

Т-КЛЕТОЧНЫЕ ИММУННЫЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ РАННЕЙ СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИИ

Т.А. Невская, Н.Г. Гусева, С.Г., Раденска-Лоповок, А.И. Сперанский
ГУ Институт ревматологии РАМН, Москва

Резюме

Генез патологического фиброза при системной склеродермии (ССД) остается неясным, однако Т-клеточным иммунным нарушениям придается важное значение в развитии и поддержании этого процесса.

Цель. Параллельное исследование Т-лимфоцитарных реакций в крови и тканях больных ранней ССД, их количественная оценка и изучение взаимосвязи с активностью заболевания.

Материал и методы. Содержание основного маркера активации Т-лимфоцитов - рецептора интерлейкина-2 (рИЛ-2Р) в крови было количественно определено методом ИФА у 68 больных ССД, а также в динамике у 40 больных, получавших глюкокортикоиды и/или Д-пеницилламин в дозах, адекватных активности болезни. Параллельно морфологически исследованы 45 биоптатов кожи, включая иммуногистохимическое фенотипирование клеточного состава инфильтратов.

Результаты. Ранняя стадия ССД характеризовалась наибольшей выраженностью процессов Т-лимфоцитарной активации, представленных CD 4+ Т-клеточной инфильтрацией кожи и повышенным уровнем рИЛ-2Р в крови. Серологические и морфологические признаки Т-лимфоцитарной активации положительно коррелировали с соединительнотканной фибропластической реакцией *in situ* и быстро прогрессирующим течением болезни. Установлена взаимосвязь между концентрацией рИЛ-2Р и выраженностью лимфоцитарной инфильтрации кожи, что свидетельствует о возможности количественной оценки иммуновоспалительных процессов в тканях на основании определения рИЛ-2Р в крови. Исследование содержания рИЛ-2Р в динамике подтвердило его связь с активностью ССД.

Заключение. Т-клеточная активация характерна для начальных этапов ССД и тесно связана с прогрессированием фиброзного процесса. Уровень рИЛ-2Р в крови может служить высокочувствительным маркером активности и прогноза ССД*.

Ключевые слова: системная склеродермия, иммуноморфология, Т-лимфоциты, цитокины

Системная склеродермия (ССД) - одно из наиболее тяжелых ревматических заболеваний, характеризующееся неуклонно прогрессирующим течением и высоким уровнем летальности [5]. В основе болезни лежит поражение соединительной ткани с преобладанием фиброза и патологии сосудов по типу облитерирующего эндартериолита, что клинически проявляется характерными изменениями кожи, опорно-двигательного аппарата, внутренних органов (легких, сердца, пищеварительного тракта, почек) и распространенными вазоспастическими нарушениями [2]. Среди различных взглядов на природу фиброзного процесса и микроваскулярного повреждения в настоящее время большое значение придается Т-клеточным иммунным нарушениям.

Медиаторы иммунных клеток, цитокины, рассматриваются как главные факторы в патофизиологии склеродермического фиброза. В исследованиях *in vitro* установлена их способность изменять функциональную активность фибробластов, в том числе рост, пролиферацию и продукцию компонентов межклеточного матрикса [17]. Т-клеточные иммунные нарушения играют важную роль в индукции генетически-детерминированной патологии фибробластов и клональной селекции их субпопуляции, отличающейся повышенной продукцией белков матрикса [12]. Развитие генерализованной сосудистой патологии при ССД также связывают с цитолитическим действием на эндотелиальные клетки активированных Т-лимфоцитов крови (субтип V δ 1+ γ / δ ТКР), присутствующих на ранней стадии болезни [9]. Т-клеточная аутореактивность доказана и в отношении компонентов базальной мембраны микрососудов [8]. В то же время представленные экспериментальные данные не получили убедительного клинического подтверждения, остается неясным значение Т-клеточных им-

*Исследование поддержано грантом РФФИ №01-04-48923.

мунных нарушений в формировании клинического симптомокомплекса ранней ССД, не уточнена взаимосвязь локальных иммунновоспалительных нарушений в тканях с серологическими маркерами Т-лимфоцитарной активации. С клинической точки зрения, изучение иммунных нарушений при ССД и их связи с процессами фиброобразования и сосудистой патологии может иметь важное значение для разработки серологических маркеров активности болезни. В настоящее время это является одним из приоритетных направлений исследований, что обусловлено малой информативностью имеющихся клинических и лабораторных показателей при оценке состояния больного ССД.

Целью настоящего исследования являлось количественное определение показателей Т-лимфоцитарной активации при ранней ССД и оценка их взаимосвязи с клинической и иммуноморфологической картиной болезни.

сроки наблюдения составляли от 1 года до 2,5 лет. Повторные исследования у каждого больного проводились от 1-го до 3-х раз с интервалом в 6 мес.

