

Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Ярославский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

КАПРЕЛЬЯНЦ

Елена Юрьевна

АПОПТОЗ НЕЙТРОФИЛОВ
И ЕГО СВЯЗЬ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМИ ФУНКЦИЯМИ КЛЕТОК
И ЦИТОКИНАМИ ПРИ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ И СКЛЕРОДЕРМИИ

14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук, доцент

РОМАНОВА Н. В.

доктор медицинских наук, доцент

ИЛЬИН М. В.

Ярославль – 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
1.1. Современные представления об иммунопатогенезе диффузных болезней соединительной ткани	16
1.2. Роль иммунных механизмов в развитии кожных и системных форм красной волчанки, ограниченной и системной склеродермии	19
1.3. Патогенетическая и клиническая значимость нарушений функциональной активности, апоптоза нейтрофилов и цитокинового профиля в развитии красной волчанки и склеродермии	38
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	49
2.1. Общая характеристика обследованных контингентов	49
2.2. Клиническая характеристика больных системной и дискоидной красной волчанкой	51
2.3. Клиническая характеристика больных системной и ограниченной склеродермией	55
2.4. Методы исследования	58
Глава 3. МАРКЕРЫ АПОПТОЗА, ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ И ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ У БОЛЬНЫХ РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКИ	64
3.1. Содержание CD95+ и ДНК нейтрофилов у больных диско- идной и системной красной волчанкой	64
3.2. Лизосомальная активность и кислородзависимый метаболизм нейтрофилов у больных дискоидной и системной красной волчанкой	68

3.3. Провоспалительные цитокины, циркулирующие иммунные комплексы, С-реактивный белок и антитела к ДНК у больных дискоидной и системной красной волчанкой	76
3.4. Сравнительная характеристика маркеров апоптоза циркулирующих нейтрофилов и иммунологических показателей при дискоидной и системной красной волчанке	82
Глава 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ МЕЖДУ ПОКАЗАТЕЛЯМИ АПОПТОЗА, МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ НЕЙТРОФИЛОВ И ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЦИТОКИНАМИ ПРИ ДИСКОИДНОЙ И СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ.	85
4.1. Взаимосвязи апоптоза, метаболизма нейтрофилов и уровня провоспалительных цитокинов у больных дискоидной и системной красной волчанкой	85
4.2. Сравнительная характеристика взаимосвязей апоптоза, метаболизма нейтрофилов и уровня провоспалительных цитокинов у больных дискоидной и системной красной волчанкой	91
Глава 5. МАРКЕРЫ АПОПТОЗА НЕЙТРОФИЛОВ У БОЛЬНЫХ ОГРАНИЧЕННОЙ И СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ	99
5.1. Уровень CD95+ и ДНК нейтрофилов у больных ограниченной и системной склеродермией	99
5.2. Лизосомальная активность и кислородзависимый метаболизм нейтрофилов у больных ограниченной и системной склеродермией	102
5.3. Провоспалительные цитокины, циркулирующие иммунные комплексы, С-реактивный белок у больных ограниченной и системной склеродермией	106

5.4. Сравнительная характеристика маркеров апоптоза циркулирующих нейтрофилов, метаболических функций нейтрофилов и цитокинов при ограниченной и системной склеродермии	110
Глава 6. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ ПОКАЗАТЕЛЯМИ АПОПТОЗА НЕЙТРОФИЛОВ С ИХ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ И УРОВНЕМ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ ОГРАНИЧЕННОЙ И СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ	113
6.1. Взаимосвязи апоптоза, метаболизма нейтрофилов и уровня провоспалительных цитокинов у больных огра- ниченной и системной склеродермией	113
6.2. Сравнительная характеристика взаимосвязей апоптоза, метаболизма нейтрофилов и уровня провоспалительных цитокинов у больных ограниченной и системной склеродермией	118
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	127
ВЫВОДЫ	147
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	150
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	151
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	153

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность научного исследования

Проблема иммунопатогенеза аутоиммунных заболеваний до сих пор является предметом дискуссий. Развитие этих болезней связывают с дефектами иммунорегуляции, утратой аутоотолерантности и активацией аутореактивных Т- и В-лимфоцитов, приводящими к возникновению воспалительной реакции в собственных тканях организма [18, 43, 44, 95, 108]. Разрабатывается также теория генетической предрасположенности к аутоиммунным болезням, обсуждается триггерная роль микроорганизмов в развитии аутоиммунных процессов, высказывается мнение относительно важной роли микрохимизма в возникновении этой патологии [8, 15, 35, 97, 107, 112, 169, 173, 186].

Перечень аутоиммунных заболеваний достаточно обширен. Классическим примером является системная красная волчанка (СКВ). В основе этой болезни лежит утрата аутоотолерантности, активация В-лимфоцитов с продукцией широкого спектра антител, преимущественно к нуклеиновым кислотам, с последующим формированием иммунных комплексов, играющих главную роль в иммунопатогенезе СКВ на фоне нарушений в сети цитокинов. Иммунные нарушения играют важную роль в патогенезе системной склеродермии, ревматоидного артрита, системных васкулитов, ревматизма, реактивных артритов и других ревматических заболеваний. Однако, несмотря на многие достижения в иммунологии и ревматологии, ряд проблем, связанных с иммунопатогенезом, диагностикой и лечением аутоиммунных ревматических заболеваний остаются спорными и до сих пор не решенными. Это относится к патологическим состояниям, при которых развиваются как системные поражения, так и местные (ограниченные, локальные, например,

кожные) формы, в частности, СКВ, интегументные (кожные) формы красной волчанки (ИКВ), системная склеродермия (ССД) и ограниченная склеродермия (ОСД), кожные и системные формы васкулитов, другие сходные между собой заболевания. Исследование механизмов развития подобных состояний в сравнительном аспекте и разработка на этой основе новых подходов к вопросам дифференциальной диагностики, лечения и профилактики представляется актуальной научной задачей, имеющей важное научно-практическое значение для современной медицины. Однако сведения научной литературы по данному вопросу применительно к различным формам красной волчанки и склеродермии немногочисленны и противоречивы [34, 41, 133, 141]. В отличие от системных форм указанных выше заболеваний вклад иммунопатогенетических механизмов в развитие ИКВ и ОСД исследован явно недостаточно [165, 190].

В этом плане представляют значительный интерес исследования процессов апоптоза или программированной гибели клеток, лежащих в основе адекватного функционирования иммунной системы у здорового человека [9, 51, 84, 114, 197, 214, 232]. Нарушение процессов апоптоза и элиминации клеток, характерное для аутоиммунного воспаления, является одним из факторов прогрессирования аутоиммунного заболевания и развития его осложнений [114, 232].

Среди клеток, принимающих участие в воспалительном процессе, особое внимание привлекает нейтрофил как постмитотическая клетка с высокой степенью дифференцировки, функциональной активности и настроенности на быструю гибель [9, 175]. Это позволяет считать ее одной из перспективных моделей для изучения апоптоза. Несомненный интерес вызывает нейтрофил и с точки зрения появления при СКВ волчаночных LE-клеток – нейтрофилов или моноцитов с крупными гомогенными базофильными включениями, представляющими собой фагоцитированные ядра клеток, покрытые антинуклеарными антителами.

В процессах апоптоза принимает участие множество факторов, в том числе гиперпродукция активных форм кислорода на фоне ослабления антиоксидантной защиты предрасполагает к гибели клетки, активируя каспазный каскад и запуская апоптоз, который регулируется экспрессией про- и антиапоптозных протеинов семейства Bcl-2. Эффекторные каспазы завершают апоптоз клетки. Предполагают наличие в лейкоцитах механизма апоптоза без активации каспаз, который инициируется через рецепторы фактора некроза опухоли α (TNF- α) [9].

Регуляция апоптоза осуществляется с помощью многих вне- и внутриклеточных механизмов. Индукция процесса апоптоза возникает при недостатке факторов роста, действии глюкокортикостероидов и других веществ со сходным эффектом в результате дисбаланса сигналов активации или экспрессии с последующим связыванием рецепторов для индукторов апоптоза [47, 56, 69, 86]. Имеются данные об активирующем влиянии цитокинов, неспецифических факторов (высокой температуры, токсических агентов, оксидантов, свободных радикалов, гамма- и УФ-излучения, бактериальных токсинов и др.). Вместе с тем сообщается об ингибции апоптоза гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором [247], интерлейкина-18(IL-18), инсулиноподобным фактором роста-1 (IGF1), антителами к Fas и др.

Данные научной литературы, касающиеся вопросов состояния апоптоза нейтрофилов и механизмах его регуляции у больных СКВ и ССД немногочисленны и противоречивы [85, 126, 177, 205]. В некоторых работах продемонстрирована активация этого процесса при указанных заболеваниях, тогда в других, напротив, показана его ингибция [13, 30, 118, 151, 121, 212, 214, 228]. Неисследованными являются особенности апоптоза нейтрофилов и его взаимосвязей с рядом иммунологических показателей при кожных и системных формах как СКВ, так и склеродермии, что и определило цель настоящей работы.

Степень разработанности темы исследования

По проблеме этиологии и патогенеза диффузных болезней соединительной ткани, в том числе красной волчанки и склеродермии, имеется обширная мировая и отечественная литература, однако эта проблема до сих пор не решена. Исследования, касающиеся процессов апоптоза и механизмов его регуляции при различных формах аутоиммунных ревматических заболеваний, в частности при красной волчанке и склеродермии, как в России, так и за рубежом по-прежнему остаются дискуссионными. Рассмотрение всех этих аспектов позволит расширить представления об иммунопатогенезе кожных и системных форм этих болезней, поможет разработать более эффективные подходы к их лабораторной диагностике и наметить новые мишени для терапевтических воздействий.

Цель исследования – изучение показателей апоптоза нейтрофила, его метаболических функций и уровней провоспалительных цитокинов у больных кожными и системными формами красной волчанки и склеродермии с поиском клиничко-иммунологических взаимосвязей у пациентов.

Задачи научного исследования

1. Изучение показателей апоптоза, кислородзависимого и кислороднезависимого метаболизма нейтрофилов, уровней провоспалительных цитокинов (интерлейкина-1 β , интерлейкина-6, фактора некроза опухоли α), С-реактивного белка, циркулирующих иммунных комплексов и антител

к ДНК у больных кожной (дискоидной) и системной красной волчанкой в зависимости от формы, активности, характера течения и клинических проявлений заболевания.

2. Установление взаимосвязей между показателями апоптоза и метаболических функций нейтрофила, провоспалительными цитокинами, С-реактивного белка, циркулирующих иммунных комплексов и антител к ДНК у больных дискоидной и системной красной волчанкой.
3. Исследование показателей апоптоза, кислородзависимого и кислороднезависимого метаболизма нейтрофилов, уровней провоспалительных цитокинов (интерлейкина- 1β , интерлейкина-6, фактора некроза опухоли α), С-реактивного белка, циркулирующих иммунных комплексов у больных ограниченной и системной склеродермией в зависимости от формы, активности, характера течения и клинических проявлений заболевания.
4. Выявление взаимосвязей показателей апоптоза с метаболическими функциями нейтрофила, уровнем провоспалительных цитокинов, С-реактивного белка, циркулирующих иммунных комплексов у больных ограниченной и системной склеродермией.

Научная новизна результатов исследования

1. Впервые проведено комплексное исследование маркеров апоптоза нейтрофилов, метаболических функций нейтрофилов, уровня провоспалительных цитокинов у больных дискоидной и системной красной волчанкой, ограниченной и системной склеродермией. Констатировано изменение ряда исследованных показателей, характер и степень выраженности которых зависят от формы, активности, характера течения заболеваний и их клинических проявлений.

2. Впервые определены общие признаки и различия маркеров апоптоза нейтрофилов, показателей кислородзависимого и кислороднезависимого метаболизма нейтрофилов, уровня провоспалительных цитокинов больных дискоидной и системной красной волчанкой, ограниченной и системной склеродермией.
3. Впервые установлена клиническая значимость определения уровня экспрессии CD95⁺ антигена нейтрофилами и количества ДНК клеток больных дискоидной и системной красной волчанкой, ограниченной и системной склеродермией.
4. Установлено существование при дискоидной и системной красной волчанке, ограниченной и системной склеродермии взаимосвязей между уровнем экспрессии маркеров апоптоза нейтрофилов и состоянием кислородзависимого и кислороднезависимого метаболизма нейтрофилов, а также содержанием провоспалительных цитокинов. Обнаружена корреляция между уровнем апоптоза нейтрофилов и клинико-лабораторными показателями, характеризующими активность воспалительного процесса. Продемонстрированы разнообразные взаимосвязи между исследованными показателями, впервые определены сходство и различия во взаимозависимостях маркеров апоптоза, метаболических функциях нейтрофилов и уровнем провоспалительных цитокинов больных дискоидной и системной красной волчанкой, ограниченной и системной склеродермией.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Полученные результаты позволяют научно обосновать и рекомендовать к практическому использованию новые подходы к обследованию больных дискоидной и системной красной волчанкой, ограниченной и системной склеродермией.

Исследование маркера апоптоза по данным определения повышенной экспрессии CD95⁺ антигена на нейтрофилах может быть использовано для определения активности патологического процесса, диагностики поражения сосудов, почек, и синдрома Рейно при системной красной волчанке. Поражения сосудов и почек, синдром Рейно при системной красной волчанке могут быть диагностированы по данным уменьшения количества ДНК нейтрофилов.

Различия в продукции активных форм кислорода по данным тестов спонтанной хемилюминесценции и оценки резервных функций нейтрофилов у пациентов с дискоидной красной волчанкой целесообразно применять для дифференциации эритематозной стадии с более высокими показателями спонтанной продукции активных форм кислорода и более низкими – индуцированной продукции и резервных функций фагоцитов от гиперкератозно-инфильтративной и атрофической стадий болезни. Аналогичные изменения кислородзависимого метаболизма нейтрофилов могут быть использованы при системной красной волчанке для определения активности патологического процесса.

Снижение индуцированной люминолзависимой хемилюминесценции нейтрофилов может служить диагностическим критерием при суставном синдроме, повышение – при поражениях кожи, увеличение по результатам всех тестов – при синдроме Рейно. Синдром Рейно может быть также диагностирован по данным изучения индуцированной активации лизосом.

Повышение уровня интерлейкина-6 и фактора некроза опухоли α в крови исключительно при системной красной волчанке может быть использовано для дифференциации системной и дискоидной красной волчанки, увеличенное содержание интерлейкина-1 β , циркулирующих иммунных комплексов, С-реактивного белка, а ДНК – для определения активности патологического процесса при системной красной волчанке.

Увеличение содержания интерлейкина-1 β может служить диагностическим критерием кожного синдрома и синдрома Рейно, интерлейкина-4 и фактора некроза опухоли α – синдрома Рейно при системной красной волчанке.

Методология и методы исследования

Методология данной работы спланирована согласно цели исследования и включает современные методы научного познания для определения характеристик компонентов, необходимых для решения поставленных задач.

Теоретической основой исследования являются данные научной литературы по проблеме иммунопатогенеза различных форм красной волчанки и склеродермии.

Предметом исследования явилась взаимосвязь апоптоза нейтрофила с его метаболическими функциями, уровнем провоспалительных цитокинов и клиническими проявлениями у больных дискоидной и системной красной волчанкой, ограниченной и системной склеродермией.

Объектом исследования послужила кровь пациентов, страдавших различными формами красной волчанки и склеродермии, а также практически здоровых лиц.

В работе применялся комплекс клинических, иммунологических, статистических методов исследования.

Положения, выносимые на защиту

1. Изменения апоптоза, метаболических функций нейтрофилов и провоспалительных цитокинов играют важную роль в иммунопатогенезе кожных и системных форм красной волчанки, ограниченной и системной склеродермии.
2. Выраженность изменений маркеров апоптоза, метаболизма нейтрофилов и провоспалительных цитокинов, а также их характер зависят от формы, активности, течения и клинических проявлений красной волчанки и склеродермии.

