлении было достоверно выше, чем у доноров ($t=6,44$, $p<0,001$). Динамика уровня СПАВЛ у больных с хроническим течением в период стационарного лечения малозаметна. Снижение уровня СПАВЛ к концу стационарного лечения не достигло статистически достоверных значений ($t=1,9$, $p>0,05$). Но количество больных, имеющих повышенный уровень СПАВЛ, за время стационарного лечения

уменьшилось с 82,3% до 64,7%. Показатель СПАВЛ в этой группе больных после лечения был выше, чем у здоровых лиц ($t=4,83$, $p<0,001$).

Уровень СПАВЛ у больных СКВ с поражением нервной системы и подострым течением заболевания значительно превосходил показатели доноров ($t=7,68$, $p<0,001$). В ходе наблюдения к концу стационарного лечения показатель СПАВЛ снизился, но недостоверно ($t=1,63$, $p>0,05$). Количество больных с повышенным уровнем СПАВЛ уменьшилось с 93,7% при поступлении до 75,0% к концу лечения.

У больных СКВ с поражением нервной системы и острым течением уровень СПАВЛ был значительно выше, чем у здоровых лиц ($t=9,27$, $p<0,001$), больных СКВ с поражением нервной системы хроническим течением ($t=3,88$, $p<0,001$) и подострым (в виде динамики статистически недостоверно). Повышенный уровень СПАВЛ обнаружен у всех 19 (100,0%) больных. Динамика показателя СПАВЛ в ходе лечения у больных СКВ с поражением нервной системы и острым течением менее выражена, чем при подостром течении. Статистически достоверного снижения уровня СПАВЛ за время стационарного лечения у больных СКВ с поражением нервной системы острым течением не произошло ($t=1,62$, $p>0,05$) и показатель СПАВЛ при выписке был значительно выше, чем у доноров ($t=7,34$, $p<0,001$). Но, несмотря на это, число больных с повышенным уровнем СПАВЛ уменьшилось до 89,4%.

Из приведенных данных видно, что значение СПАВЛ у больных СКВ с поражением нервной системы при остром и подостром течении выше, чем у больных с хроническим течением.

Из 22 находившихся под нашим наблюдением больных СКВ с поражением нервной системы на фоне АФС 18 (81,8%) имели повышенный уровень СПАВЛ. В этой группе больных показатель СПАВЛ был достоверно выше по сравнению с донорами ($t=6,69$, $p<0,001$) и незначительно снизился к концу лечения ($t=1,81$, $p>0,05$). Несмотря на это, под влиянием терапии процент больных с повышенным уровнем СПАВЛ снизился с 81,8% при поступлении до 68,1% перед выпиской.

У больных СКВ с поражением нервной системы без АФС уровень СПАВЛ значительно превосходил показатели доноров ($t=7,54$, $p<0,001$) и больных СКВ с поражением нервной системы на фоне АФС ($t=2,32$, $p<0,05$). Динамика показателя СПАВЛ в группе больных СКВ без АФС была статистически недостоверной ($t=1,62$, $p>0,05$), хотя процент больных с повышенным уровнем СПАВЛ под влиянием лечения снизился со 100% до 83,3%.

Таким образом, показатель СПАВЛ у больных СКВ с поражением нервной системы на фоне АФС был достоверно ниже, чем у больных СКВ без АФС. Следует отметить, что невысокой уровень СПАВЛ у больных СКВ с поражением нервной системы на

фоне АФС коррелировал с невысокой клинико-лабораторной активностью этой формы болезни.

Больные СКВ с поражением нервной системы были разделены на серопозитивные и серонегативные формы по наличию антинуклеарного фактора (АНФ) в сыворотке крови.

У больных СКВ с поражением нервной системы и серонегативной формой болезни показатель СПАВЛ был достоверно выше, чем у доноров ($t=3,75$, $p<0,001$). Доля больных с повышенным уровнем СПАВЛ составляла 66,6%. Под влиянием лечения значение СПАВЛ недостоверно снизилось ($t=0,9$, $p>0,05$), а процент больных с повышенным уровнем СПАВЛ снизился до 50,0 %.