Клиническое обследование больных включало наряду с оценкой формы и варианта течения также детальную характеристику кожного синдрома, сосудистых проявлений, поражения опорно-двигательного аппарата [2,11]; анализ висцеральной патологии проводился отдельно для каждой системы внутренних органов на основании критериев Т. Medsger [11].

Оценка активности ССД осуществлялась с использованием балльных шкал, разработанных Европейским центром по изучению ССД в 2001г. [18]: 1 ст. активности - ≤ 3 баллов, 2 ст. - 3,5-6 баллов, 3 ст. - $\geq 6,5$ баллов. Минимальная, 1-ая степень активности ССД была у 31% пациентов, 2-ая - у 34% и 3-ая - у 35%.

Тяжесть ССД определялась на основании оцен-

Схема

МЕХАНИЗМЫ УЧАСТИЯ Т-ЛИМФОЦИТОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ФИБРОЗА И МИКРОВАСКУЛЯРНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПРИ ССД



Материал и методы

Обследовано 68 больных ССД, 64 жен. и 4 муж., в возрасте от 18 до 76 лет, средний возраст $45,5 \pm 13,4$ года. У 43 (63%) больных длительность ССД не превышала 3-х лет от появления кожных изменений (ранняя ССД-рССД). Все больные, включенные в исследование, удовлетворяли критериям АРА (1980). У 26 из них определена диффузная форма болезни (дССД), у 42 - лимитированная (лССД). Течение заболевания в 29 случаях (43%) было острым, в 17 (25%) - подострым и в 22 (32%) - хроническим. 40 больных ССД обследованы в динамике,

ки характера и выраженности висцеральной патологии [11, модификация], согласно которым выделяли 2 степени тяжести:

- **1 степень** (58% больных) - начальные признаки поражения легких (рентгенологические проявления базального пневмофиброза, снижение ФЖЕЛ до 70% от нормы), пищевода (незначительное, до 20 сек замедление продвижения сульфата бария по пищеводу в сочетании с симптомами отсутствия эпифренальной ампулы), сердца (ЭКГ признаки нарушения проводимости, фракция выброса левого желудочка (ФВЛЖ) не ниже 45%, ЭхоКГ признаки уплотнения и сепарации листков перикарда), почек (протеинурия до 1500 мг/сут, креа-

тинин крови ≤ 180 мкмоль/л);

● **2 степень** (42% больных) – тяжелое поражение легких (ФЖЕЛ $< 70\%$ от нормы и/или наличие легочной гипертензии), сердца (аритмия, ФВЛЖ $< 40\%$), желудочно-кишечного тракта (длительная, > 20 сек задержка сульфата бария в пищеводе, расширение просвета пищевода, изменение рельефа слизистой оболочки, клинические и рентгенологические признаки симптома мальабсорбции), почек (креатинин крови > 180 мкмоль/л, клубочковая фильтрация ≤ 60 мл/мин).

Определение уровня растворимого рецептора интерлейкина-2 (рИЛ-2Р) в сыворотке крови выполнено количественным иммуноферментным методом с использованием коммерческих наборов фирмы EuroClon (Англия). Исходя из рекомендаций фирмы изготовителя, верхняя граница нормы определялась как $M \pm 2\delta$ и составила 4950 пг/мл.

Морфологическое исследование биоптатов кожи из области нижней трети предплечья проведено у 45 больных (30 с ранней и 15 с поздней ССД) и включало оценку локализации и состава воспали-

Таблица 1.

КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГРУПП БОЛЬНЫХ ССД, ОБСЛЕДОВАННЫХ В РАННИЙ (рССД) И ПОЗДНИЙ (пССД) ПЕРИОДЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Параметры		рССД (n=43)	пССД (n=25)	p
Пол, %:	жен/муж	93/7	90/10	
Средний возраст, годы		44 $\pm$ 14	51 $\pm$ 13	<0,05
Форма заболевания, %:	диффузная	33	37	
	лимитированная	67	63	
Характер течения заболевания, %:	острое	47	12	<0,05
	подострое	27	33	
	хроническое	26	55	
Активность [18], %:	3 степень	45	10	<0,05
	2 степень	23	32	
	1 степень	32	58	
Общие симптомы, %		89	33	<0,0000
Синдром Рейно, %		98	100	
Ишемические дигитальные нарушения, %		47	60	
Кожный счет, баллы		14 $\pm$ 12	12 $\pm$ 11	
Стадия кожного процесса, %:	отек	78	23	<0,05
	индурация	22	16	
	атрофия	0	1	
Гиперпигментация, %		49	53	
Телеангиэктазии, %		27	53	<0,05
Суставные проявления, %		60	48	
Мышечная слабость, %		13	20	
Поражение, %	легких	84	86	<0,05
	сердца	51	80	
	ЖКТ	68	95	
	почек	7	0	
Тяжесть легочной патологии, %	1 степень	73	29	<0,0005
	2 степень	27	71	
Тяжесть кардиальной патологии, %	1 степень	69	40	<0,0005
	2 степень	31	60	
Тяжесть поражения ЖКТ, %	1 степень	91	44	<0,0005
	2 степень	9	56	
Кальциноз, %		20	36	