3. Имеются как общие признаки, так и различия маркеров апоптоза нейтрофилов, показателей кислородзависимого и кислороднезависимого метаболизма нейтрофилов, уровней провоспалительных цитокинов у больных дискоидной и системной красной волчанкой, ограниченной и системной склеродермией.
4. При дискоидной и системной красной волчанке, ограниченной и системной склеродермии существуют взаимосвязи между уровнем экспрессии маркеров апоптоза нейтрофилов, состоянием метаболических функций нейтрофилов и уровнями провоспалительных цитокинов. Выраженность и характер этих взаимосвязей имеют черты сходства и различий при дискоидной и системной красной волчанке, ограниченной и системной склеродермии.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность полученных результатов основана на достаточном объеме материала и современных методах сбора и обработки информации (клиническое и иммунологическое исследование крови 184 пациентов и здоровых лиц в качестве контроля с определением маркеров апоптоза нейтрофилов, кислородзависимого и кислороднезависимого метаболизма клеток, провоспалительных цитокинов). В работе использовано сертифицированное и поверенное оборудование. Положения диссертационной работы научно обоснованы данными литературы, результаты подтверждены статистически и документированы таблицами и рисунками. Предложены рекомендации для практического применения, дальнейших научных исследований, использования в учебном процессе.

Диссертационная работа апробирована на межкафедральном собрании государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Апробация результатов исследования

Основные положения работы доложены и обсуждены на V съезде ревматологов России (Москва, 2009), X Международном конгрессе «Современные проблемы аллергологии, иммунологии, и иммунофармакологии» (Казань, 2009), научно-практической конференции, посвященной 125-летию со дня рождения профессора А. И. Поспелова (Иваново, 2010), научной конференции «Актуальные вопросы медицинской науки», посвященной 65-летию ЯГМА (Ярославль, 2009), VI национальном конгрессе терапевтов (Москва, 2011), VII Всероссийской конференции ревматологов России (Владимир, 2012), VI съезде ревматологов России (Москва, 2013), IX Международной конференции «Микроциркуляция и гемореология» (Ярославль, 2013), Международном форуме «Клиническая иммунология и аллергология – междисциплинарные проблемы» (Казань, 2014).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты работы внедрены в работу кафедры кожных и венерических болезней, межкафедральной научно-исследовательской лаборатории на базе кафедры микробиологии с вирусологией и иммунологией ГБОУ ВПО ЯГМУ Минздрава России, полученные данные используются при чтении лекций и проведении практических занятий для интернов, ординаторов, слушателей факультета последипломного образования и студентов всех факультетов ГБОУ ВПО ЯГМУ Минздрава России.

Личное участие автора в получении результатов

Автором составлен план работы, представлен аналитический обзор литературы, выполнены исследования, статистическая обработка полученных данных.

Иммунологические исследования проведены на кафедре микробиологии с вирусологией и иммунологией ГБОУ ВПО ЯГМУ Минздрава России (заведующий – доктор медицинских наук, профессор В. А. Романов). Соискатель провёл систематизацию полученных данных, сформулировал выводы и практические рекомендации.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, в том числе 4 статьи в научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на русском языке на 179 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследования», 4 глав собственных исследований, заключения и выводов. Список литературы включает 247 источников, из них 75 отечественных и 172 иностранных. Диссертация иллюстрирована 48 таблицами, 18 рисунками.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современные представления

об иммунопатогенезе диффузных болезней соединительной ткани

Диффузные болезни соединительной ткани, в основе патогенеза которых лежат дефекты иммунорегуляции, приводящие к неконтролируемой гиперпродукции аутоантител и развитию хронического воспаления с поражением многих органов и систем, относятся к числу наиболее распространенных и тяжелых заболеваний человека. Их частота в популяции составляет 5–8% и продолжает интенсивно возрастать [43]. Особенно тревожной тенденцией является трехкратный рост заболеваемости СКВ за последние сорок лет [11].

СКВ на протяжении многих лет находится в центре внимания как клинической, так и теоретической медицины. Являясь относительно редким заболеванием с распространенностью около 1 случая на 1 000 населения, эта патология имеет большое социальное и медицинское значение. Экономическая значимость СКВ обусловлена преимущественным поражением лиц трудоспособного возраста, преобладанием среди заболевших женщин детородного периода жизни, что ведет к большим прямым и косвенным затратам на лечение. Среди популяции всех лиц, страдающих ревматическими болезнями взрослых, пациенты с СКВ заболевают в более раннем возрасте и имеют меньшую длительность болезни до выхода на инвалидность [43, 44].

СКВ – хроническое аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся утратой ауто толерантности, поликлональной активацией В-лимфоцитов и гиперпродукцией широкого спектра органонеспецифических аутоантител к различным компонентам ядра с формированием иммунных комплексов, способных фиксироваться в тканях и вызывать иммуновоспалительное повреждение внутренних органов [54, 128, 172]. В настоящее время вопросы патогенеза СКВ продолжают привлекать внимание исследователей в связи

с вновь выявленными нарушениями в системе Т-регуляторных лимфоцитов, неэффективностью супрессорных механизмов, изменениями в моноцитарно-макрофагальном звене иммунной системы, дисбалансом растворимых медиаторов клеточно-клеточных взаимодействий типа моно-, лимфо- и интерлейкинов а также нарушением процесса апоптоза [113, 119, 177, 205, 237, 246].

Считается, что в основе патогенеза СКВ лежит совокупность факторов внешней среды и генетической предрасположенности (главным образом, инфекционные триггеры и воздействие УФ-излучения), а также аномалии врожденного и адаптивного иммунитета [210, 237]. На реализацию волчаночного фенотипа влияют половые различия (заболевание чаще развивается у женщин, соотношение женщин и мужчин составляет 10:1) [43, 44], расовая и этническая принадлежность [120, 215], а также особенности поведения (воздействие УФ-излучения, курение, прием некоторых лекарственных препаратов) [158].

Генетическая предрасположенность является одним из ключевых моментов патогенеза СКВ. Конкордантность между монозиготными близнецами составляет приблизительно 30–40%, что в 8–20 раз выше, чем среди дизиготных [97]. Различные исследования геномного профиля выявили много кандидатных генов, влияющих на особенности манифестации, течения и исходов болезни у различных категорий больных СКВ и играющих важную роль в механизмах развития заболевания, а также являющихся потенциальными мишенями для фармакологических воздействий. Важнейшие идентифицированные гены включают BLK, FCγR3B, TREX1 и FcγRIIA [113, 177]. Активно обсуждается вопрос о роли полиморфизма генов, в частности гена ингибитора активатора плазминогена-1 (ИАП-1), ассоциирующегося с развитием сердечно-сосудистых осложнений, а также генов hOGG1 и C1245G, полиморфизм которых связывают с предрасположенностью к развитию люпус-нефрита у больных СКВ [227]. Изучение семейных случаев волчанки, а также ювенильной СКВ сделали возможным идентификацию моногенных причин заболевания. Среди важнейших факторов, которые могут привести к моногенной

СКВ, упоминается недостаточность различных компонентов системы комплемента, генетически обусловленная гиперпродукция интерферона α (ИФН- α) и дефекты апоптоза [97].

Триггерная роль микроорганизмов в развитии аутоиммунных ревматических заболеваний на современном этапе является доказанной. Полагают, что инфекционные агенты являются решающим внешнесредовым фактором в этиопатогенезе СКВ [107, 206]. Среди различных бактерий *Helicobacter pylori* ассоциируется со многими аутоиммунными заболеваниями [8]. Исследуется вклад микобактерий туберкулеза и лепры в патогенез СКВ, которые могут выступать в качестве потенциального триггерного фактора, однако эта связь еще недостаточно изучена [169]. Имеются сведения о связи вирусных инфекций с развитием СКВ, в частности вирусов Эпштейна – Барр, цитомегаловируса, парвовируса B19 и вирусов группы HERV (человеческого эндогенного ретровируса) HRES-1, ERV-3, HERV-E 4-1, HERV-K10 и HERV-K18, которые включаются в структуру ДНК клетки и таким образом могут выступать триггерным фактором в запуске аутоиммунной реакции посредством молекулярной мимикрии. Это вызывает ответную перекрестную реакцию против собственных антигенов, которая ведет к изменению процесса апоптоза и завершается потерей иммунотолерантности [110, 206, 242].

Микроорганизмы могут играть роль в этиопатогенезе антифосфолипидного синдрома (АФС), в частности, быть инициаторными триггерами продукции антител, перекрестно реагирующих с beta 2 glycoprotein I (Beta 2 GPI), а также индуцировать воспалительный ответ. Установлено, что переваривание бактериальной ДНК моноцитами периферической крови нарушено у пациентов как с системной, так и с дискоидной формами красной волчанки, вследствие чего фрагменты ядерного материала микроорганизмов могут длительно сохраняться в тканях больных, способствуя персистенции воспаления [8, 106, 207, 208].

Получены данные о связи предшествующей вакцинации с развитием аутоиммунных реакций. Имеются сведения, что различные компоненты некоторых вакцин могут вызывать аутоиммунные побочные реакции у предраспо-

ложенных лиц. В частности, сообщалось о связи между иммунизацией вакциной против вируса папилломы человека и появлением волчаночноподобных состояний у лиц с отягощенным семейным анамнезом по аутоиммунным заболеваниям [145]. Опубликовано сообщение, что иммунизация вакциной против гепатита В вызывала ухудшение функции почек в модели СКВ у животных [148]. Это свидетельствует о необходимости дальнейших исследований для оценки безопасности вакцинации пациентов с аутоиммунными ревматическими заболеваниями или в случаях повышенного риска развития аутоиммунных реакций.

Взаимодействия ген – ген и ген – факторы внешней среды остаются предметом для исследований. Воздействия окружающей среды, такие как физические или инфекционные агенты, а также внутренние факторы – генетический и гормональный профиль – могут влиять на манифестацию болезни. СКВ характеризуется комплексными иммунными нарушениями как врожденного, так и адаптивного иммунитета. Все эти процессы играют роль в нарушении клиренса хроматинного материала с последующей гиперстимуляцией иммунной системы, что вызывает аутоиммунный ответ вследствие дефектов регуляторных механизмов. Продукция широкого спектра аутоантител является финальным событием, ответственным за повреждение тканей. Повреждению тканей способствует также присутствие локальных факторов, способствующих усугублению повреждения в очагах и клинической манифестации СКВ [237, 170].

1.2. Роль иммунных механизмов в развитии кожных и системных форм красной волчанки, ограниченной и системной склеродермии

Специфический для СКВ механизм активации аутоиммунитета до настоящего времени достоверно не установлен. Наиболее перспективной направлением считается гипотеза о возможности взаимосвязи между индукцией им-

мунного ответа к аутоантигенам и нарушением процессов апоптоза при СКВ. Неэффективный клиренс умирающих клеток и последующее накопление апоптотических клеток ведет к постоянному присутствию клеточного детрита и, как следствие, к запуску аутоиммунных реакций [83]. Существует мнение, что постапоптотический детрит накапливается в зародышевых центрах, активирует комплемент и служит сигналом для выживания аутоотолерантных В-клеток [214]. В присутствии антител против апоптотических клеток накапливаются постапоптотические остатки, вызывающие формирование иммунных комплексов, нарушение их элиминации и поддержку аутовоспаления. Апоптотический детрит постоянно присутствует как в экстрацеллюлярном матриксе, так и в циркулирующей крови у пациентов с СКВ, и его накопление ведет к активации как врожденного, так и приобретенного иммунитета [177, 205]. В норме мертвые клетки быстро фагоцитируются резидентными макрофагами, что имеет противовоспалительное значение и оказывает иммуносупрессивный эффект [118]. При СКВ апоптотические клетки не удаляются должным образом, что ведет к нарушению аутоотолерантности.

Активация аутореактивных В-клеток и продукция антинуклеарных антител – первая ступень этиопатогенеза СКВ. Вторая – формирование иммунных комплексов, состоящих из ядерных остатков апоптотических клеток и соответствующих антител, которые депонируются в различных органах, повреждая их. Иммунные комплексы, содержащие нуклеиновые кислоты, могут также поглощаться фагоцитами, которые в последующем продуцируют провоспалительные цитокины. Все эти процессы ведут к повреждению органов и тканей, развитию и хронизации аутоиммунных заболеваний [83, 95, 154].

По современным представлениям, системное поражение при данном заболевании является следствием не только развивающихся иммунопатологических механизмов, но и различных нарушений, связанных с метаболическими процессами, происходящими на клеточном или субклеточном уровнях, медиаторами которых являются ферменты. Интенсификация реакций свобод-

но-радикального окисления при СКВ ведет к усилению образования активных форм кислорода, которые могут оказывать патогенное воздействие на биомолекулы и структуры клетки непосредственно либо инициируя процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) [59]. Активные формы кислорода также функционируют в качестве вторичных передающих звеньев, стимулирующих NF-карра В, который регулирует спектр генов, ответственных за воспалительный ответ [144].

Важнейшим тестом лабораторной диагностики СКВ является обнаружение циркулирующих аутоантител к клеточным (в основном ядерным) антигенам: двуспиральной ДНК (anti-dsDNA) и гистонам (anti-HST) [6, 42]. Апоптоз и продукция аутоантител являются важными факторами в патогенезе СКВ, ассоциирующимися с активностью болезни. Доказано, что циркулирующие аДНК антитела способны потенцировать апоптоз нейтрофилов у больных СКВ, а также усиливать их функциональную активность, что напрямую коррелирует с активностью заболевания [223].

В последние годы проводился ряд исследований, посвященных определению сывороточного уровня антител к каталазе и ксантиоксидазе; выявлена достоверная зависимость их содержания от активности СКВ. Установлено также, что антитела к каталазе и ксантиоксидазе могут влиять на функциональную активность ферментов сыворотки крови [46, 55, 94]. При СКВ до настоящего времени сохраняет диагностическое значение определение в крови маркеров воспаления, сывороточный уровень которых находится в зависимости от активности заболевания [6, 33, 42]. Известно, что повышение сывороточного уровня циркулирующих иммунных комплексов, антистрептолизина-О, СРБ, ревматоидного фактора, антинуклеарного фактора является диагностическим признаком и маркером активности заболевания, что свидетельствует о неблагоприятном течении и прогнозе заболевания, а также о возможности перехода кожной формы красной волчанки в системную [34, 44].

Привлекают внимание работы, связанные с изучением роли Toll-like рецепторов в патогенезе СКВ [142, 243]. Расширение знаний о факторах врожденного иммунитета, таких как Toll-like и Fc рецепторы, о клеточных рецепторах для комплемента и цитокинов, а также таких клеток, как нейтрофилы, макрофаги и дендритные клетки, иммунопатогенетические отношения между которыми являются дисрегулированными при СКВ, позволяет расширить представления о патогенезе заболевания и служить перспективным направлением для разработки новых методов терапевтической коррекции [142].

Не вызывает сомнения факт наличия множественных нарушений в цитокиновом профиле больных волчанкой. Цитокины, как фундаментальный механизм регуляции гомеостаза иммунной системы, играют важную роль в этиологии и патогенезе СКВ [154]. В сыворотке больных значительно повышен уровень таких провоспалительных цитокинов, как IL-1, 4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-а [60, 102, 125]. При СКВ цитокинемия выражена в значительно большей степени, чем при ряде других ревматических заболеваний, в частности таких, как анкилозирующий спондилит и ревматоидный артрит. Состояние системы цитокинов при СКВ представляется дисрегулированным и, возможно, отражает состояние гиперстимуляции клеточных элементов, вовлеченных в воспалительную реакцию на фоне ограничения действия их на уровне клетки, выполняющей протективную роль.[20, 41]. Важную роль в патогенезе волчанки играет также снижение сывороточного уровня противовоспалительных цитокинов, в частности IL-2, IL-15, IL-21, следствием чего является усугубление иммунных нарушений в виде снижения количества регуляторных Т-клеток, контролирующей экспансию аутореактивных Т-лимфоцитов, необходимых для ингибирования аутоиммунных реакций и блокирования цитотоксичности [168].

Одним из перспективных направлений в понимании патогенеза СКВ является изучение роли нарушений моноцитарно-макрофагального звена иммунной системы в манифестации и хронизации заболевания. В последние

годы все большее внимание ряда исследователей направлено на исследование патологии нейтрофилов, являющихся наиболее многочисленным пулом клеток врожденной иммунной системы [9, 175]. Нейтрофилы являются важными регуляторами как врожденного, так и адаптивного иммунного ответа [164]. За последние десять лет получены убедительные доказательства участия нейтрофилов в инициации и хронизации СКВ, а также в повреждениях органов, часто наблюдаемых у пациентов с этим заболеванием. Последние данные свидетельствуют о том, что изменение процессов клеточной смерти фагоцитов играет центральную роль в развитии аутоиммунных заболеваний, в том числе и волчанки [159, 160, 164, 175].