Из этого следует отметить то, что у больных СКВ с поражением нервной системы, у которых отсутствовал главный иммунологический феномен болезни – АНФ, но были явные клинико-лабораторные признаки СКВ, показатель СПАВЛ был положительным у большинства больных.

У больных СКВ с поражением нервной системы и серопозитивной формой уровень СПАВЛ был достоверно выше, чем у доноров ($t=8,50$, $p<0,001$) и больных СКВ с поражением нервной системы с серонегативной формой ($t=2,0$, $p<0,05$). Повышенный уровень СПАВЛ обнаружен у 95,6% больных СКВ с поражением нервной системы и серопозитивной формой. Динамика под влиянием лечения была недостоверной ($t=1,81$, $p>0,05$).

Таким образом, анализируя полученные данные, следует отметить то, что показатель СПАВЛ у больных СКВ с поражением нервной системы зависит от активности болезни (чем выше активность болезни, тем больше значение СПАВЛ), течения процесса (при остром и подостром больше, чем при хроническом течении), наличия клинико-лабораторных признаков АФС (у больных СКВ с поражением нервной системы на фоне АФС показатель СПАВЛ меньше, чем у больных СКВ без АФС).

На основании вышеуказанного можно предположить возможность использования коэффициента СПАВЛ в качестве дополнительного иммунологического показателя для уточнения активности патологического процесса при СКВ с поражением нервной системы, особенно для определения минимальной активности болезни у больных СКВ с поражением нервной системы.

Список литературы

1. Иванова М.М. ЦНС-Люпус: проблемы и достижения (результаты 10 летнего клинико-инструментального исследования) (лекция) // Терапевтический архив. – 2001. – №5. – 25-28.
2. Мамасаидов А.Т. В-клеточная активация при ревматических заболеваниях // Дисс. ...докт. мед. наук. – 4.00.39. – Волгоград. – 1997.

3. Мамасаидов А.Т. Современные методы иммунодиагностики нейролюпуса. // Вестник Омского государственного университета.-2002.-№5.-С. 32-34.
4. Мамасаидов А.Т. АС СССР 1719998 // Открытия и изобретения.-1992.-Бюллетень №10.
5. Насонов Е.Л., Сура В.В. Современные подходы к иммунологической диагностике аутоиммунных и иммунокомплексных болезней // Терапевтический архив.-1988.-№11.-С. 100-104.
6. Насонова В.А. Клиническая ревматология. - М.: Медицина, 1978.- 320 с.
7. Насонова В.А., Кончакова М.И. Течение системной красной волчанки с неврологическими синдромами // Вопросы ревматизма.-1965.-№1.-С.12-16.
8. Adelman D.C., Saltiel E., Klinenberg J.R. The neuropsychiatric manifestations of systemic lupus erythematosus // Semin. in Arthr. and Rheum.-1986.-V. 15.-№3.-P. 185-199.
9. Arita A., Loper-Longo F.J., Moreno F.C. et all. Association of anti-BB-Sm antilodies with anticardiolipin antibodies and trombosis in patients with systemic lupus erythematosus // Abstracts of XVIII ILAR Congress of Rheumatology, Barcelona, Spain.-1993.-P. 16.-Abstr. 36.
10. Ora D., Salaman M.R., Seifert M.N., Isenberg D.A. B-lymphocyte activation in systemic lipus erythematosus: Spantenous production of IgG antibodies to DNA and environmental antigens in cultures of blood mononuclear cells // Clin. and Exp. Immunol.-1988.-Vol. 73.-№3.-P. 430-435.
11. Small P., Mass M.F., Kohler P.F. et all. Central nervous system involvement in SLE: diagnostic profile and clinical features // Arthr. Rheum.-1977.-V. 20.-P. 869-878.
12. Yoshiva T., Eumihico S., Tushiyuci O. et all. Mechamism of spontaneous activation of B-cells in patients with systemic lupus erythermatosus. Analysis with anti-class II antibody // J. Immunol.-1988.-Vol. 14.-№3.-P. 761-767.

поступила в редакцию 25.05.2004

принята к печати 06.11.2004