Таблица 2

**МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ИНФИЛЬТРАТОВ КОЖИ
У БОЛЬНЫХ ССД В РАННИЙ (рССД) И ПОЗДНИЙ
(пССД) ПЕРИОДЫ БОЛЕЗНИ**

Характеристика инфильтратов	рССД n=30	пССД n=15
Число клеток/0,002мм ²	31±22*	17±9
Клеточный состав:		
Лимфоциты	25±16*	14±8
Макрофаги	6,8±3,2*	3,8±2,8
Соотношение Лф/Мф*	4/1	5/1
Выраженность инфильтрации, %:		
0 ст.	19	46
1 ст.	22	27
2 ст.	11	14
3 ст.	7	13
4 ст.	41**	0

Примечание: *-p<0,001, **-p<0,0005.

тельно-клеточного инфильтрата, выраженности соединительнотканной фибропластической реакции, активации эндотелиальных клеток. Регистрировалось число клеток в квадрате размером 0,002мм² при увеличении x400. Количество фибробластов определялось на аналогичной площади отдельно при наличии сосуда (область гистиона) и в бессосудистом пространстве. В зависимости от числа клеток нами выделены 4 степени инфильтрации: 1 ст. - от 10 до 19 клеток, 2 ст. - от 20 до 29 клеток, 3 ст. - от 30 до 39 клеток и 4 ст. - 40 клеток и более. Иммунофенотипирование лимфоцитарного состава инфильтрата проводилось с использованием моноклональных антител фирмы DAKO (Дания) против общих маркеров Т - (CD3) и В-лимфоцитов (CD20), а также CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитарных маркеров. Для выявления молекулы межклеточной адгезии-1 (ICAM-1) применялись моноклональные антитела фирмы ООО "Сорбент" (Россия). Контрольная группа состояла из 10 человек, не страдавших ревматическими или кожными заболеваниями (2 муж. и 8 жен., средний возраст - 47±11 лет) и была сопоставима с основной по возрасту (p=0,3) и полу (p=0,5).

Результаты

Клиническая характеристика больных представлена в табл. 1, из которой видно, что группа рССД отличалась прогрессирующим течением болезни, начальными изменениями кожи и внутренних органов, меньшей распространенностью и тяжестью висцеральной патологии. Характеристика клинического симптомокомплекса этих больных послужила основанием для проведения клинкоморфологических сопоставлений и уточнения роли изучаемых нами иммунных факторов в патогенезе начальных этапов ССД.

Патоморфологическая картина начала заболевания характеризовалась активно протекающими иммуновоспалительными и фибропластическими

Таблица 3

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ АКТИВАЦИИ
ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ И ТУЧНЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ
ССД НА РАННЕМ И ПОЗДНЕМ ЭТАПАХ БОЛЕЗНИ**

Признаки	рССД n=30	пССД n=15	Контроль n=10
Наличие ICAM-1 на эндотелии сосудов, %	88	55*	0**
Увеличение числа дегранулированных тучных клеток в периваскулярной зоне, %	73	20*	20**

Примечание: *-p<0,03, **-p<0,0003, значения p даны в сравнении с показателями при рССД.

процессами: выраженной периваскулярной инфильтрацией, состоящей из Т лимфоцитов, макрофагов и активированных тучных клеток, экспрессией ICAM-1 на эндотелии сосудов, скоплением фибробластов в периваскулярных пространствах.

Периваскулярные инфильтраты были обнаружены в коже 81% больных рССД. Выраженность инфильтрации на начальных этапах была достоверно выше, чем на поздних (31±22 клетки/0,002мм² против 17±9 клеток/0,002мм², p<0,001). Установлен лимфогистиоцитарный состав инфильтратов со значительным преобладанием лимфоцитов (табл.2). Иммунофенотипирование лимфоцитарного компонента показало преимущественно CD 4+Т-клеточный состав инфильтратов на ранней стадии болезни (100% против 33%, p<0,0005) и смешанный Т и В-клеточный - на поздней. Следовательно, отличительной чертой рССД являлась не только достоверно большая выраженность инфильтрации, но и качественно другой ее состав - преобладание CD4+ Т-лимфоцитов.