Несколько источников сообщают об обнаружении в сыворотке крови больных волчанкой аномального подкласса нейтрофилов, называемых гранулоцитами низкой плотности (LDGs), которые экспрессируют на своей поверхности маркеры зрелых нейтрофилов, однако их ядерная морфология соответствует незрелым клеткам [139]. Подобные расхождения в статусе созревания нейтрофилов часто наблюдаются при геномных повреждениях, и этот факт может свидетельствовать о том, что повышенный уровень LDGs в крови больных СКВ отражает роль генетических альтераций и геномной нестабильности в развитии болезни [139, 159, 162, 180]. LDGs способны к синтезу так называемых нейтрофильных экстрацеллюлярных ловушек (NETs), которые способны непосредственно повреждать клетки эндотелия, а также стимулировать синтез TNF- α плазмацитоидными и дендритными клетками [119, 164]. Вовлеченные в патологический процесс кожа и почки больных СКВ инфильтрированы аномальными «netting» – нейтрофилами. Образование нейтрофильных ловушек в тканях ассоциировано с повышенным сывороточным уровнем аДНК у лиц с СКВ [180].

Нейтрофильные экстрацеллюлярные ловушки (NETs) высвобождаются в процессе одной из форм клеточной смерти, называемой NETозом (NETosis). Обнаружено, что процесс образования ловушек (NETosis) опирается на актив-

ность NADPH (никотинамидадениндинуклеотидфосфата) фагоцитов и оксидазы Nox2 в нейтрофилах [103]. NET состоят из сетки хроматина, соединенной с антимикробными пептидами, играющими важную роль в иницировании ответа на микробную инфекцию. Волчаночные нейтрофилы, в частности их абберантный подкласс, называемый гранулоцитами низкой плотности (LDGs) имеют повышенную способность подвергаться NET-озу. ИФН- α и иммунные комплексы являются потенциальными триггерами повышения NETоза у больных волчанкой. (NETs) являются мощным стимулом синтеза ИФН- α плазмацитоидными и дендритными клетками, что может играть важную роль в развитии волчаночного фенотипа, а также могут непосредственно повреждать ткани, включая эндотелий сосудов с развитием люпус-нефрита и ускорением процесса атеросклероза. Высказывается мнение о ключевой роли NETоза в индукции аутоиммунитета и развития поражения органов у пациентов с СКВ [159, 160]. Достаточно ли абберантного NETоза как триггера волчанки и может ли его ингибирование уменьшить клинические проявления волчанки? Эти вопросы остаются открытыми и подлежат дальнейшему исследованию [159, 162].

В настоящее время выдвинута свободнорадикальная теория патогенеза СКВ, показана роль окислительного стресса нейтрофилов в развитии заболевания [13, 30, 63].

Продолжают привлекать внимание исследователей вопросы, связанные с изучением феномена апоптоза как важнейшего патогенетического фактора при различных воспалительных заболеваниях [51]. Доказано, что развитие системного воспалительного процесса сопровождается нарушением регуляции апоптоза нейтрофилов, что ассоциируется с поражением внутренних органов при СКВ [13, 30, 63]. Окислительное повреждение ДНК, а также увеличение уровня апоптоза нейтрофилов является фактором иммунной активации и срыва иммунотолерантности у больных СКВ [183]. Результаты нескольких исследований свидетельствуют об усилении апоптоза нейтрофилов у больных активной СКВ [60], что сопровождается нарушением процессов распознавания

и клиренса апоптотических клеток и ведет к прогрессированию аутоиммунных реакций [150]. Показано, что адНК могут индуцировать апоптоз нейтрофилов здоровых доноров. Имеются убедительные данные о значительном увеличении апоптоза нейтрофилов у больных СКВ по сравнению со здоровыми донорами или с больными ревматоидным артритом [85].

Столь же дискуссионными, как и при СКВ, являются иммунопатологические механизмы развития ССД. Это заболевание из группы диффузных болезней соединительной ткани неизвестной этиологии, которое характеризуется гетерогенной клинической симптоматикой с характерным поражением кожи, опорно-двигательного аппарата, внутренних органов (легких, сердца, пищеварительного тракта, почек), распространенными вазоспастическими нарушениями по типу синдрома Рейно и труднопрогнозируемым течением [18, 19]. Заболевание проявляется в виде распространенных функциональных нарушений и структурных изменений сосудов, преимущественно микроциркуляторного русла, прогрессирующего периваскулярного и интерстициального фиброза, аутоиммунной активации [5, 18, 19]. Распространенность ССД составляет около 240 случаев на 1 млн населения, среди больных преобладают женщины (соотношение женщин и мужчин составляет 5 : 1) [3].

В последние десятилетия наблюдается увеличение числа больных ОСД [141], которая отличается от системной поражением только кожи, реже подкожных тканей. Несмотря на отсутствие угрозы для жизни, это заболевание значительно снижает ее качество [140].

Высокая социальная значимость ССД обусловлена высоким процентом инвалидизации и смертности при отсутствии эффективной терапии вследствие прогрессирующего фиброза легких, сердца, почек и других органов, что ведет к их дисфункции и развитию недостаточности [77, 78, 185, 193, 298]. Медикосоциальная значимость подчеркивается также частым вовлечением гастроэзофагеальной системы в виде развития гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, зачастую заканчивающейся формированием пищевода

Баррета, что может осложниться клеточной метаплазией и развитием аденокарциномы [179, 191, 238].

Нарушение регуляции сосудистого тонуса приводит к развитию таких осложнений, как дигитальные ишемические язвы, легочная артериальная гипертензия, гломерулярная дисфункция, острая склеродермическая почка, ишемия и фиброз миокарда, дисфункция желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) [3, 15, 127, 203].

Возможность назначения эффективной терапии склеродермии значительно затрудняет сложность ее патогенеза, недостаточная изученность роли генетической предрасположенности и факторов внешней среды, а также значительная клиническая гетерогенность в течении и исходах заболевания у различных пациентов [101, 209, 239]. В развитии и формировании заболевания предполагается участие генетических, иммунных, нейроэндокринных, а также психосоциальных и средовых факторов. Основными звеньями патогенеза являются процессы усиленного коллагено- и фиброобразования, нарушение микроциркуляции и иммунорегуляции [66, 230, 240].

На данный момент известно, что множество факторов и их комбинации являются наиболее частыми триггерами у лиц с генетической предрасположенностью к склеродермии [100, 140]. В настоящее время выявлено большое количество химических веществ и лекарств, вызывающих фиброз, сосудистую патологию и склеродермоподобные состояния: силиций, хлорвинил, органические растворители, эпоксидные смолы, различные нефтепродукты, блеомицин, пентазоцин, триптофан и его производные, входящие в пищевые добавки, силиконовые препараты и др. Их триггерное, адъювантное, токсическое и профиброзное действие может проявляться отдельной симптоматикой, но при наличии генетической предрасположенности приводит к развитию ОСД и ССД [18].

Интенсивно ведется поиск кандидатных генов, обуславливающих наличие предрасположенности к ССД. Недавно обнаружен ген NRAMP1

(SLC11A1) (естественной резистентности ассоциированный макрофагальный протеин-1), имеющий множественные плеiotропные эффекты на пути макрофагальной активации, включая апрегуляцию генов цитокинов, TNF- α , IL-1 β , индуцибельной оксид азота синтетазы и экспрессию 2 класса главного комплекса гистосовместимости, а также на антимикробную активность. Все эти пути могут быть вовлечены в индукцию и развитие аутоиммунных процессов при ССД. Обнаружена значимая ассоциация между его полиморфизмом и развитием ССД, свидетельствующая о том, что NRAMP1 является вероятным кандидатным геном при данном заболевании [186]. В одном из исследований сообщается об ассоциации полиморфизма гена CRP с предрасположенностью к развитию СКВ и ССД [91].

Имеет право на существование гипотеза «микрочимеризма» об участии фетальных клеток в генезе аутоиммунных заболеваний. Эта гипотеза рассматривает патогенез ССД с позиции трансплантационной биологии. Предполагается, что фетальные клетки, клетки-химеры, содержащие гены как матери, так и отца, проходят через плаценту во время беременности и остаются нераспознанными, а в последующем, при определенных условиях (неблагоприятные экзо- и эндогенные факторы, вирусы, радиация, химические агенты и др.), могут активироваться и инициировать атаку материнских тканей подобно реакции «трансплантат против хозяина». Теория микрочимеризма дополняет существующие взгляды на многокомпонентный этиопатогенез аутоиммунных заболеваний, включая триггерную роль факторов внешней среды [18, 173].

Активно изучается роль гипоксии, реактивных кислородных радикалов и других факторов персистенции и прогрессирования фиброза, возникающего как следствие повышенной пролиферации фибробластов и отложения компонентов экстрацеллюлярного матрикса в органах и тканях, приводящее к их повреждению [18, 216]. Фиброз инициируется при повреждении клеток в результате длительно текущих воспалительных процессов, инфекций, аутоиммунных, аллергических реакций, радиационного воздействия или хими-

ческого поражения клеток [216]. Гипоксия все чаще признается основным фактором в ходе воспалительного процесса при ССД, приводя к активации фибробластов и изменению их фенотипа [165]. Имеются многочисленные данные, указывающие на важную роль оксидативного стресса в патогенезе кожного фиброза [194, 216].

Изначально оксидативный взрыв являлся протективным механизмом, вызывающим активизацию фагоцитов и последующую продукцию иммуноглобулинов, компонентов комплемента и воспалительных цитокинов. Однако оксидативный стресс наряду с дисбалансом продукции свободных радикалов кислорода и азота и недостаточностью антиоксидантной клеточной системы ведут к неконтролируемому увеличению пролиферации фибробластов и отложению депозитов экстрацеллюлярного матрикса в органах и тканях [216]. Несколько лет назад Мюррел подтвердил гипотезу связи патогенеза склеродермии с генерацией избыточного количества АФК. Эта гипотеза была подтверждена в нескольких сообщениях, показавших присутствие аномально-го окислительно-восстановительного потенциала, а также повышение уровня продуктов ПОЛ у пациентов с ССД [153, 193, 194]. Источником гиперпродукции свободных радикалов кислорода при склеродермии являются не только нейтрофилы и моноциты, но и фибробласты, причем активность кислородного взрыва значительно усиливается под действием таких факторов, как ультрафиолетовое и инфракрасное излучение [182]. Активные кислородные радикалы, синтезируемые при ССД, могут изменять вне- и внутриклеточные окислительные процессы, затрагивающие эндотелиальные клетки и фибробласты [193]. Внутриклеточная продукция АФК фибробластами и нейтрофилами происходит под влиянием таких факторов, как УФ-излучение, курение, воздействие поллютантов. Эндогенный синтез свободных радикалов кислорода осуществляется при участии ферментных систем, включающих ксантиноксидазу, липидпероксидазу, цитохром P450, NO-синтазу и никотинамидадениндинуклеотидфосфат (NADPH)-оксидазу. Активация NADPH-оксидаза

(Nox)-энзимного комплекса и является необходимой для пролиферации фибробластов и избыточного синтеза коллагена в клетках, что имеет ключевое значение в развитии кожного фиброза. Установлено, что НАДФ-оксидаза (Nox)-энзимный комплекс играет важную роль в продукции свободных радикалов кислорода, таких как супероксид-анион, пероксид водорода и синглетный кислород. Усиление активности Nox1 и Nox2 повышает экспрессию PDGF и TGF-beta. Активация этих агентов является стимулом дифференциации миофибробластов из мезенхимальных, эпителиальных, эндотелиальных клеток и усиленного синтеза компонентов экстрацеллюлярного матрикса, что усиливает синтез компонентов внеклеточного матрикса и, таким образом, способствует прогрессированию фиброза [178, 195, 216].

Активно изучаются роль и механизмы влияния Nox-энзимов в патогенезе кожного фиброза. Исследуется также влияние веществ, являющихся ингибиторами Nox-энзимов (к числу которых относят статины, а также молекулы p47phox и GKT137831), на течение заболевания, а сами Nox-энзимы могут служить перспективной целью таргетной антиоксидантной терапии ССД [178].

Характерные патологические изменения при ССД, такие как повреждение эндотелиоцитов, ассоциированы с гиперэкспрессией АФК [14, 63]. Также выявлено повышение основных показателей кислороднезависимого метаболизма нейтрофилов (спонтанной и стимулированной продукции кислой фосфатазы и катионных белков) у больных ССД [58]. Учитывая важную роль оксидативного стресса и гиперпродукции АФК в патогенезе ССД активно ведется разработка новых подходов к терапии заболевания, центральное место среди которых отводится антиоксидантам [216].

Эндотелий традиционно рассматривается как мишень для повреждающего действия активированных нейтрофилов [28, 144]. Эндотелиальная активация при ССД сопровождается воспалительными изменениями и фиброзом, ведущим к прогрессирующей обструктивной васкулопатии и, в итоге, к выраженной дисфункции и повреждению внутренних органов [3, 14, 99]. У паци-

ентов с ССД отмечается большая распространенность субклинически протекающего атеросклероза, механизмы развития которого до конца не ясны [105]. У всех больных с ССД, как с ультразвуковыми признаками атеросклеротических бляшек, так и без них, повышен уровень сывороточных протеинов (IL-6 IL-2, СРБ, фактора роста числа кератиноцитов, IАМ-1 (межклеточная адгезионная молекула) и инсулиноподобного фактора роста), вовлеченных в развитие воспаления и фиброза при данном заболевании [201].

Повреждение сосудов – ключевой патологический процесс при ССД [62, 111]. Уже на ранних этапах болезни наблюдается генерализованная васкулопатия, прогрессирование которой приводит к фиброзной гиперплазии интимы, фиброзу адвентиции, резкому сужению и(или) облитерации сосудов и последующей ишемии. Тенденция к системной дисфункции эндотелия у пациентов с ССД ассоциируется как с «опосредованными болезнью» сосудистыми нарушениями в виде язвы кончиков пальцев и легочной гипертензией, так и в большей степени с маркерами диффузных болезней соединительной ткани (ДБСТ) [14]. Предполагается, что повреждение эндотелия микрососудов ассоциируется с аутоиммунными и воспалительными реакциями [7, 157, 235]. Прямое и косвенное следствие этих процессов в виде активации фибробластов – ключевое событие в развитии фиброза [192]. Несомненно, что эндотелий играет ключевую роль в поддержании нормального тонуса и структуры сосудов, локального гомеостаза и процессов пролиферации клеток сосудистой стенки [14, 87].

На современном этапе ряд исследований посвящен интенсивному изучению системы сосудистых медиаторов как потенциальной мишени таргетной терапии. Ярким примером служат работы по изучению эндотелина-1 – ключевого сосудистого медиатора процессов пролиферации, воспаления и вазоконстрикции, который активно участвует в процессах фиброза, индуцируя экспрессию склеродермического фенотипа [19]. Обнаружено, что у больных ССД значительно повышен сывороточный уровень эндотелина-1, рецепторы которого находятся главным образом в гладкомышечных клетках сосудов, опосре-

дую вазоконстрикцию и клеточную пролиферацию [3]. Повышение уровня плазматического эндотелина-1 у больных ССД сочетается с редукцией капилляров и повышенным фиброзом тканей, что свидетельствует о его вовлечении в прогрессирование микрососудистого/фибротического повреждения при ССД [99, 192, 219]. Дисбаланс между вазодилататорами и вазоконстрикторами вследствие нарушений нейрогенного контроля сосудистого тонуса и гиперпродукции сосудистых медиаторов, таких как оксид азота, эндотелин-1, серотонин, тромбоксан и ангиотензин, уровень которых у данной категории больных повышен, также играет ключевую роль в генезе синдрома Рейно. Кроме того, нарушения баланса ряда нейрональных медиаторов, включающих связанный с геном кальцитонина пептид, нейропептид Y и агенты, взаимодействующие с α -адренорецепторами также приводят к недостаточной вазодилатации и повышенной вазоконстрикции. Наряду с этим имеет значение активация тромбоцитов к окислительному стрессу [4]. Синдром Рейно и образование дигитальных язв – наиболее частый симптом заболевания, влияющий на качество жизни пациентов и требующий постоянной лекарственной терапии [65].