К иммуновоспалительным изменениям, характерным для рССД, также относились морфологические признаки активации эндотелиальных и тучных клеток. У 73% больных наблюдались скопления тучных клеток в периваскулярных простран-

Рисунок 1

**ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЯ рИЛ-2Р (ПГ/МЛ)
В КРОВИ С ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ ССД (Г) (n=68)**

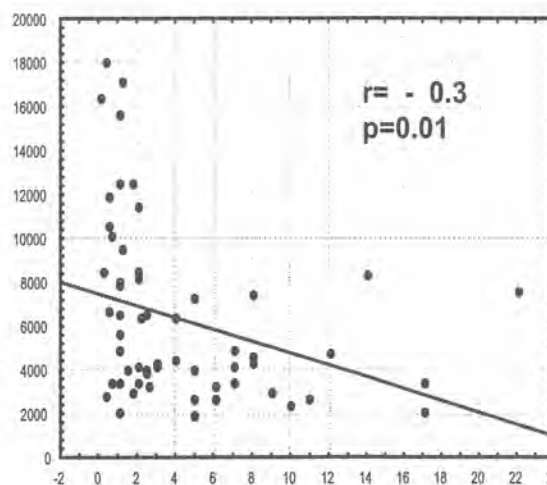


Таблица 4
ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЕЙ рИЛ-2Р В КРОВИ
С КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ
СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИИ (n=68)

Клинико-лабораторные параметры	коэффициент корреляции, r	p
Возраст пациентов, годы	-0,04	NS
Длительность заболевания, годы	-0,3	<0,05
Форма ССД	0,1	NS
Течение ССД	0,57	<0,0001
Общие симптомы:		
общая слабость	0,42	<0,001
похудание	0,45	<0,001
Кожные изменения:		
прогрессирование	0,58	<0,0001
кожный счет, баллы	0,28	<0,05
наличие отека кожи	0,29	<0,05
телеангиэктазии	-0,17	NS
гиперпигментация кожи	-0,17	NS
Сосудистые нарушения:		
прогрессирование	0,25	NS
наличие ишемических нарушений	-0,24	NS
выраженность синдрома Рейно	-0,27	<0,05
Суставно-мышечные изменения		
теносиновит/артрит	0,09	NS
утренняя скованность >1 часа	0,11	NS
мышечная слабость (степень)	0,42	<0,001
Прогрессирование висцеральной патологии	0,49	<0,001
СОЭ, мм/час	0,46	<0,001
СРБ, мг%	0,12	NS
Гемоглобин, г/л	-0,36	<0,05
Серомукоид, Ед	0,38	<0,05
γ-глобулины, %	0,3	<0,05
ЦИК, Ед	0,05	NS
IgG, мг%	0,25	<0,05
АНФ (титр)	0,6	<0,001

ствах, у 88% - наличие ICAM-1 на эндотелии сосудов. Эти изменения встречались достоверно чаще при рССД по сравнению с поздней ССД и контрольной группой (табл.3).

Параллельно с выраженными иммуновоспалительными изменениями в коже больных рССД наблюдалась активная фибропластическая реакция. Так, у большинства больных рССД (86%) обнаружено скопление фибробластов в периваскулярной зоне - в среднем 26 ± 17 клеток на единицу площади ($0,002\text{мм}^2$), что в $2,7 \pm 1,8$ раза превышало их количество в бессосудистом пространстве. Для сравнения - в контрольной группе количество фибробластов вокруг сосудов и в бессосудистых участках было одинаковым и составляло $8,6 \pm 2,6$ клеток ($p < 0,001$). При поздней ССД фибропластическая реакция также была выражена слабо (16 ± 7 клеток, $p < 0,02$).

Установлена достоверная взаимосвязь иммуновоспалительных и фибропластических изменений в коже больных ССД. Так, наблюдалась топографическая близость расположения Т-лимфоцитов, тучных клеток и фибробластов в периваскулярной зо-

не и прямая корреляция количества тучных клеток и лимфоцитов в составе инфильтратов с числом фибробластов ($r=0,59$, $p < 0,0001$, $r=0,6$, $p < 0,0001$ соответственно), что свидетельствует о взаимодействии этих клеток и об участии тучных и иммуннокомпетентных клеток в развитии фиброзного процесса. Обнаруженная нами связь между наличием ICAM-1 на эндотелии и периваскулярной воспалительной инфильтрацией ($\chi^2=6,12$, $p < 0,01$) указывает на важную роль молекул адгезии в формировании лимфоцитарных инфильтратов при ССД.

Высокая активность и острота течения заболевания ассоциировались с достоверно более выраженной воспалительной инфильтрацией кожи (32 ± 19 клеток/ $0,002\text{мм}^2$, $p < 0,02$), скоплением фибробластов в периваскулярных пространствах (23 ± 12 клеток/ $0,002\text{мм}^2$, $p < 0,007$) и экспрессией ICAM-1 на эндотелиальных клетках (100%, $p < 0,03$).

В целом, морфологическое исследование продемонстрировало важное патогенетическое значение Т-лимфоцитарной инфильтрации кожи: выявлена ее достоверная взаимосвязь с начальными этапами заболевания, остротой течения ССД и активностью соединительнотканной фибропластической реакции.

Количественная оценка Т-клеточной активации при ССД и ее роли в развитии отдельных висцеральных локализаций процесса была проведена путем определения в крови рИЛ-2Р - основного маркера активации Т-лимфоцитов.

Содержание рИЛ-2Р было достоверно выше у больных рССД по сравнению с более поздними этапами (7410 ± 4420 пг/мл против 4285 ± 1790 , $p < 0,0005$) и в целом имело обратную корреляцию с длительностью болезни (рис.1).

Установлена взаимосвязь рИЛ-2Р с остротой течения и активностью ССД (табл. 4, 5). Так, наиболее высокие уровни этого фактора были обнаружены у больных с острым течением ССД (8870 ± 4295 пг/мл) и максимальной, 3 степени активности (8925 ± 3945 пг/мл), а также у больных рССД с тяжелым поражением внутренних органов (8765 ± 4430 пг/мл, $p < 0,05$) и диффузной формой болезни (8855 ± 5070 пг/мл, $p < 0,04$), что указывает на связь процесса Т-лимфоцитарной активации с быстро прогрессирующим течением ССД.

Отмечена также прямая корреляция уровней рИЛ-2Р с основными клиническими проявлениями кожного и висцерального фиброза: величиной кожного счета, отеком кожи, прогрессированием кожной и висцеральной патологии к моменту обследования, а также тяжестью поражения мышц, выраженностью общих симптомов, СОЭ, гипергамма-глобулинемией и титром АНФ.

Исследование содержания рИЛ-2Р в динамике у 40 больных ССД подтвердило его связь с активностью заболевания. Снижение активности ССД ($n=20$) сопровождалось достоверным уменьшением уровня рИЛ-2Р в крови (7055 ± 3620 пг/мл и 3975 ± 2275 пг/мл, $p < 0,003$). Содержание этого фак-

Таблица 5

ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЯ рИЛ-2Р С ТЯЖЕСТЬЮ ВИСЦЕРАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ У БОЛЬНЫХ рССД

Тяжесть висцеральной патологии	Уровень рИЛ-2Р в сыворотке, пг/мл		
	ССД, n=68	Ранняя ССД, n=35	Поздняя ССД, n=33
Поражение легких: ФЖЕЛ $\geq$ 70%	5695 $\pm$ 3505	6525 $\pm$ 4175*	4580 $\pm$ 1930
ФЖЕЛ<70%	7560 $\pm$ 4915	9195 $\pm$ 4735	3075 $\pm$ 1155
Пневмофиброз: базальный	6000 $\pm$ 3865	7130 $\pm$ 4305	4010 $\pm$ 1645
диффузный	6830 $\pm$ 3805	8250 $\pm$ 4220	4875 $\pm$ 3805
Поражение сердца: 1 ст. тяжести	5980 $\pm$ 3510	6635 $\pm$ 3865	4380 $\pm$ 1665
2 ст. тяжести	6680 $\pm$ 4555	9215 $\pm$ 5405*	4525 $\pm$ 2100
Тяжесть в целом: 1 степень	5508 $\pm$ 3330	6170 $\pm$ 3770	4115 $\pm$ 1495
2 степень	6890 $\pm$ 4175	8765 $\pm$ 4430*	4400 $\pm$ 2005

Примечание: $p < 0,05^*$

тора в крови не изменялось при стабильно высокой (5570 $\pm$ 3625 пг/мл и 5225 $\pm$ 2550 пг/мл, $p=0,4$) или низкой (3175 $\pm$ 835 пг/мл и 2640 $\pm$ 745 пг/мл, $p=0,2$) активности ССД. Следовательно, уровень рИЛ-2Р в крови коррелирует с динамикой состояния больных и может быть использован при оценке эффективности проводимой терапии. Адекватная воспроизводимость этого показателя при стабилизации состояния больных доказывает его надежность в мониторинге активности ССД в каждом отдельном случае.

Особенно важно подчеркнуть, что уровень рИЛ-2Р достоверно отражал активность иммуновоспалительных и фибропластических процессов в тканях (рис.2). Так, обнаружена высокая прямая кор-

реляция между содержанием рИЛ-2Р в крови и количеством Т-лимфоцитов ($r=0,52$, $p < 0,01$) и фибробластов ($r=0,6$, $p < 0,001$) в коже.