Феномен Рейно, хотя и не является диагностическим критерием данной патологии, наряду с наличием специфических аутоантител и характерной капилляроскопической картиной служит важным признаком, позволяющим поставить диагноз очень ранней ССД, что важно для своевременного начала терапии [62, 225]. Одним из новых потенциальных биомаркеров, определяющих тяжесть поражения сосудов при ССД, является RDW – относительная «ширина распределения эритроцитов по объему», которая является показателем гетерогенности эритроцитов периферической крови и рассчитывается как коэффициент вариации среднего объема эритроцитов. Повышенный уровень RDW рассматривается как независимый прогностический фактор сердечно-сосудистых событий при ССД и может служить универсальным маркером множества патологических процессов, таких как микро- и макроангиопатия, активное воспаление и фиброз [112].

Фиброз множества внутренних органов является постоянным признаком и «визитной карточкой» ССД. Фибробласты, принципиальные эффекторныe клетки, активируются в профибротическом клеточном окружении цитокинами и факторами роста, а гипоксия и оксидантный стресс способствуют хронизации процесса [98]. В результате комплексных исследований молекулярно-клеточных механизмов коллагено- и фиброзообразования выявлены фенотипические особенности фибробластов при ССД, дефектность мембран и рецепции, а также участие процессов апоптоза, мутантных генов фибриллина и иммунокомпетентных клеток в формировании фиброза [18, 235].

Фибробласт, являясь ключевой клеткой фиброзообразования, остается в поле зрения исследователей, однако в последнее время особое внимание направлено на экстрацеллюлярную медиаторную систему, профиброзные цитокины: интерлейкины, факторы роста: трансформирующий фактор роста β (TGF β), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), фактор роста соединительной ткани; деацетилазы гистонов, Rho-ассоциированные киназы, каждый из которых может рассматриваться как возможная мишень новой антифиброзной таргетной терапии [3, 18, 146, 230, 241]. Активация фибробластов, индуцируемая TGF- β , является ключевым моментом патогенеза склеродермии наряду с окислительным стрессом и АФК [239].

TGF- β -плейотропный цитокин с витальными гомеостатическими функциями, являющийся известным медиатором профиброгенного ответа (повышение его экспрессии вызывает усиление синтеза коллагена и фибронектина фибробластами, их пролиферацию и трансдифференциацию в миофибробласты, которые начинают синтезировать белки экстрацеллюлярного матрикса в избыточном количестве. Под его влиянием нефибробластные клеточные линии, такие как эндотелиальные клетки или адипоциты, также способны к дифференцировке в фибробласты и миофибробласты, что способствует реализации склеродермического фенотипа [146, 239, 240]. TGF- β также индуцирует экспрессию Egr-1 (новейший профибротический медиатор) дермальными

фибробластами. Ситуацию усугубляет функциональная недостаточность эндогенных репрессоров дифференцировки фибробластов и продукции коллагена, таких как PPAR- γ и microRNAs, что способствуют прогрессированию фиброза [239, 241].

Получены данные о наличии дисбаланса профибротических (TGF- β 1) и антифиброзных (TGF- β 2 и - β 3) изоформ TGF- β как возможной причины фибротических повреждений у больных ССД [244]. PDGF (тромбоцитарный фактор роста) функционирует как первичный митогенный и хемоаттрактантный фактор для клеток мезенхимального происхождения. Члены семейства PDGF играют важную роль в эмбриональном развитии и способствуют созреванию соединительной ткани у взрослых. Доказана связь повышения экспрессии PDGF и его рецепторов с развитием органного фиброза и легочной гипертензии у больных склеродермией [234].

Роль аутоиммунных реакций в развитии патологического фенотипа при ССД является центральной [100]. Развитие аутоиммунных нарушений – характерный признак ССД, отражающий активацию иммунной системы [108, 138]. Так, антинуклеарный фактор определяется у 90–95% больных [7, 19]. В настоящее время известен ряд аутоантител, специфичных именно для ССД и отличающих ее от других ДБСТ: антитела к топоизомеразе 1 (Scl-70), антицентромерные антитела (АЦА), антитела к РНК-полимеразе III, Th/To, U11/U12 РНП, РМ-Scl (РМ/Scl-100, РМ/Scl-75, hRrp4p), антитела к гистону и др. Эти антитела направлены на узкий спектр ядерных аутоантигенов – растворимых ядерных белков. Известно, что уровень некоторых антител коррелирует с тяжестью и активностью процесса и имеет не только диагностическое, но и прогностическое значение [7, 18, 124]. Как правило, у конкретного больного ССД обнаруживается только один профиль антител, который не изменяется на протяжении болезни. Каждый из этих типов выявляется у небольшой группы больных, но в пределах этой группы больные имеют схожие черты и характер течения болезни [92]. Так, АЦА ассоциируются с лимитированным поражен-

ем кожи, дигитальными язвами, кальцинозом мягких тканей, развитием CREST-синдрома, изолированной легочной гипертензии (до 20%), тяжелого поражения ЖКТ, но для них не характерно развитие тяжелого легочного фиброза. Клинические ассоциации антител к Scl-70 – диффузное поражение кожи, тяжелое интерстициальное поражение легких, кардиальная дисфункция. Аутоантитела к РНК-полимеразе III чаще обнаруживают у мужчин; в дебюте ССД у пожилых лиц все носители этих антител имеют диффузное поражение кожи, а у 43% из них развивается поражение почек (почечный склеродермический криз). Значимо, что носительство определенных аутоантител также имеет четкие генетические ассоциации, отражая определенный подтип болезни [7, 19, 79]. В крови больных ССД рядом авторов выявлено наличие антител к аденозиндезаминазе (АДА) и гуаниндезаминазе (ГДА), уровень которых возрастает по мере увеличения активности заболевания. Выявленные антитела вызывают уменьшение активности ферментов *in vitro*, что является одной из вероятных причин изменения активности ферментов пуринового метаболизма при ССД [71].

Накоплено множество данных о роли и клинической значимости повышенного уровня СРБ в патогенезе ДБСТ, в том числе и ССД. СРБ (протеин, индуцируемый IL-6) и IL-6 играют важную роль в патогенезе и клиническом течении ССД и служат полезными маркерами активности процесса, тяжести и прогноза заболевания. СРБ и IL-6 являются острофазными реагентами, уровень которых в периферической крови повышается уже на ранних стадиях заболевания, что указывает на важную роль воспаления уже на ранних этапах патологического процесса и его иницилирующей роли в развитии и прогрессировании фиброза [88, 155, 165]. Имеются множественные клинические и лабораторные данные, указывающие на повышение уровня СРБ и IL-6 у больных ССД, а также обнаружены положительные корреляции между содержанием IL-6 и СРБ у пациентов с ССД [176, 189]. Высокий уровень СРБ у лиц с ССД коррелирует с тяжестью поражения легких, кожи, суставов, а также ассоциируется со снижением выживаемости пациентов [88, 132]. Кроме того, обнаружены

положительные корреляции с повышением уровня фактора Виллебранда в крови пациентов, свидетельствующие о том, что высокие концентрации СРБ могут отражать тяжесть поражения сосудов при ССД [88]. Имеются единичные сообщения о взаимосвязи повышенного уровня СРБ с возникновением антимитохондриальных антител у данной категории больных [188].

К иммунологическим маркерам, клиническое значение которых в последние годы является предметом наиболее интенсивных исследований, относятся провоспалительные цитокины, такие как TNF- α , IL-1 и IL-6, интерферон-гамма (ИФН- γ) [1, 155, 176]. Выявлено увеличение уровня TNF- α и снижение ИФН- γ практически у всех лиц с ССД, в том числе у больных ювенильной склеродермией [67]. Цитокины представляют собой низкомолекулярные белки, которые играют важную роль в нормальном функционировании иммунной системы, регулируя пролиферацию, дифференцировку, активацию иммунокомпетентных клеток, развитие иммунного ответа, обеспечивая процессы межклеточной кооперации [211]. К провоспалительным цитокинам относят IL-1, IL-6, TNF- α и хемокины типа IL-8, белки хемотаксиса моноцитов 1, 2, 3, а также макрофагальные воспалительные белки. Их источником служат эндо- и эпителиальные клетки, фибробласты, нейтрофилы и моноциты. В основе большинства ДБСТ, в том числе и ССД, лежит нарушение баланса между «провоспалительными» (IL-1,6,8, TNF- α и др.) и противовоспалительными цитокинами (IL-4) [25, 64, 67, 143]. Сывороточный уровень IL-1, IL-6, TNF- α достоверно увеличен у данной категории больных [57].

IL-6 – плеiotропный провоспалительный цитокин, играющий важную роль в патогенезе многих аутоиммунных заболеваний. Биологические эффекты IL-6 включают дифференциацию Т-клеток, ангиогенез и формирование остеокластов. IL-6 является фактором, инициирующим дифференциацию В-клеток и продукцию ими иммуноглобулинов, а также усиливающим процессы трансдифференциации фибробластов, что ведет к развитию фиброза [155]. Фиброз характеризуется накоплением компонентов экстрацеллюляр-

ного матрикса, включающих коллаген I типа в органах и тканях [239]. Являясь профибротическим цитокином, IL-6 обладает способностью индуцировать синтез коллагена I типа, однако механизмы его индукции изучены недостаточно [126, 143]. При ССД выявлено значительное повышение уровня IL-6 в сыворотке крови и биоптатах кожи пациентов, причем имеются положительные корреляции между повышением уровня его экспрессии в кожных очагах пациентов с ССД и индексом толщины кожи [155]. Доказана роль и еще одного цитокина, IL-13, в развитии фиброза при склеродермии. IL-13 является T-клеточно-индуцируемым профибротическим цитокином, а нарушение его регуляции – важный фактор в патогенезе ССД и других заболеваний, сопровождающихся фиброзом. Сообщается о том, что дисрегуляция продукции IL-13 эффекторными CD8⁺ T-клетками является предпосылкой развития более тяжелых форм поражения кожи при ССД, а сама дисрегуляция обусловлена как дефектами молекулярного контроля продукции IL-6, так и повышением экспрессии фактора транскрипции GATA-3 [136].

Повышение экспрессии провоспалительных цитокинов приводит к цитокин регулируемой гиперэкспрессии клеточных молекул адгезии (КМА). К настоящему времени известны 3 основных семейства КМА: селектины, интегрины и суперсемейство иммуноглобулинов ICAM-1, 2, 3 (молекулы межклеточной адгезии) и VCAM-1 (молекулы адгезии сосудистых клеток). Экспрессия КМА индуцируется и увеличивается провоспалительными цитокинами, обеспечивая стимулирующий сигнал для активации лейкоцитов и пролиферации лимфоцитов, регулируя миграцию лейкоцитов из кровеносного русла и их накопление в области воспаления [28].

Активация эндотелиальных клеток так же, как и усиление процессов апоптоза, играет центральную роль в патогенезе ССД, однако механизмы их воздействия полностью не изучены [14]. Имеются данные, что сывороточное содержание маркеров эндотелиальной активации (включающие повышение экспрессии молекул клеточной адгезии, таких как ICAM-1 и E-селектина),

а также апоптотического материала у пациентов с ССД значительно повышено по сравнению с таковым в контрольной группе и коррелирует с тяжестью клинических проявлений заболевания. Важную роль в поддержании высокого уровня экспрессии E-селектина в эндотелиальных клетках отводят IL-6, профибротическая роль которого не оставляет сомнений [126].

У больных ССД уже на ранних стадиях болезни определяется активация Т-клеточного звена иммунитета, дисбаланс в системе Th1 и Th2, гиперпродукция цитокинов и циркулирующих межклеточных молекул адгезии (ICAM) [14, 140]. Активированные лимфоциты наряду с цитокинами и медиаторами эндотелиальных клеток (главным образом, эндотелин 1) стимулируют фибробласты, что ведет к формированию склеродермоспецифического фенотипа, характеризующегося повышенной продукцией коллагена и других компонентов межклеточного матрикса [137, 140].

Изучение патогенеза и клеточных механизмов развития ОСД также является предметом активных исследований. ОСД – аутоиммунное заболевание кожи и подлежащих тканей, характеризующееся развитием воспаления в тканях, что ведет к формированию фиброза и атрофии [133, 141, 196]. Так же, как и при ССД, Т-хелперные клетки и ассоциированные с ними цитокины вносят существенный вклад в патогенез и ОСД, что доказано повышением их уровня в сыворотке крови и тканях пациентов. Дисбаланс между клеточными субпопуляциями Th1/Th2/Th17 приводит к развитию воспаления на ранних стадиях болезни (преобладание Th1 и Th17) и фиброза на более поздних стадиях (когда имеет место преобладание иммунного ответа по Th2-типу) [17, 141]. В свою очередь активизация иммунитета по Th2-типу вызывает гиперпродукцию таких профибротических цитокинов, как IL-4, IL-5, IL-10 и IL-13, содержание которых в тканях и сыворотке крови пациентов с ОСД более значимо повышается на поздних стадиях заболевания. Наряду с этим в кожных биоптатах обнаружено повышение экспрессии TGF- β , что говорит об активизации фибробластов и их вовлечении в патогенез данного заболевания. Установлено также повыше-

ние уровня TNF- α у больных с ОСД по сравнению с группой контроля, выявлены положительные корреляции с распространенностью кожного процесса и вовлечением глубжележащих тканей [141, 165]. Дальнейший поиск в этом направлении может привести к разработке новых вариантов лечения, которые направлены на модулирование профибротических цитокинов, таких как TGF- β и IL-4, регулирующих аккумуляцию экстрацеллюлярных компонентов матрикса, а также восстановление Th1/Th2 иммунного баланса путем управления IL-12 или ИФН- γ , действующего путем непосредственного ингибирования синтеза коллагена и восстановления иммунного баланса [72, 133, 141, 196]. Перспективным направлением является изучение процессов апоптоза фагоцитов и роли АФК в развитии локальных форм склеродермии [62].

1.3. Патогенетическая и клиническая значимость нарушений функциональной активности, апоптоза нейтрофилов и цитокинового профиля в развитии красной волчанки и склеродермии

Апоптоз (процесс программированной клеточной гибели) и последующее удаление апоптотических клеток имеет большое значение в нормальном функционировании иммунной системы и является необходимым условием формирования ауто толерантности. В настоящее время доказано, что изменение процессов апоптоза и утилизации апоптотического материала лежит в основе развития большинства аутоиммунных заболеваний [26, 84, 115, 214, 232].

Мертвые клетки представляют собой важный источник аутоантигенов, который при определенных условиях служит стимулом для развития аутоиммунного ответа. Большое количество исследований содержат сведения о нарушениях механизмов, регулирующих апоптоз иммунных клеток, в том числе и нейтрофилов, как о центральном патогенетическом факторе в иници-

ации и(или) усугублении различных воспалительных и аутоиммунных процессов, играющих ключевую роль в развитии аутоиммунных заболеваний [9, 51, 84, 197, 232]. Процесс апоптоза, имеющий невоспалительную природу, осуществляется путем индукции иммуносупрессивных агентов, к которым относится, в частности, оксид азота, противодействующий влиянию провоспалительных цитокинов [49].

Вследствии того, что апоптоз является сложно регулируемым процессом, количество сигнальных путей, участвующих в его реализации, весьма значительно [9, 52, 114]. Ведущая роль в контроле рецепторного и митохондриального путей развития апоптоза принадлежит белкам семейства bcl-2 и гену Fas-рецептора CD95⁺ [51, 163, 199]. Fas-рецептор (CD95⁺) является членом суперсемейства TNF и участвует в передаче сигналов индукции апоптоза с клеточной мембраны при различных стрессовых воздействиях. Взаимодействие Fas-рецептора с лигандами обеспечивает цитотоксический иммунный ответ Т- и В-лимфоцитов и инициирует запуск каскада процессов апоптоза при участии инициирующей прокаспазы 8 и универсального фактора транскрипции NFκB [74, 163, 247].

Члены семейства bcl-2 при воздействии различных инициирующих агентов усиливают экспрессию проапоптозных белков Bax, Bad, Bim, в результате чего осуществляется контроль открытия мембранных каналов в митохондриях и освобождение цитохрома С в цитоплазму. Цитохром С участвует в формировании комплекса апоптосомы и активирует прокаспазу 3, что приводит к протеолитическому гидролизу ряда важных клеточных субстратов, и запуску каспазного цикла [74, 114]. Существует гипотеза о некаспазной активации апоптоза нейтрофилов с участием рецепторов TNF-α, способствующих активации NFκB, вследствие чего происходит повреждение антиапоптотических путей, ведущее к ускорению апоптоза [122].