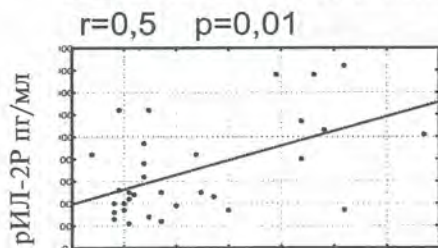
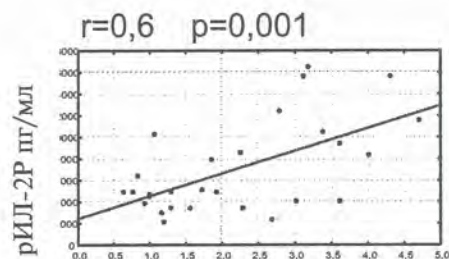
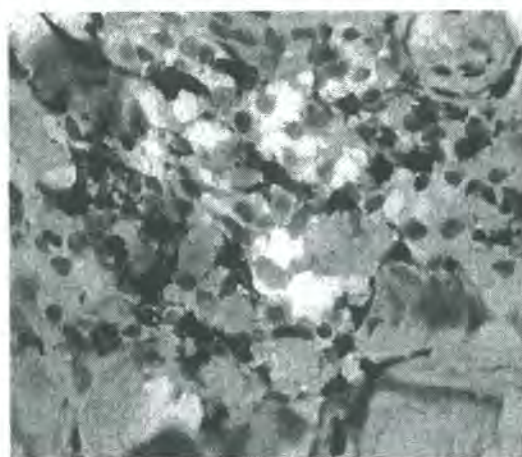
Обсуждение

Параллельное изучение локальных и системных иммуновоспалительных процессов у больных ССД позволило нам установить активацию Т-клеточного звена иммунитета в раннем периоде ССД и ее четкую связь с остротой течения болезни и отдельными клинико-лабораторными показателями активности.

Согласно полученным данным, отличительной морфологической чертой рССД являлась перивас-

Рисунок 2

КОРРЕЛЯЦИЯ УРОВНЯ ОСНОВНОГО МАРКЕРА АКТИВАЦИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ -рИЛ-2Р В КРОВИ С ЛОКАЛЬНЫМИ ИЗМЕНЕНИЯМИ В КОЖЕ БОЛЬНЫХ ССД: ВЫРАЖЕННОСТЬЮ ЛИМФОЦИТАРНОЙ ИНФИЛЬТРАЦИИ И СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННОЙ ФИБРОПЛАСТИЧЕСКОЙ РЕАКЦИЕЙ

Количество лимфоцитов на 0,002 мм²Количество фибробластов на 0,002 мм²Ранняя ССД. Кожа. $\times 1000$.

CD+ Т-лимфоциты.

Имунопероксидазная реакция.

кулярная инфильтрация дермы с преобладанием CD 4+Т лимфоцитов. Факт наличия мононуклеарной инфильтрации при ССД и ее характерная локализация (вокруг сосудов и потовых желез) отмечены в ряде работ [1,7], однако до настоящего времени не существует единого мнения о выраженности этой реакции и ее связи с клиническими особенностями заболевания. В течение многих лет склеродермическое поражение кожи рассматривалось как "типично невоспалительный" процесс. Проведенные нами исследования показали, что наличие и степень инфильтрации зависят от длительности заболевания и активности фиброзного процесса. Достоверно более выраженные иммуновоспалительные инфильтраты были обнаружены на ранней стадии болезни, в отдельных случаях число клеток в инфильтрате достигало 100 и более. Отличительной чертой рССД являлся преимущественно CD4+Т-лимфоцитарный состав инфильтрата, в то время как на поздней стадии имел место смешанный Т- и В-лимфоцитарный состав. Это согласуется с экспериментальными данными о значительной Т-лимфоцитарной инфильтрации кожи как характерном признаке начальных этапов склеродермического процесса [14]. Клиническая интерпретация обнаруженных морфологических изменений неоднозначна. В отличие от Н.Н. Грицман и соавт. [13], которые связывали высокую частоту продуктивных васкулитов с хроническим вариантом течения рССД, мы выявили четкую ассоциацию инфильтратов с активным прогрессирующим течением болезни. Значение периваскулярной клеточной инфильтрации как морфологического эквивалента активности ССД подтверждает и установленная К. Сондергаард и соавт. [14] взаимосвязь выраженности воспаления с прогрессированием кожного фиброза. Косвенным доказательством патогенетической связи этих процессов являются временные и топографические взаимоотношения лимфоцитов и фибробластов. Так, нами были выявлены скопления фибробластов в периваскулярном пространстве на ранней стадии ССД в непосредственной близости от клеток инфильтратов и отмечена достоверная прямая корреляция локальных иммуновоспалительных и фибропластических изменений. Следовательно, Т-клеточная инфильтрация кожи тесно взаимосвязана с клиническими и морфологическими признаками активного фиброзного процесса. Возможные механизмы участия Т-лимфоцитов в развитии фиброза при ССД, объясняющие полученные нами закономерности, представлены на схеме.

Установленная в исследовании взаимосвязь между выраженностью Т-клеточной инфильтрации и экспрессией ICAM-1 на эндотелиальных клетках согласуется с представлением о важной роли молекул адгезии в миграции лейкоцитов через эндотелий, их тканевой локализации и клеточного взаимодействия в процессе иммунного ответа. Связь ICAM-1 с активностью ССД подтверждают и дан-

ные S. Sollberg и соавт. о наличии этой молекулы только в местах активного фиброобразования [13].

Общий маркер Т-лимфоцитарной активации (растворимый рецептор ИЛ-2), по нашим данным, положительно коррелировал с выраженностью воспалительной инфильтрации в коже, а также с основными клиническими показателями активности ССД. Его содержание в крови было повышено у половины больных ССД, преимущественно в начале заболевания. Зависимость концентрации рИЛ-2Р в крови от длительности болезни, отмеченная в нашей и ряде других работ [6], свидетельствует об участии активированных Т-лимфоцитов в инициальных процессах фиброобразования при ССД. Ассоциация Т-клеточной активации с быстро прогрессирующим течением болезни подтверждается и значительным повышением сывороточного уровня рИЛ-2Р при развитии диффузного поражения кожи и тяжелой висцеральной патологии в раннем периоде ССД.

Исследование содержания рИЛ-2Р в динамике продемонстрировало чувствительность этого фактора к изменениям клинического статуса больных, что позволяет рекомендовать его использование в мониторинге активности ССД. С этим согласуются результаты работы V.D. Steen и соавт. [15], в которой на основании серийного определения уровня рИЛ-2Р в крови 38 больных ССД установлена его корреляция с динамикой кожного процесса и клинически оцениваемой активностью заболевания. Аналогичные данные получены и в исследовании P.G. Vlachoyiannopoulos и соавт. [19]. Высокая чувствительность рИЛ-2Р как показателя Т-клеточной активации подтверждена экспериментально. Так, доказано, что синтез и экспрессия высокоаффинного рецептора к ИЛ-2, как и высвобождение растворимого рецептора, являются ранними признаками Т-лимфоцитарной активации и дают представление о ее продолжительности [3].

Необходимо отдельно подчеркнуть выявленную нами взаимосвязь уровня рИЛ-2Р в крови с клинико-инструментальными признаками прогрессирования легочного и кардиального фиброза. Тяжесть фиброзного поражения этих органов определяет прогноз ССД, и, следовательно, высокие уровни рИЛ-2Р в крови могут иметь прогностическое значение. К настоящему времени опубликован ряд работ, подтверждающих роль активированных Т-лимфоцитов в развитии висцерального фиброза. Так, N. Takahashi и соавт. [16] при исследовании аутопсийного материала больной быстро прогрессирующей дССД, погибшей от сердечной недостаточности, выявили массивную инфильтрацию миокарда активированными Т-лимфоцитами. Инфильтраты состояли из натуральных киллеров и цитотоксических Т-лимфоцитов, которые обладали способностью распознавать и лизировать кардиомиоциты посредством высвобождения перфорины. В отдельных работах отмечена взаимосвязь легочного фиброза с наличием Т-лимфоцитарной инфильтрации

ткани и спектром цитокинов, вырабатываемых этими клетками [4,10]. На связь сывороточного уровня рИЛ-2Р с высокой летальностью больных ССД указывают и D.Deggiannis и соавт. [6].

Заключение

Таким образом, в данном исследовании доказано важное патогенетическое значение Т-лимфоцитарной активации в прогрессировании фиброзного процесса при ССД: ее достоверная взаимосвязь с начальными этапами и остротой течения болезни, соединительнотканной фибропластической реакцией *in situ*. Ранняя стадия ССД характеризовалась наибольшей выраженностью процессов Т-лимфоцитарной активации, представленной CD4+Т-лимфоцитарной инфильтрацией дермы и повышением уровня общего маркера активации Т-лимфо-