На настоящий момент известно, что факторами, ведущими к запуску механизмов апоптоза, могут быть как внутриклеточные сигналы, так и внеш-

ние, опосредующие свое действие через рецепторные системы. К ним относятся такие неспецифические факторы, как высокая температура, токсические агенты, оксиданты, свободные радикалы, гамма- и УФ-излучение, бактериальные токсины и др., при воздействии которых происходит индукция запрограммированной клеточной гибели, но при увеличении дозы соответствующего агента развивается некроз клетки [9, 47, 52, 114]. Особое внимание в последние годы уделяется изучению роли активированных кислородных метаболитов в реализации апоптоза. Известно, что запрограммированная гибель клеток, как правило, сопровождается образованием значительного количества активных форм кислорода. В то же время АФК способны инициировать апоптоз в различных типах клеток [13, 30]. Однако несмотря на очевидную взаимосвязь окислительного стресса с апоптозом, роль АКМ в саморазрушении клеток не ясна. Установлено, что в течение 1–5 часов после воздействия УФ-света и активных форм кислорода (супероксидного анион-радикала, пероксида водорода, гидроксильного радикала, синглетного кислорода) наблюдается повышение уровня экспрессии мембранных рецепторов смерти – Fas (CD95⁺), а также повышение функциональной активности эффекторной каспазы-3, что приводит к запуску каспазного каскада [50, 52, 56].

В настоящее время остается предметом дискуссий непосредственная роль апоптоза в патогенезе ДБСТ. Результаты исследований, посвященных изучению этой проблемы, в большинстве своем носят противоречивый характер.

Рядом авторов доказано, что ослабление процессов апоптоза ведет к развитию аутоиммунных реакций и персистенции воспаления, так как данный вид клеточной гибели способствует удалению потенциально опасных нейтрофилов из очагов повреждения и таким образом способствует их ограничению. Клиренс апоптотического материала играет важную роль в поддержании тканевого гомеостаза и защите тканей от воспалительного и иммунного контента мертвых клеток, а дефекты апоптоза фагоцитов приводят к развитию и поддержанию хронического воспаления и аутоиммунным нарушениям [76,

114, 118]. В некоторых публикациях сообщается, что снижение уровня апоптоза нейтрофилов при таких аутоиммунных заболеваниях, как СКВ и ССД сопровождается усилением образования активных форм кислорода и уменьшением резервного потенциала клеток [13, 30, 63, 73].

Согласно другой точке зрения, в основе развития ДБСТ, в частности красной волчанки и склеродермии, лежит усиление процессов апоптоза нейтрофилов и моноцитов, что ведет к усугублению аутоиммунных реакций, персистенции воспаления и прогрессированию аутоагрессии. Нарушение процессов апоптоза нейтрофилов и накопление апоптотического детрита, так же как и воздействие ядерных аутоантигенов, ведет к выработке аутоантител и усугублению аутоиммунитета [151, 212, 214, 228]. Имеются убедительные данные, что апоптоз нейтрофилов у лиц с СКВ значительно увеличен по сравнению со здоровыми донорами, однако механизмы этого явления до конца не ясны [152, 228]. Доказано, что сывороточные аДНК больных СКВ могут индуцировать апоптоз нейтрофилов здоровых доноров [85]. Наряду с этим анти-ядерные антитела сыворотки больных СКВ препятствуют нормальной ядерной дегенерации, в результате чего происходит формирование классических LE и Targ-клеток [96].

Имеются данные, что при таких ДБСТ, как СКВ и ССД, уровень sFas (APO-I, CD95⁺) значительно повышен по сравнению с нормальным контролем, а содержание sFas у больных СКВ значительно выше, чем у лиц с другими ревматическими заболеваниями [151, 224]. Повышение экспрессии фактора Fas циркулирующими нейтрофилами у больных СКВ положительно коррелирует с активностью болезни (оцениваемой по шкале SLAM) и может способствовать нарастанию количества аутоантигенов, к числу которых относятся и двуспиральная ДНК [217]. В нейтрофилах и сыворотке крови пациентов с ювенильной красной волчанкой имеется выраженный дисбаланс про- и антиапоптотических факторов, в результате чего уровень апоптоза нейтрофилов у этих лиц увеличен [228].

Представляет интерес участие процессов апоптоза в развитии нейтропении при СКВ. Нейтропения является одним из частых лабораторных явлений, наблюдаемых у больных волчанкой, однако механизм ее развития полностью не изучен. В настоящее время исследуется влияние TRAIL (TNF-связанного апоптозиндуцирующего лиганда) на развитие нейтропении при СКВ. TRAIL усиливает процессы апоптоза нейтрофилов, и его сывороточный уровень у пациентов с нейтропенией существенно повышен по сравнению с больными СКВ без нейтропении, а также со здоровыми донорами, и показывает отрицательные корреляции с количеством нейтрофилов. ИФН- γ и глюкокортикостероиды (ГКС) изменяют экспрессию TRAIL на поверхности Т-клеток, а также модулируют экспрессию клеточного Fas-ассоциированного протеина и ингибируют сигналы, передаваемые на рецепторы клеточной смерти нейтрофилов, таким образом замедляя процессы апоптоза [231].

Развитие окислительного стресса при ССД и СКВ обусловлено резкой интенсификацией процессов свободно-радикального окисления и/или снижением резерва антиоксидантной защиты, что приводит к значительному накоплению АФК при данных заболеваниях [60, 153]. В ряде источников сообщается, что АФК могут приводить к повышению выживаемости нейтрофилов вследствие нарушения баланса про- и антиапоптогенных факторов в условиях окислительного стресса, что ведет к увеличению активности процесса апоптоза [39, 47, 50, 69, 86].

Получены данные о влиянии некоторых цитокинов, таких как TNF- α , IL-2 и IL-4 *in vitro* на процесс апоптоза. Установлено, что проапоптотический эффект данных цитокинов реализуется при участии активных форм кислорода и митохондрий [70].

Данные, посвященные изучению состояния апоптоза иммунокомпетентных клеток при локальных формах склеродермии и красной волчанки, в доступной литературе отсутствуют.

Исследования последних лет вновь привлекают внимание к такой клетке, как нейтрофил (также называемый полиморфноядерным лейкоцитом – ПЯЛ), который в настоящее время в дополнение к своей фагоцитарной функции, рассматривается как иммунокомпетентная клетка, являющаяся ранним клеточным эффектором врожденного иммунитета [9, 116, 159, 160, 174].

Микробицидной функции нейтрофилов способствуют два механизма: кислородзависимый и кислороднезависимый [22, 147, 174]. В результате активации системы кислородзависимого метаболизма нейтрофилов образуются АФК – супероксидный анион, синглетный кислород, гидроксил-анион и пероксид водорода, которые обладают мощным деструктивным потенциалом, в результате чего прямо или опосредовано повреждаются клетки эндотелия, соединительной ткани, лимфоциты [9, 21, 22]. В ряде работ АФК рассматриваются как медиаторы межклеточных взаимодействий в очагах иммунного воспаления [63]. Существуют веские доказательства активного участия нейтрофилов в острых и хронических воспалительных, в том числе и аутоиммунных, заболеваниях [9, 159, 160, 236]. Получены данные, что ДНК нейтрофилов у пациентов с СКВ имеет участки повреждения, также наблюдаются дефекты ее репарации, что в совокупности с повышенным уровнем апоптоза может служить одним из главных факторов развития аутоантигенного эксцесса и иммунной активации [183].

Установлено, что нейтрофилы экспрессируют на своей поверхности Толл-лайк рецепторы, способствующие инактивации широкого спектра микробных патогенов и продуктов их жизнедеятельности, а также являются важным источником про- и противовоспалительных цитокинов [116]. Имеются данные, что во время активации ПЯЛ при оксидативном стрессе из гранул высвобождаются вазоактивные пептиды (HNP_s), которые играют важную роль в патогенезе сосудистых нарушений при ДБСТ за счет модуляции воспалительного ответа и сосудистого тонуса при их непосредственном взаимодействии с эндотелиальными клетками [144].

Ряд исследований последних лет посвящен изучению роли нарушения метаболизма нейтрофилов в патогенезе ДБСТ, таких как волчанка и склеродермия. Установлено, что у данной категории больных происходит усиление процессов оксидативного стресса нейтрофилов [13, 220].

В ряде зарубежных источников имеются данные о влиянии физической нагрузки на процессы системного воспаления и оксидантного стресса нейтрофилов у больных системным склерозом. Установлено, что уровень базовых воспалительных маркеров, IL-6 и оксидантного стресса был изначально увеличен у данных больных ССД по сравнению со здоровыми субъектами и резко увеличился после выполнения ими физической нагрузки [131].

Продолжаются исследования, посвященные изучению изменения апоптоза нейтрофилов как фундаментального процесса, лежащего в основе инициации и усугубления аутоиммунных реакций при ДБСТ. Известно, что способность нейтрофилов повреждать ткани уменьшается за счет короткой продолжительности их жизни вследствие реализации программы апоптоза, а последующий фагоцитоз апоптотических клеток макрофагами играет центральную роль в успешном разрешении воспалительного процесса. Этот процесс регулируется различными внутриклеточными сигнальными путями, а изменения в экспрессии генов, участвующих в осуществлении механизмов апоптоза, оказывают прямое влияние на реализацию этой программы [9, 160]. Инфекция обычно ускоряет кругооборот нейтрофилов, в частности усиливает процессы фагоцитоза и индуцированной клеточной гибели нейтрофилов (апоптоза) с последующим уничтожением их макрофагами, что имеет важное значение для разрешения воспалительного ответа [175, 181]. При аутоиммунных заболеваниях эта программа может быть ингибирована, а продолжительность жизни нейтрофилов увеличена в результате их взаимодействия с различными модуляторами, такими как, например, G-CSF [130, 174, 181].

Имеются данные, что нарушению процессов апоптоза нейтрофилов может способствовать воздействие ядерных аутоантигенов, что приводит к генерации аутоантител, а последующее накопление апоптотических клеток может

способствовать развитию СКВ за счет срыва иммунотолерантности [83, 84, 109]. Рядом авторов выявлено, что апоптоз нейтрофилов существенно повышен у больных с ювенильной СКВ по сравнению с контрольной группой, а инкубация нейтрофилов в сыворотке пациентов с СКВ значительно повышает апоптоз нейтрофилов по сравнению с их инкубацией в сыворотке здоровых людей [228]. Экспрессия проапоптотических протеинов (каспазы 3, Fas и лиганда FasL) при СКВ повышена, в то время как экспрессия антиапоптотических протеинов снижена. Установлены корреляционные связи с маркерами болезненной активности (уровнем антител к ДНК и повышением СОЭ), доказывающие, что нарушение апоптоза нейтрофилов у больных ювенильной СКВ может играть патогенетическую роль в развитии данной патологии [67, 228].

Для изучения патогенеза ДБСТ наиболее информативным является исследование цитокинового профиля. Цитокины вовлечены в каждый шаг патогенеза СКВ, непосредственным образом оказывают влияние на развитие нарушений иммунорегуляции, провоцируют неконтролируемую активацию лимфоцитов, а также увеличенное созревание антигенпредставляющих клеток, вызывая значительное усиление местного иммунного ответа [226]. СКВ-ассоциированная иммунная гиперактивность системно проявляется в виде повышения уровня цитокинов и их регуляторных рецепторов, экспрессированных на иммунокомпетентных клетках. Увеличение уровня цитокинов и их рецепторов также присутствует и в органах-мишенях, доказывая их важную роль в патогенезе заболевания. Новейшие исследования посвящены таким цитокинам, как ИФН- α , ИЛ-1, ИЛ-6 и TNF- α [117]. Имеются данные о корреляции повышенного уровня экспрессии ИФН-индуцибельных хемокинов с активностью болезни, степенью повреждения органов и тяжестью клинических проявлений СКВ [90].

Имеются данные, что в основе развития аутоиммунного воспаления лежит нарушение баланса между синтезом «провоспалительных» (ИЛ-1, TNF- α , ИЛ-8 и др.) и противовоспалительных (ИЛ-4 и др.) цитокинов. При этом имеет место цитокининдуцированная гиперэкспрессия КМА [75]. Дисбаланс

цитокинов наряду с воздействием генетических и внешнесредовых факторов способствует иммунной дисфункции, развитию воспаления и повреждения органов при ДБСТ. Ключевыми цитокинами, вовлеченными в патогенез СКВ, являются ИФН- α , ИЛ-6 и ИФН- γ , а также синтезируемые Т-лимфоцитами цитокины ИЛ-17, ИЛ-21 и ИЛ-2. Последние вызывают Т-лимфоцитарный фенотип, характеризующийся поликлональной активацией В-лимфоцитов и усиленной секрецией ими провоспалительных цитокинов в сочетании с уменьшением активности супрессорных Т-лимфоцитов и активацией процессов апоптоза [187]. Нейтрофилы продуцируют ИЛ-18, который в свою очередь индуцирует генную экспрессию и выработку нескольких воспалительных цитокинов нейтрофилами, включающимися в его собственную экспрессию [134]. Значение мониторинга системы цитокинов при ДБСТ определяется корреляцией их концентраций с активностью патологического процесса, что позволяет заподозрить обострение заболевания раньше, чем проявятся его клинические признаки и лабораторные критерии.

Имеются сведения, что наибольшей чувствительностью, специфичностью и диагностической значимостью при СКВ обладают такие цитокины, как ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 и TNF- α . Значения исследуемых цитокинов были достоверно выше при СКВ, чем при таких ревматических заболеваниях, как анкилозирующий спондилит и ревматоидный артрит, а состояние системы цитокинов у больных волчанкой представляется дисрегулированным [20, 64, 68]. Не вызывает сомнения факт развития системного воспаления (СВ) как одного из ключевых моментов в патогенезе аутоиммунных заболеваний. В качестве клинико-лабораторных признаков СВ могут выступать критические значения цитокинемии, а также другие маркеры патологической активации эндотелия и сосудистых макрофагов (эндотелиоза), продукты внутрисосудистого кининогенеза, диссеминированного внутрисосудистого свертывания, внутрисосудистой активации лейкоцитов и системной активации тучных клеток. Гиперсекреция цитокинов является атрибутивным свойством «воспалительных» клеток различного типа [64, 68].

При классическом воспалении основным источником цитокинов в крови являются лейкоциты и макрофаги воспалительного инфильтрата, а при СВ – тотально активированные эндотелиоциты и сосудистые макрофаги, что определяет более высокий уровень цитокинемии. Наличие системной воспалительной реакции при аутоиммунных заболеваниях и степень ее выраженности наиболее полно отражает уровень таких цитокинов, как ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, TNF- α , значения которых достоверно повышены при таких ДБСТ, как СКВ [23, 37, 42]. Исследователями получены данные о повышении уровня таких цитокинов, как ИЛ-1 β , 4, 6, TNF- α не только при системной, но и при интегументной кожной форме красной волчанки [60]. TNF- α играет важную роль в активации сосудистого эндотелия и регуляции иммунного ответа, участвует в регуляции метаболизма соединительной ткани путем модуляции функции фибробластов. У больных ССД наблюдается системное и локальное повышение содержания TNF- α , что способствует активному течению болезни и прогрессирующему поражению тканей. TNF- α также участвует в развитии фиброзирующего альвеолита и предшествует развитию кожных фиброзных изменений при синдроме Рейно [1].

Известно, что ССД является аутоиммунным заболеванием, характеризующимся гиперпролиферацией компонентов экстрацеллюлярного матрикса и сосудистыми нарушениями в коже и других органах [18, 108, 137]. Хотя патогенез до конца не ясен, центральное место в нем отводится взаимодействию между лейкоцитами, эндотелиальными клетками и фибробластами [14, 18, 138, 143, 157]. Имеются сведения, что хемокины способствуют хемотаксису лейкоцитов и их миграции через эндотелий в органы и ткани, где происходит их взаимодействие с фибробластами, приводя к их активации [98]. В литературе сообщается об аномалиях хемокинов при ССД, что объясняет повышение накопления эффекторных лейкоцитов в пораженных тканях. Недавно получены убедительные данные, что наряду с прочими различными хемокинами, MCP-1/CCL2 (моноцит-хемоаттрактантный протеин-1) играет наиболее значимую роль в развитии фиброза при ССД, способствуя повышенной

миграции лейкоцитов в очаги поражения и активации фибробластов [143]. Также имеются наблюдения, указывающие на центральную роль трансформирующего ростового фактора (TGF- β) в детерминировании фиброза при ССД [132]. Обнаружены новые маркеры диагностики ССД, такие как протеины CXCL10 α (Th1) и CCL2 β (Th2), высокий уровень которых ассоциируется с более тяжелым течением заболевания (с поражением легких и почек). Также выявлено, что уровень CXCL10 за время наблюдения уменьшался, в то время как уровень CCL2 оставался немодифицируемым, подтверждая, что заболевание развивается с наличием иммунного ответа по Th1 типу на ранних стадиях процесса, переходя к Th2 типу по мере прогрессирования заболевания [115]. Получены данные о повышении концентрации моноцитарного хемотаксического протеина-1 (MCP-1) в сыворотке и моче, а также трансформирующего фактора роста (TGF-1) в моче больных СКВ, при этом показана достоверная корреляция, что наличие активного волчаночного нефрита с нефротическим синдромом и снижение функции почек ассоциировались с более значительным повышением уровня MCP-1 и TGF-1 в моче, а при наличии вторичного антифосфолипидного синдрома на фоне СКВ достоверно преобладали профиброгенные факторы – TGF- β 1 и коллаген IV типа [40].