цитов - рИЛ-2Р, в крови. Установленная в исследовании прямая корреляция между концентрацией рИЛ-2Р и интенсивностью лимфоцитарной инфильтрации кожи свидетельствует о возможности количественной оценки иммуновоспалительных процессов в тканях на основании определения рИЛ-2Р в крови. В то же время тесная взаимосвязь морфологических и серологических признаков Т-лимфоцитарной активации с активным фиброобразованием в тканях и быстро прогрессирующим течением болезни позволяет рекомендовать количественное определение сывороточного уровня рИЛ-2Р для более полной и адекватной характеристики иммунного процесса, связанного с фиброобразованием, а также для оценки эффективности проводимой иммуносупрессивной и антифиброзной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грицман Н.Н., Мазнева Л.М., Макаров В.В. Морфологические изменения в биоптатах кожи в раннем периоде системной склеродермии в сопоставлении с клиническими данными. Вопросы ревматизма, 1981, 4, 31-35.
2. Гусева Н.Г. Системная склеродермия. Ревматические болезни, М., 1997, 172.
3. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Хорева М.В., Соколова Е.В.. Система цитокинов, комплемента и современные методы иммунного анализа. Учебно-методическое пособие, М., 2001.
4. Atamas S.P., Yurovsky V.V., Wise R. et al. Production of type 2 cytokines by CD8+ lung cells is associated with greater decline in pulmonary function in patients with systemic sclerosis. *Arthr.Rheum.*, 1999, 42, 6, 1168-1178.
5. Bryan C., Knight C., Black C.M., Silman A.J. Prediction of five-year survival following presentation with scleroderma. *Arthr.Rheum.*, 1999, 42, 12, 2660-2665.
6. Deggiannis D., Seibold J.R., Czarnecki M. et al. Soluble interleukin-2 receptors in patients with systemic sclerosis. Clinical and laboratory correlations. *Arthr.Rheum.*, 1990, 33, 375-380.
7. Fleischmajer R., Perlish J.S., Reeves J.R.T. Cellular infiltrates in scleroderma. *Semin.Arthr.Rheum.*, 1977, 13, 104-113.
8. Huffstutter J.E., deLustro F.A., LeRoy E.C. Cellular immunity to collagen and laminin in scleroderma. *Arthr.Rheum.*, 1985, 28, 775-780.
9. Kahaleh M.B., Fan F.Sh., Otsuka T. receptor bearing T cells in scleroderma: enhanced interaction with vascular endothelial cells *in vitro*. *Clin.Immunol.*, 1999, 2, 188-195.
10. Majumdar S., Li D., Ansari T. et al. Different cytokine profiles in cryptogenic fibrosing alveolitis and fibrosing alveolitis associated with systemic sclerosis: a quantitative study of open lung biopsies. *Eur. Respir. J.*, 1999, 14, 2, 251-257.
11. Medsger T.A., Silman A.J., Steen V.D. et al. A disease severity scale for systemic sclerosis: development and testing. *J.Rheumatol.*, 1999, 26, 2159-2167.
12. Piela-Smith T.H., Korn J.H. Lymphocyte modulation of fibroblast function in systemic sclerosis. *Clin. Dermatol.*, 1994, 12, 369-377.
13. Sollberg S., Peltonen J., Uitto J et al. Elevated expression of 1 and 2 integrins, intercellular adhesion molecule 1, and endothelial leukocyte adhesion molecule 1 in the skin of patients with systemic sclerosis of recent onset. *Arthr.Rheum.*, 1992, 35, 290-298.
14. Sondergaard K., Stengaard-Pedersen K., Zachariae H. et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) and soluble interleukin-2 receptors (sIL-2R) in scleroderma skin. *Br.J.Rheumatol.*, 1998, 37, 3, 304-310.
15. Steen V.D., Engel E.E., Charley M.R., Medsger T.A. Soluble serum interleukin 2 receptors in patients with systemic sclerosis. *J.Rheumatol.*, 1996, 23, 4, 646-649.
16. Takahashi N., Seko Y., Azuma M. et al. Evidence of cell-mediated cardiac myocyte injury involved in the heart failure of a patient with progressive systemic sclerosis. *Jpn.Circ.J.*, 1999, 63, 1, 68-72.
17. Trojanowska M., Le Roy E.C., Kekes B., Kreig T. Pathogenesis of fibrosis: type I collagen and the skin. *J.Mol.Med.*, 1998, 76, 266-274.
18. Valentini G., Della Rossa A., Bombardier S. et al. European multicentre study of disease activity variables and development of preliminary activity indexes. *Ann.Rheum.Dis.*, 2001, 60, 592-598.
19. Vlachoyiannopoulos P.G., Tsifetaki N., Dimitriou I. et al. Safety and efficacy of recombinant γ -interferon in the treatment of systemic sclerosis. *Ann.Rheum.Dis.*, 1996, 55, 761-768.

Поступила 28.03.06

Abstract

T.A. Nevskaya, N.G. Guseva, S.G. Radenska-Lopovok, A.I. Speransky

T-cell immune disturbances in early systemic sclerosis

Objective. To study T-lymphocyte reactions in blood and tissues of pts with early systemic sclerosis (SS), to perform their quantitative assessment, to evaluate correlation with activity of the disease.

Material and methods. Quantitative evaluation of the main T-lymphocyte activation marker - interleukin 2 receptor (IL2r) was performed by immuno-enzyme assay in 68 pts with SS. 40 pts receiving glucocorticoids and/or D-penicillamine in doses matched with the disease activity were examined repeatedly during follow up. Morphological examination of 45 skin biopsies with immunohistochemical phenotyping of infiltrate cell composition was also performed.

Results. Early SS stage was characterized by maximal intensity of T-lymphocyte activation processes with CD4+ T-lymphocyte skin infiltration and elevated IL2r blood level. Serological and morphological signs of T-cell activation correlated with connective tissue fibroplastic reaction in situ and quickly progressive course of the disease. IL2r level correlated with lymphocyte skin infiltration what prove the possibility of tissue immunoinflammatory processes assessment by means of IL2r blood level evaluation. IL2r level assessment during follow up confirmed its correlation with SS activity.

Conclusion. T-cell activation is a common feature of early SS and is tightly connected with fibrous process progression. Blood IL2r level can serve as highly sensitive marker of SS progression and prognosis.

Key words: *systemic sclerosis, immunomorphology, T-lymphocytes, cytokines*