Дальнейшее изучение состояния цитокинового профиля больных ДБСТ, в частности СКВ и ССД, позволят расширить представление о патогенезе данных заболеваний и будут способствовать разработке антицитокиновых препаратов, позволяющих проводить таргетную терапию данных заболеваний [211, 230].

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика обследованных контингентов

Выполнены клинико-иммунологические исследования у больных ревматическими заболеваниями (СКВ, ССД) и их кожными формами (ДКВ, ОСД). Диагностику указанных заболеваний осуществляли на основании критериев, принятых в ревматологии и дерматологии, в условиях стационара, а также при амбулаторно-поликлиническом приеме пациентов. Обследование включало сбор анамнестических данных, объективное обследование пациентов, комплекс общепринятых лабораторных методов, при необходимости – рентгенологическое, инструментальное обследование (ультразвуковое исследование внутренних органов, эндоскопические исследования, эхокардиоскопию, реовазографию, ультразвуковое дуплексное ангиосканирование), иммунологические исследования.

В соответствии с поставленными задачами пациенты обследовались при поступлении в стационар или в первый день поликлинического приема, до начала активной терапии. Часть больных, находившихся под диспансерным наблюдением, обследовалась амбулаторно.

Клиническая часть работы выполнялась на базах отделений терапии клинической больницы № 10 государственного бюджетного учреждения здравоохранения Ярославской области (главный врач – Е. А. Ивенкова), ревматологического отделения Ярославской областной клинической больницы (главный врач – заслуженный врач Российской Федерации О. П. Белокопытов) и отделений дерматологии и стационара дневного пребывания областного кожно-венерологического диспансера Ярославской области (главный врач – С. Л. Зудилова).

Иммунологические исследования были проведены на базе кафедры микробиологии с вирусологией и иммунологией ГБОУ ВПО «Ярославский

государственный медицинский университет» Минздрава России (зав. кафедрой – Почетный работник высшего профессионального образования РФ, доктор медицинских наук, профессор В. А. Романов), а также в клинико-диагностической лаборатории ВИЧ-инфекции ГУ «Центр СПИД» (зав. лабораторией – Н. Ю. Ильяной).

Обследовано 184 человека, в том числе 67 (36,4%) больных СКВ, 22 (11,9%) – ССД, 34 (18,5%) – ДКВ, 28 (15,2%) – ОСД; группу сравнения составили 33 (17,9%) практически здоровых доноров того же возраста и пола (рис. 1).

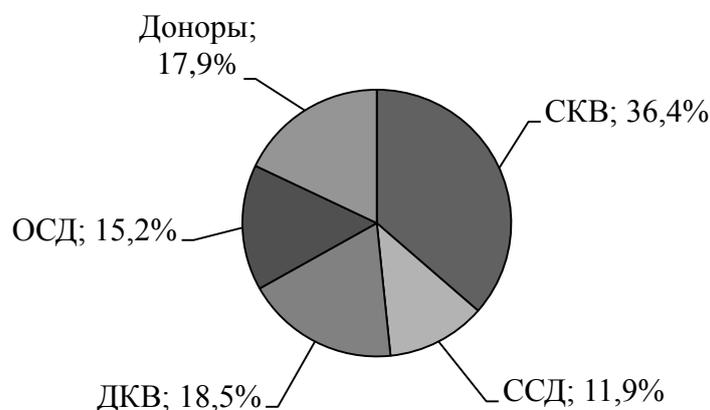


Рис. 1. Общее количество обследованных лиц

Критерии включения в исследуемые группы:

1. Наличие классификационных критериев для каждого заболевания.
2. Больные СКВ 1 и 2 степени активности с подострым и хроническим течением; ССД 1 и 2 степени активности с подострым и хроническим течением.
3. Пациенты с ДКВ, ОСД.

Критерии исключения из исследования:

1. Высокая степень активности и острое течение СКВ, ССД.
2. Наличие у пациентов интеркуррентных, кишечных и острых респираторных инфекций, гнойно-воспалительных заболеваний.
3. Проведение больным пульс-терапии системными стероидами, цитостатиками и препаратами биологической терапии в течение полугода до обследования.

Все больные были обследованы на момент обращения в амбулаторном порядке или в 1–2-е сутки пребывания в стационаре.

Характеристика пациентов по нозологическим формам, возрасту, давности заболевания представлена в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика пациентов по нозологическим формам,
возрасту, давности заболевания

Нозологическая форма	N	Возраст, годы (M ± SD)	Длительность заболевания, годы (M ± SD)
СКВ	67	40 ± 11	8 ± 7
ДКВ	34	42 ± 10	9 ± 6
ССД	22	47 ± 15	9 ± 5
ОСД	28	43 ± 12	9 ± 6
Группа сравнения	33	43 ± 13	–

Из таблицы 1 видно, что возраст больных варьировал от 19 до 62 лет (минимум – 40 ± 11 лет – при СКВ, максимум – 47 ± 15 лет – при ССД). Давность заболевания на момент обследования при СКВ и ССД составляла от 0 до 15 лет (минимум – 8 ± 7 лет при СКВ, максимум – 9 ± 6 лет – при ОСД и ДКВ). Все обследованные (100%) являлись лицами женского пола.

2.2. Клиническая характеристика больных системной и дискоидной красной волчанкой

Обследована 101 пациентка в возрасте от 20 до 60 лет, в том числе 67 больных СКВ и 34 ДКВ (см. табл. 1). Средний возраст больных СКВ составил 40 ± 11 лет, длительность заболевания на момент исследования – 8 ± 8 лет; при ДКВ соответственно 42 ± 10 и 9 ± 6 лет. Контрольная группа

была представлена 33 здоровыми донорами женского пола. Средний возраст лиц группы контроля – 43 ± 13 лет.

Диагноз СКВ был установлен на основании критериев АРА [222]. Степень активности заболевания определяли по рекомендациям В. А. Насоновой [44], а также используя индексы SLEDAI и ECLAM [10, 121, 229]. Клиническая характеристика пациентов с СКВ представлена в таблице 2.

Таблица 2

Клиническая характеристика больных системной красной волчанкой

Признаки	Число случаев	
	абс.	%
Течение:		
подострое	36	53,7
хроническое	31	46,3
Активность:		
I	34	50,7
II	33	49,3
Поражения кожи и слизистых оболочек	53	79
Кожный синдром:		
фотосенсибилизация	41	61,2
эритема	42	62,6
васкулитная «бабочка»	20	29,8
дискоидные очаги	11	16,4
сетчатое ливедо	13	26
трофические расстройства	5	7,5
капилляриты	32	47,76
Суставной синдром: артрит/артралгии	55	82
Лимфоаденопатия	32	22,4
Поражения мышц	15	22,3
Поражения желудочно-кишечного тракта	12	17,9
Поражения легких	5	7,5
Поражения сердца	12	18

Признаки	Число случаев	
	абс.	%
Поражения почек	16	23,9
Поражения нервной системы	46	68,6
Увеличение СОЭ	39	58,2
LE-клетки	37	55,2
С-реактивный белок	23	34,3
АТ к ДНК	41	61,2
Лейкопения	52	77,6
Тромбоцитопения	11	16,4
АФС	12	18
Синдром Рейно	12	18

Больные СКВ были обследованы в соответствии с диагностическими критериями ACR [222]. Степень активности заболевания равнялась по индексу SLEDAI – $9,1 \pm 1,8$, по индексу ECLAM – $2,4 \pm 1,0$.

У 45 (67,2%) пациенток выявлялся отчетливый провоцирующий фактор. Началу заболевания предшествовали ангины, острые респираторные инфекции, чрезмерная инсоляция, беременность, стресс. Подострое течение СКВ наблюдалось у 36 (53,7%), хроническое – у 31 (46,3%) женщины. Минимальная активность воспалительного процесса (I степень) диагностирована у 34 (50,7%), а умеренная (II степень) – у 33 (49,3%) больных. Конституциональные симптомы в виде лихорадки, слабости и быстрой утомляемости наблюдались в 38, 88 и 32% случаев соответственно.

Кожный синдром у больных СКВ был выявлен у 53 (79,0%), фотосенсибилизация – у 41(61,2%) больных, поражение кожи в виде эритематозной или сосудистой «бабочки» – соответственно у 42 (62,6%) и 20 (29,8%), дискоидные очаги – у 11 (16,4%), сетчатое ливедо – у 13 (26%), трофические нарушения – у 5 (7,5%), капилляриты – у 32 (47,6%). Суставной синдром был выявлен у 55 пациентов с СКВ (82%), поражения нервной системы – у 46 (68,6%), сосу-

дистые поражения (тромбозы, синдром Рейно) – у 12 (18%) и у 12 (24%), АФС – у 12 (18%); ишемическая болезнь сердца, нарушения ритма сердечной деятельности – у 12 (18%), легких (хронический бронхит) – у 5 (7,5%), почек (люпус-нефрит) – у 16 (23,9%), лимфоаденопатия – у 32 (22,4%). Поражения желудочно-кишечного тракта в виде отсутствия аппетита и изжоги обнаружены у 12 (17,9%) пациентов.

Изменения в лабораторных показателях характеризовались анемией у 6 (12%) больных, лейкопенией – у 52 (77,6%), тромбоцитопенией – у 11 (16,4%). Ускорение СОЭ наблюдалось у 29 (58%) человек. Повышение уровня СРБ было выявлено у 39 (58,2%), LE-клетки – у 37 (55,2%), антитела к ДНК – у 41 (61,2%).

Клиническая характеристика пациентов с ДКВ, которая была диагностирована у 34 пациентов, представлена в таблице 3. Эритематозная стадия заболевания наблюдалась у 6 (17,7%) больных, инфильтративно-гиперкератотическая – у 14 (41,1%), атрофическая – у 14 (41,1%). Поражение красной каймы губ выявлено у 15 (44,1%) пациентов.

Таблица 3

Клиническая характеристика
больных дискоидной красной волчанкой

Признаки	Число случаев	
	абс.	%
Формы: дискоидная	34	100
Стадии:		
I – эритематозная	6	17,7
II – инфильтративно-гиперкератотическая	14	41,1
III – атрофическая	14	41,1
Поражения красной каймы губ: типичная форма	15	44,1

При клинико-лабораторном и инструментальном обследовании больных ДКВ признаков системности обнаружено не было.

Среди больных СКВ 5 человек (7,4%) находились в дебюте заболевания и на момент обследования не получали никакого лечения, 62 (92,5%) принимали ГКС в поддерживающей дозе 5–30 мг/сут. Части пациентов с СКВ проводилось патогенетическое и симптоматическое лечение, по показаниям назначались сосудорасширяющие препараты, гипотензивные средства, препараты, улучшающие кровообращение и микроциркуляцию, нестероидные противовоспалительные средства (НПВС), отдельным пациентам – цитостатики. Курс лечения больных кожными формами красной волчанки включал ГКС местно в виде мазей (100% больных), 14 пациентам (60,8%) внутрь назначались аминохинолиновые препараты, никотиновая кислота, трентал.

2.3. Клиническая характеристика больных системной и ограниченной склеродермией

Обследовано 50 пациентов: 22 – с ССД и 28 – с ОСД. Постановка диагноза ССД осуществлялась с учетом критериев Американской ревматологической ассоциации [222]. Клинико-лабораторная характеристика больных ССД представлена в таблице 4.

В 100% случаев больными ССД являлись женщины. Лимитированная форма ССД диагностирована у 15 (68,2%) пациенток, диффузная – у 7 (31,8%).

Умеренная степень активности воспалительного процесса имела место у 12 (54,5%), минимальная – у 10 (45,4%) больных. Хроническое течение заболевания было обнаружено у 15 (68,2%), подострое – у 7 (31,8%).

У всех (100%) больных было выявлено поражение кожи, проявлявшееся двусторонним отеком кистей, утолщением кожи пальцев, лица, предплечий, туловища с развитием ее индурации и атрофии. Было характерно наличие телеангиоэктазий, подкожного кальциноза, гиперпигментации кожи и участков ее депигментации, трофических нарушений (язвы, деформация ногтей, облысение). Синдром Рейно обнаружен у 20 (91%) пациентов.

Клинико-лабораторная характеристика больных системной склеродермией

Признак	Число больных (n = 22)	
	абс.	%
Пол:		
женщины	28	100
мужчины	0	0
Клинические формы:		
диффузная	7	31,8
лимитированная	2	68,2
Течение:		
подострое	7	40,9
хроническое	15	59
Активность:		
I	10	45,4
II	12	54,5
Стадия течения: II	22	100
Синдром Рейно	20	91
Поражения кожи	22	100
Поражения суставов и костей	11	50
Поражения мышц	10	45,4
Поражения желудочно-кишечного тракта	4	18,1
Поражения легких	4	18,1
Поражения сердца	6	27,3
Поражения почек	4	18,18
Поражения ЦНС	12	54,5
Увеличение СОЭ	14	63,6
Гипергаммаглобулинемия	13	59

Поражение суставов и костей в виде полиартралгий и полиартритов диагностировано у 19 (86,4%) больных. Сгибательные контрактуры имели место в 17% случаев (5 человек), остеолиз ногтевых фаланг – в 10% (3 больных). Поражение мышц в виде фиброза и атрофии выявлено у 10 (45,4%) лиц с ССД.

Нарушения ритма сердечной деятельности, кардиосклероза наблюдалось у 6 (27,3%) пациентов.

Поражения желудочно-кишечного тракта в виде отсутствия аппетита и изжоги обнаружены у 4 (18,1%) больных. Нарушения центральной нервной системы в виде цефалгий, тяжести и шума в ушах, нарушения памяти наблюдалось у 12 (54,5%) пациентов. Вовлечение легких в патологический процесс проявлялось базальным пневмосклерозом у 4 (18,1%) пациентов. Ускорение СОЭ отмечено у 14 (63,6%) больных, гипергаммаглобулинемия – у 13 (59%).

Клиническая характеристика пациентов с ОСД представлена в таблице 5. Из таблицы 5 видно, что заболевание в стадии отека было диагностировано у 5 (17,8%) больных, уплотнения – у 8 (28%), атрофии – у 15 (52,9%). Бляшечная форма ОСД имела у 20 пациентов (71,4%), линейная – у 2 (7,1%), пятнистая – у 8 (28%). У двух больных (7,1%) была обнаружена алопеция. При клинико-лабораторном и инструментальном обследовании признаков системности выявлено не было.

Таблица 5

Клиническая характеристика больных ограниченной склеродермией

Признак	Число больных (n = 28)	
	абс.	%
Стадии:		
отека	5	17,8
уплотнения	8	28,0
атрофии	15	52,9
Формы:		
бляшечная	20	71,4
линейная	2	7,1
пятнистая	8	28,0
Алопеция	2	7,1

Терапия больных ОСД проводилась антибактериальными препаратами из группы пенициллинов (19 пациентов – 100%), аминохинолиновыми произ-

водными, вазоактивными средствами (теоникол, никотиновая кислота или никотинамид, никоверин), ферментными препаратами (лидаза, ронидаза). Применялись также фонофорез с ГКС или электрофорез с никотиновой кислотой либо с лидазой, витамины, местно – диметилсульфоксид.

2.4. Методы исследования

Исходя из характера настоящего исследования и поставленных задач были использованы специальные иммунологические методы, позволяющие адекватно изучить маркеры апоптоза нейтрофилов, состояние их метаболических функций, а также возможные пути регуляции апоптоза нейтрофилов при различных формах красной волчанки и склеродермии.

2.4.1. Определение маркера апоптоза нейтрофилов с помощью метода иммунофлюоресценции

Популяции моноцитов и нейтрофилов периферической крови человека получали с помощью центрифугирования [245] на двойном градиенте плотности 1,077 и 1,093 фиколла-верографина. Гепаринизированную кровь из локтевой вены отстаивали с 3%-ном раствором декстрана Т-500 фирмы «Pharmacia» (Швеция) в соотношении 10 : 1 в термостате при температуре +37°C в течение 15–20 минут для седиментации эритроцитов. Плазму, содержащую лейкоциты, разводили раствором Хенкса в соотношении 3 : 1, наслаивали на два слоя градиентных растворов в специальных центрифужных пробирках. После 40 минут центрифугирования при температуре +4°C и скорости 3000 об./мин в пробирках образовывались две интерфазы. Верхняя (на границе плазма –

верофиколл), плотностью 1,077, состояла из моноклеарных клеток; нижняя (на границе градиентных растворов), плотностью 1,077–1,092, представляла собой популяцию гранулоцитов. Моноклеарная фракция состояла из 70–75% лимфоцитов, 10–15% моноцитов, 5–10% гранулоцитов. Фракция полиморфноядерных лейкоцитов – из 98–100% нейтрофилов, незначительную примесь составляли лимфоциты. Взвесь нейтрофилов доводили до концентрации 5×10^6 мл, оценивали жизнеспособность клеток в тесте с трипановым синим и использовали для изучения их функций.

Экспрессию CD95⁺ антигена (лиганд, опосредующий апоптоз) нейтрофилов определяли с помощью метода непрямой иммунофлюоресценции, описанного Б. В. Пинегиным и др. [22], с моноклональными антителами производства фирмы «Сорбент» (Москва). Учет реакции производили на люминесцентном микроскопе.

2.4.2. Оценка ДНК в дезоксинуклеопротеиде нейтрофилов микроцитометрическим методом

Был использован люминесцентный анализ нейтрофилов, адекватно отражающий функции клеток [27, 36]. Клетки фиксировали 30 минут в равном количестве этанола-спирта, затем гидратировали в растворах этанола понижающейся концентрации (100, 96, 60, 30%), инкубировали в ацетатном буфере (рН 4,4) 5 минут, окрашивали 15 минут в растворе акридинового оранжевого на ацетатном буфере. Затем препараты помещали последовательно в 3 порции буферного раствора (по 5 минут), содержащего акридиновый оранжевый. Препараты помещали в каплю последнего отмывочного раствора, заключали под стекло, флуориметрировали ядра по зеленой флуоресценции (I_{530}) на микроцитометрическом люминесцентного микроскопа Люмам И-3, выражая интенсивность люминесценции в Мv.

2.4.3. Оценка числа лизосом в фагоцитах

Состояние лизосомального аппарата нейтрофилов изучали с помощью люминесцентно-микроскопического метода, который считается наилучшим для прижизненного выявления лизосом, в полной мере характеризующим функциональную активность и полноценность фагоцитирующих клеток [21].

Приготовление рабочего раствора акридинового оранжевого: 5 мг сухого красителя растворяли в 5 мл физиологического раствора, полученный маточный раствор (1 мг/мл) хранили при температуре +4°C. Перед использованием 0,2 мл маточного раствора смешивали с 4,8 мл физиологического раствора (рабочая концентрация акридинового оранжевого – 1 : 50 000).

Оценку уровня люминесценции флюорохромированных лизосом нейтрофилов проводили в суспензии клеток. Для этого к 0,2 мл взвеси нейтрофилов с концентрацией 5×10^3 кл./мл добавляли 0,02 мл рабочего раствора акридинового оранжевого. Через 30 минут инкубирования при температуре +37°C каплю препарата помещали на предметное стекло, накрывали покровным стеклом и микроскопировали. Витальные препараты микроскопировали при светофильтре возбуждения СФ-1 и увеличении 90×8 .

По интенсивности поглощения флюорохрома лизосомами все фагоциты делили на четыре группы: 0 – клетки, в которых нет лизосом или присутствуют единичные гранулы; 1 – фагоциты, в которых интенсивность свечения лизосом слабая, но они занимают 1/3 клеточной цитоплазмы; 2 – клетки, в которых лизосомы со средней интенсивностью свечения занимают 1/2 цитоплазмы; 3 – фагоциты, в которых вся цитоплазма заполнена ярко-красными светящимися гранулами. Для подсчета суммарной люминесценции лизосом число подсчитанных клеток в группе 3 умножали на 10, в группе 2 – на 3, в группе 1 – на 1, произведения суммировали и делили на число сосчитанных фагоцитов.

Индекс люминесценции лизосом (I_L) высчитывали по формуле:

$$I_L = \frac{B + C \times 3 + D \times 10}{100},$$

где B – число клеток в группе 1, C – число клеток в группе 2, D – число клеток в группе 3.

2.4.4. Исследование кислородзависимого метаболизма нейтрофилов

Популяции моноцитов (Мн) и нейтрофилов периферической крови человека получали с помощью центрифугирования на двойном градиенте плотности 1,077 и 1,093 фикола-верографина [245]. После 40 минут центрифугирования при температуре +4°C и скорости 1500 об./мин в пробирках образовывалось две интерфазы: верхняя (на границе плазма – верофиколл), плотностью 1,077, состоящая из мононуклеарных клеток (80% лимфоцитов, 15–18% Мн, незначительная примесь гранулоцитов – 2–3%), и нижняя (на границе градиентных растворов), плотностью 1,077–1,092, на 98–100% представляющая собой популяцию нейтрофилов. Взвесь клеток доводили до концентрации 5×10^6 /мл, чистота и жизнеспособность нейтрофилов и моноцитов в тесте с трипановым синим составляла 98–99%.

Тесты спонтанной и индуцированной одномиллиардной взвесью убитого нагреванием эпидермального стафилококка люминолзависимой хемилюминесценции (ХЛ), отражающие соответственно продукцию супероксиданиона и гидроксильного радикала, выполняли по методике, описанной В. М. Земсковым [22] с учетом реакции на жидкостно-сцинтилляционном счётчике «Бета-1» (КПО «Медаппаратура», Киев, Украина). Далее делали пересчет импульсов на одну клетку, выражая хемилюминесценцию условно в имп./мин/кл. Функциональный резерв клеток оценивали по коэффициенту активации (КА) хемилюминесценции (отношение индуцированной ХЛ к спонтанной).

2.4.5. Определение содержания антител к ДНК

Содержание антител к нативной двухцепочечной ДНК (аДНК) в сыворотке крови обследованных лиц определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа в соответствии с инструкцией производителя.

2.4.6. Определение уровня цитокинов

Содержанием цитокинов (IL-1 β , IL-4, IL-6, TNF- α) определяли в сыворотке крови пациентов с помощью иммуноферментного метода с использованием тест-систем «ProCon» фирмы «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург) согласно инструкции производителя.

2.4.7. Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка данных проводилась при помощи пакета прикладных программ STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., США). Расчеты выполнены в соответствии с рекомендациями О. Ю. Ребровой (2002) по обработке численных результатов экспериментов в медицине. Проверку нормальности распределения количественных признаков выполняли с использованием критериев Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро – Уилка. Однородность сравниваемых групп оценивали с помощью метода проверки статистических гипотез об извлечении выборок из одной генеральной совокупности. Однородность по качественным признакам проводили путем

анализа таблиц сопряженностей с вычислением коэффициента ассоциации Юла и коэффициента контингенции Пирсона. Проверку равенства генеральных дисперсий производили с помощью критериев Фишера и Кокрана [12].

При оценке нормально распределенных количественных признаков вычисляли среднее значение и среднеквадратического отклонения ($M \pm \sigma$, где M – среднее, σ – стандартное (среднеквадратическое) отклонение) с указанием числа анализируемых признаков (n).

При однофакторном анализе для непрерывных величин применялся парный t-тест Стьюдента, для дискретных – χ^2 с поправкой Йетса. В случаях распределения количественных признаков, отличающихся от нормальных, производили вычисление медиан и интерквартильных интервалов в виде 25 и 75 перцентилей ($Me Q_{25}-Q_{75}$).

Для сравнения двух независимых групп по одному признаку применяли критерии Манна – Уитни, χ^2 , точный критерий Фишера; зависимые группы сравнивались с использованием критериев Вилкоксона, Мак-Немара и критерия знаков.

Для определения взаимосвязи явлений применялся канонический корреляционный анализ, изучение коэффициентов корреляции Пирсона и Спирмена. Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Глава 3. МАРКЕРЫ АПОПТОЗА, ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ И ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ У БОЛЬНЫХ РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКИ

3.1. Содержание CD95⁺ и ДНК нейтрофилов у больных дискоидной и системной красной волчанкой

В настоящем разделе представлены результаты изучения маркера апоптоза нейтрофилов по данным определения у больных ДКВ и СКВ CD95⁺ антигена клеток иммунофлюоресцентным методом, а также интенсивности связывания акридинового оранжевого красителя с ДНК нейтрофилов микроцитометрическим методом. Показатели апоптоза нейтрофилов проанализированы в зависимости от содержания при обоих заболеваниях ЦИК и цитокинов (а при СКВ – аДНК), а также в зависимости от активности, характера течения и клинических проявлений СКВ.

Результаты исследования маркера апоптоза нейтрофилов, представленные в таблице 6, свидетельствуют о достоверном повышении количества CD95⁺ клеток как при ДКВ, так и при СКВ ($p < 0,05$) по сравнению с результатами здоровых лиц. Статистически достоверной разницы в содержании CD95⁺ позитивных нейтрофилов при ДКВ в сравнении с показателями больных СКВ не выявлено ($p > 0,05$).

Таблица 6

Маркеры апоптоза и ДНК нейтрофилов у больных дискоидной и системной красной волчанкой, Me (Q₂₅–Q₇₅)

Показатели	Контроль (n = 33)	Больные с ДКВ (n = 34)	Больные с СКВ (n = 67)
CD95 ⁺ , %	42 (34–45)	58 (54–62)*	54 (51–56)*
ДНК, mV	8,6 (6,2–9,6)	7,94 (6,0–9,83)	4,63 (3,8–7,3)* **

Примечание. Статистическая значимость различий ($p < 0,05$): * – по сравнению с группой контроля, ** – с группой больных с ДКВ.

Показатели ДНК нейтрофилов были достоверно ниже у больных СКВ, чем у пациентов ДКВ и лиц контрольной группы ($p < 0,05$), тогда как при ДКВ они не отличались от показателей здоровых людей ($p > 0,05$).

Исследование маркера апоптоза и ДНК нейтрофилов у больных с различными стадиями ДКВ (табл. 7) продемонстрировало достоверное увеличение количества $CD95^+$ нейтрофилов на всех стадиях процесса по сравнению с данными группы контроля при отсутствии существенных различий в этом показателе у лиц с эритематозной, гиперкератозно-инфильтративной и атрофической стадиями ДКВ ($p > 0,05$).

Таблица 7

Маркер апоптоза и ДНК нейтрофилов у больных различными стадиями дискоидной красной волчанки, Ме ($Q_{25}-Q_{75}$)

Показатели	Стадии ДКВ			Контроль
	эритематозная (n = 6)	гиперкератозно- инфильтративная (n = 14)	атрофическая (n = 14)	
CD95 ⁺ , %	58 (42–66)*	58 (56–62)*	56,71 (56–64)*	42 (34–45)
ДНК, mV	8,44 (6,2–9,6)	8,94 (6,00–9,83)	8,63 (4,8–9,3)	8,6 (6,2–9,6)

Примечание. Статистическая значимость различий: * – по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$).

У пациентов всех групп содержание ДНК в нейтрофилах не отличалось от показателей здоровых лиц ($p > 0,05$), разницы в концентрации ДНК у больных эритематозной, гиперкератозно-инфильтративной и атрофической стадиями ДКВ установлено не было ($p > 0,05$).

Результаты изучения маркеров апоптоза и ДНК нейтрофилов у больных СКВ с различной степенью активности воспалительного процесса (табл. 8) показали, что с ее увеличением количество $CD95^+$ клеток достоверно нарастало ($p < 0,05$), тогда как содержание ДНК нейтрофилов имело тенденцию к статистически недостоверному уменьшению ($p > 0,05$).

Маркеры апоптоза и ДНК нейтрофилов у больных системной красной волчанкой с различной степенью активности воспалительного процесса, Me (Q₂₅–Q₇₅)

Показатели	Больные с СКВ А1 (n = 33)	Больные с СКВ А2 (n = 34)
CD95 ⁺ %	54 (46–56)	62 (58–72)*
ДНК, mV	8,6 (6,2–9,6)	7,94 (6,0–9,83)

Примечание. Статистическая значимость различий: * – между группами ($p < 0,05$).

Данные исследования маркеров апоптоза у больных СКВ в зависимости от клинических проявлений (табл. 9) свидетельствовали о том, что поражения кожи и суставов не сопровождалось статистически значимыми изменениями количества CD95⁺ нейтрофилов ($p > 0,05$). В то же время поражения сосудов, почек и синдром Рейно протекали на фоне существенного повышения количества CD95⁺ нейтрофилов ($p < 0,05$).

Поражения сосудов и почек, синдром Рейно характеризовались достоверным уменьшением количества ДНК нейтрофилов ($p < 0,05$), тогда как при поражениях кожи и суставов существенных изменений ДНК клеток выявлено не было ($p > 0,05$).

Результаты изучения маркеров апоптоза нейтрофилов у больных СКВ, получавших и не получавших поддерживающую терапию ГКС, представлены в таблице 10. Количество CD95⁺ нейтрофилов у больных СКВ, принимавших или не принимавших ГКС, было существенно больше, чем у здоровых лиц. При этом у пациентов, получавших ГКС, содержание этих клеток было достоверно выше, чем у больных, не принимавших ГКС ($p < 0,05$).

При исследовании ДНК нейтрофилов в обеих группах больных (соответственно не получавших или получавших терапию ГКС) установлено статистически достоверное снижение показателей по сравнению с данными группы контроля ($p < 0,05$). Констатированы более высокие показатели ДНК у больных, не принимавших ГКС, по сравнению с аналогичными данными у пациентов, принимавших эти препараты ($p < 0,05$).

Таблица 9

Маркер апоптоза и содержание ДНК нейтрофилов
у больных системной красной волчанкой
в зависимости от клинических проявлений, Ме (Q₂₅–Q₇₅)

Показатели	Поражения				
	кожи $n = \frac{53}{14}$	суставов $n = \frac{55}{12}$	сосудов $n = \frac{25}{42}$	почек $n = \frac{16}{51}$	синдром Рейно $n = \frac{12}{55}$
CD95 ⁺ , %	<u>42,8 (43,6–65,4)</u> 48,6 (43,2–75,9)	<u>44,4 (23,73–65,6)</u> 42,9 (33,20–75,58)	<u>68,6 (43,4–75,5)*</u> 38,1(23,6–45,4)	<u>82,6 (53,3–85,6)*</u> 32,8(23,90–45,18)	<u>72,98 (54,8–86,2)*</u> 32,4 (23,30–45,52)
ДНК, mV	<u>5,6 (4,4–6,6)</u> 4,7 (4,1–6,8)	<u>4,8 (4,0–6,4)</u> 4,6 (3,6–6,8)	<u>3,7 (2,8–4,6)*</u> 6,2 (4,8–7,6)	<u>3,6 (2,68–4,40)*</u> 6,5 (4,90–9,06)	<u>3,3 (2,2–4,8)*</u> 6,6 (4,9–8,8)

Примечание. В числителе указано наличие поражений, в знаменателе – отсутствие. Статистическая значимость различий: * – между числителем и знаменателем ($p < 0,05$).

Маркеры апоптоза нейтрофилов у больных системной красной волчанкой, получавших и не получавших поддерживающую терапию глюкокортикостероидами, Ме (Q₂₅–Q₇₅)

Показатели	Контроль (n = 33)	Группа 2 ГКС- (n = 11)	Группа 3 ГКС+ (n = 56)
CD95 ⁺ , %	42 (34–45)	52 (48–62) *	62 (58–76)* **
ДНК, mV	8,6 (6,2–9,6)	6,87 (4,20–8,32) *	3,82 (3,2–6,2)* **

Примечание. Статистическая значимость различий ($p < 0,05$): * – по сравнению с группой контроля, ** – между группами 2 и 3.

Таким образом, как при ДКВ, так и при СКВ имеет место повышение количества CD95⁺ клеток на фоне снижения числа ДНК нейтрофилов исключительно у больных СКВ. Содержание CD95⁺ и ДНК нейтрофилов не зависит от стадии ДКВ. Констатировано повышение числа CD95⁺ нейтрофилов на фоне снижения количества ДНК клеток с нарастанием активности СКВ при поражениях сосудов, почек и синдроме Рейно. У больных СКВ, принимавших ГКС, количество CD95⁺ нейтрофилов выше, а ДНК клеток ниже, чем у пациентов, не принимавших ГКС.

3.2. Лизосомальная активность и кислородзависимый метаболизм нейтрофилов у больных дискоидной и системной красной волчанкой

Данные исследования лизосомальной активности и кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у больных ДКВ и СКВ отражены в таблице 11. Активность лизосом в спонтанном тесте была статистически достоверно снижена как при СКВ, так и при ДКВ в сравнении с показателями здоровых лиц

($p < 0,05$). Констатированы достоверно более высокие показатели тестирования у больных ДКВ по сравнению с аналогичными данными при СКВ ($p < 0,05$). Не было отмечено существенной разницы в показателях активированного лизосомального теста и коэффициентов активации у пациентов обеих групп и группы контроля ($p > 0,05$).

Таблица 11

Лизосомальная активность и кислородзависимый метаболизм нейтрофилов у больных дискоидной и системной красной волчанкой, Q_{25} – Q_{75}

Показатели	Контроль (n = 33)	Больные с ДКВ (n = 34)	Больные с СКВ (n = 67)
сЛТ Нф	5,84 (4,02–6,20)	4,92 (3,36–5,0)*	4,12 (3,68–5,90)* **
аЛТ Нф	5,08 (4,36–6,08)	4,92 (3,8–6,3)	5,16 (3,96–6,96)
ЛТ Нф КА	0,98 (0,82–1,11)	1,23 (1,00–1,56)	1,1 (0,9–1,4)
сХЛ Лм Нф	1,60 (1,6–2,2)	2,45 (1,0–3,8)*	6,3 (2,4–13,6)* **
иХЛ Лм Нф	7,00 (2,2–8,2)	1,04 (0,2–1,07)*	1,3 (1,0–7,3)*
КА ХЛ Лм Нф	2,50 (1,0–3,0)	1,51 (1,13–9,76)*	0,5 (0,15–1,00)* **

Примечание. Статистическая значимость различий ($p < 0,05$): * – по сравнению с группой контроля, ** – между группами больных с ДКВ и СКВ.

Продукция активных форм кислорода по результатам теста спонтанной хемилюминесценции у больных ДКВ и СКВ была достоверно увеличена при сравнении с данными контрольной группы ($p < 0,05$); отмечены существенно более высокие показатели теста у больных СКВ, чем у пациентов с ДКВ ($p < 0,05$). В то же время индуцированные показатели тестирования с помощью хемилюминесценции при СКВ и ДКВ были достоверно снижены по сравнению с данными здоровых лиц ($p < 0,05$). Существенной разницы в степени снижения индуцированной хемилюминесценции между группами больных с СКВ и ДКВ не установлено ($p > 0,05$). Коэффициент активации в тестах хемилюминесценции был снижен у пациентов обеих групп по сравнению с показателями группы контроля, при этом более существенное уменьшение коэффициента констатировано у больных СКВ, чем у пациентов с ДКВ.

Анализ активности лизосом нейтрофилов у больных с различными стадиями ДКВ (табл. 12) выявил достоверное снижение показателей в спонтанном лизосомальном тесте на всех стадиях процесса (эритематозная, гиперкератозно-инфильтративная, атрофическая) по сравнению с данными здоровых лиц ($p < 0,05$) при отсутствии статистически значимой разницы между группами пациентов, находящихся на трех разных стадиях развития патологического процесса ($p > 0,05$).

Таблица 12

Лизосомальная активность
и кислородзависимый метаболизм нейтрофилов
у больных различными стадиями дискоидной красной волчанки, Me (Q_{25} – Q_{75})

Показатели	Стадии ДКВ			Контроль
	Эритематозная (n = 6)	Гиперкератозно- инфильтративная (n = 14)	Атрофическая (n = 14)	
ЛТ Нф с	3,62 (2,02–5,20)*	3,88 (2,4–5,4)*	4,06 (3,4–6,5)*	5,84 (4,02–6,20)
ЛТ Нф а	2,82 (1,3–5,1)*	3,66 (2,8–6,3)*	3,88 (2,9–6,3)*	5,08 (4,36–6,08)
ЛТ Нф КА	0,78 (0,5–1,4)	0,94 (0,66–1,60)	0,95 (0,5–1,8)	0,98 (0,82–1,11)
сХЛ Лм Нф	3,42 (1,6–4,2)* **	2,61 (1,4–4,8)*	2,2 (1,4–4,6)*	1,60 (1,6–2,2)
иХЛ Лм Нф	2,12 (2,2–8,2)* **	3,44 (1,2–4,6)*	3,62 (1,0–5,3)*	7,00 (2,2–8,2)
КА ХЛ Лм Нф	0,61 (0,3–2,1)* **	1,32 (0,66–3,90)*	1,6 (0,5–4,2)*	2,50 (1,0–3,0)

Примечание. Статистическая значимость различий ($p < 0,05$): * – по сравнению с группой контроля, ** – между группами больных с разными стадиями ДКВ.

Результаты активированного лизосомального теста также были существенно снижены по сравнению с показателями контроля на всех стадиях развития ДКВ ($p < 0,05$), при этом достоверных различий на разных стадиях ДКВ установлено не было. Существенных различий в коэффициентах активации нейтрофилов в лизосомальном тесте на разных стадиях патологического процесса и при сравнении с контролем не отмечено ($p > 0,05$).

Продукция активных форм кислорода по данным теста спонтанной хемилюминесценции у больных ДКВ на всех стадиях заболевания была достоверно увеличена по сравнению с показателями здоровых лиц ($p < 0,05$); существенная разница в результатах исследования пациентов с различными стадиями отмечена между эритематозной с более высокими результатами и атрофической стадиями ДКВ ($p < 0,05$). Индуцированная хемилюминесценция у больных всех трех групп, в отличие от контроля, была уменьшена ($p < 0,05$); достоверные различия выявлены при анализе результатов исследования пациентов с эритематозной (с более низкими показателями) и атрофической стадиями ($p < 0,05$). Установлены существенно более низкие коэффициенты активации нейтрофилов при эритематозной стадии по сравнению с гиперкератозно-инфильтративной и атрофической ($p < 0,05$).

Данные определения лизосомальной активности и кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у больных СКВ в зависимости от активности процесса сведены в таблице 13.

Таблица 13

Лизосомальная активность и кислородзависимый метаболизм нейтрофилов у больных системной красной волчанкой в зависимости от активности процесса, Me (Q_{25} - Q_{75})

Показатели	Активность СКВ	
	AI (n = 33)	АII (n=34)
сЛТ Нф	4,92 (4,04–6,04)	4,68 (3,64–5,56)
аЛТ Нф	5,24 (3,96–7,16)	5,04 (4,44–6,88)
ЛТ Нф КА	1,1 (0,94–1,50)	1,1 (0,90–1,36)
сХЛ Лм Нф	6,0 (2,0–8,7)	11,25 (3,1–15,9)*
иХЛ Лм Нф	1,4 (1,0–6,0)	1,0 (1,0–3,0)
КА ХЛ Лм Нф	0,2 (0,3–1,0)	0,1 (0,1–1,0)*

Примечание. Статистическая значимость различий: * – между больными с различной степенью активности СКВ ($p < 0,05$).

Результаты исследования демонстрируют отсутствие статистически достоверной разницы в показателях спонтанного, активированного лизосомального теста и коэффициента активации лизосом у больных с минимальной и умеренной степенями активности СКВ. Кислородзависимый метаболизм у больных СКВ характеризовался существенным возрастанием показателей спонтанного теста хемилюминесценции ($p < 0,05$) на фоне тенденции к уменьшению результатов индуцированной хемилюминесценции ($p > 0,05$) и достоверным падением коэффициента активации нейтрофилов ($p < 0,05$) в хемилюминесцентном тесте с увеличением активности патологического процесса.

Результаты изучения лизосомальной активности и кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у больных СКВ в зависимости от клинических проявлений отражены в таблице 14. Поражения кожи, почек, суставов, сосудов и синдром Рейно не сопровождались статистически достоверными изменениями практически всех (как спонтанных, так активированных) показателей лизосомального теста ($p > 0,05$). Исключение составляли существенно повышенные данные активированного лизосомального теста при синдроме Рейно ($p < 0,05$).

Установлено изменение показателей окислительного стресса нейтрофилов у пациентов с кожным и суставным синдромами, а также у больных с синдромом Рейно. Так, при суставном синдроме выявлено снижение спонтанной люминолзависимой хемилюминесценции нейтрофилов по сравнению с аналогичными данными у больных с отсутствием этого синдрома ($p < 0,05$).

При поражениях кожи обнаружены более высокие показатели спонтанной люминолзависимой хемилюминесценции нейтрофилов ($p < 0,05$), чем у пациентов, у которых эти поражения не были диагностированы.

Синдром Рейно характеризовался достоверным ($p < 0,05$) увеличением спонтанной и индуцированной люминолзависимой хемилюминесценции нейтрофилов.

Таблица 14

Лизосомальная активность и кислородзависимый метаболизм нейтрофилов
у больных системной красной волчанкой в зависимости от клинических проявлений, Ме (Q₂₅–Q₇₅)

Показатели	Поражения				
	кожи $n = \frac{53}{14}$	суставов $n = \frac{55}{12}$	сосудов $n = \frac{25}{42}$	почек $n = \frac{16}{51}$	Синдром Рейно $n = \frac{12}{55}$
сЛТ Нф	<u>4,86 (3,64–5,40)</u> 4,84(3,24–5,94)	<u>4,66 (3,73–5,46)</u> 4,69(3,28–5,58)	<u>4,66 (3,48–5,56)</u> 4,71(3,64–5,40)	<u>4,6 (3,32–5,63)</u> 4,88(3,93–5,18)	<u>4,98 (4,84–6,20)</u> 4,4 (3,32–5,52)
аЛТ Нф	<u>5,16 (4,48–6,66)</u> 4,76(4,0–6,88)	<u>4,98 (4,02–6,14)</u> 4,36(3,4–6,81)	<u>4,78 (3,68–6,66)</u> 5,02 (4,48–5,96)	<u>4,46 (3,68–6,14)</u> 5,56 (4,96–7,06)	<u>8,13 (5,24–10,88)*</u> 4,76 (3,80–5,98)
ЛТ Нф КА	<u>1,15 (0,95–1,41)</u> 1,1(0,95–1,37)	<u>1,1 (0,92–1,41)</u> 1,01(0,93–1,34)	<u>1,02 (0,94–1,4)</u> 1,1(0,9–1,36)	<u>0,99 (0,90–1,34)</u> 1,21(1,07–1,51)	<u>1,1 (0,90–1,36)</u> 1,06 (0,9–1,4)
сХЛ Лм Нф	<u>6,5 (2,52–12,40)*</u> 5,3 (2,0–15,7)	<u>5,5 (2,00–11,25)*</u> 7,0 (3,1–19,2)	<u>6,3 (2,4–13,6)</u> 6,0 (2,64–8,7)	<u>4,2 (2,0–13,6)</u> 4,45 (2,0–9,1)	<u>8,65 (7,1–11,1)*</u> 4,4 (2,1–6,2)
иХЛ Лм Нф	<u>1,15 (1,0–5,0)</u> 1,25(1,0–8,2)	<u>1,0 (1,0–4,0)</u> 1,4 (1,0–9,0)	<u>1,4 (1,0–7,3)</u> 1,0 (0,9–4,0)	<u>1,0 (1,00–3,58)</u> 2,1 (1,0–6,4)	<u>2,1 (1,0–6,4)*</u> 1,05 (1,0–6,0)
КА ХЛ Лм Нф	<u>0,5 (0,14–1,17)</u> 0,62 (0,16–1,0)	<u>0,58 (0,16–1,00)*</u> 0,32 (0,1–1,3)	<u>0,5 (0,20–1,17)</u> 0,5 (0,15–1,00)	<u>0,68 (0,20–1,16)*</u> 0,23 (0,12–0,96)	<u>0,75 (0,22–1,38)</u> 0,5 (0,15–1,00)

Примечание. В числителе указано наличие поражений, в знаменателе – отсутствие. Статистическая значимость различий: * – между числителем и знаменателем ($p < 0,05$).

Результаты исследования лизосомальной активности и кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у больных СКВ, получавших и не получавших поддерживающую терапию ГКС, отражены в таблице 15.

Таблица 15

Лизосомальная активность и кислородзависимый метаболизм нейтрофилов у больных системной красной волчанкой, получавших и не получавших поддерживающую терапию глюкокортикостероидами, Ме (Q_{25} – Q_{75})

Показатели	Контроль (n = 33)	ГКС- (n = 11)	ГКС+ (n = 56)
сЛТ Нф	5,84 (4,02–6,20)	4,86 (3,83–5,2)*	3,02 (3,24–5,40)* **
аЛТ Нф	5,08 (4,36–6,08)	5,22 (3,82–6,54)	3,82 (3,6–6,2)* **
ЛТ Нф КА	0,98 (0,82–1,11)	1,1 (0,90–1,46)	1,2 (0,8–1,5)
сХЛ Лм Нф	1,60 (1,6–2,2)	11,2 (3,1–16,6)*	6,14 (2,2–8,8)* **
иХЛ Лм Нф	7,00 (2,2–8,2)	1,4 (0,20–1,07)*	1,2 (1,0–7,3)*
КА ХЛ Лм Нф	2,50 (1,0–3,0)	0,1 (0,1–0,3)*	0,2 (0,15–0,40)*

Примечание. Статистическая значимость различий ($p < 0,05$): * – по сравнению с группой контроля, ** – между группами больных, получавших и не получавших ГКС.

Из таблицы 15 видно, что показатели спонтанного лизосомального теста в обеих группах пациентов был достоверно снижен по сравнению с данными группы контроля со значимым уменьшением у лиц, принимавших ГКС, по сравнению с аналогичными данными больных, не получавших ГКС ($p < 0,05$).

Показатели активированного лизосомального теста не отличались существенно у здоровых и больных, не принимавших ГКС ($p > 0,05$), но были достоверно уменьшены у пациентов, принимавших ГКС, по сравнению с аналогичными показателями групп контроля и больных, не принимавших ГКС ($p < 0,05$). Коэффициенты активации нейтрофилов во всех обследованных группах существенно не отличались друг от друга ($p > 0,05$).

Показатели кислородзависимого метаболизма нейтрофилов по данным теста спонтанной хемилюминесценции у пациентов обеих групп были существенно увеличены по сравнению с контролем ($p < 0,05$), однако прием ГКС

достоверно снижал показатели этого теста ($p < 0,05$). Показатели индуцированной хемилюминесценции нейтрофилов в обеих группах пациентов была достоверно снижена при сравнении с данными здоровых лиц ($p < 0,05$), не отличаясь существенно при сравнении обеих групп пациентов ($p > 0,05$). Коэффициент активации нейтрофилов по данным хемилюминесцентного анализа был снижен в обеих группах по сравнению с показателями группы контроля ($p < 0,05$), достоверно не отличаясь в обеих группах больных ($p > 0,05$).

Таким образом, как при СКВ, так и при ДКВ установлено снижение активности лизосом в спонтанном тесте, более существенное у больных СКВ. Продемонстрировано увеличение кислородзависимого метаболизма нейтрофилов по данным теста спонтанной хемилюминесценции у больных ДКВ, и в большей мере при СКВ, на фоне снижения показателей индуцированной хемилюминесценции и коэффициента активации клеток. Лизосомальная активность нейтрофилов не зависит от стадии ДКВ, тогда как окислительный стресс клеток при эритематозной стадии ДКВ, в отличие от гиперкератозно-инфильтративной и атрофической стадии, по данным спонтанной хемилюминесценции увеличен. Констатированы более высокие показатели индуцированной хемилюминесценции у пациентов с гиперкератозно-инфильтративной и атрофической стадиями, нежели с эритематозной, а также более низкий коэффициент активации нейтрофилов в тесте хемилюминесценции при эритематозной стадии по сравнению с гиперкератозно-инфильтративной и атрофической.

Не установлено разницы в данных лизосомальных тестов у больных СКВ в зависимости от активности процесса, в то время как кислородзависимый метаболизм по данным спонтанной пробы возрастал на фоне снижения показателей индуцированной хемилюминесценции и коэффициентов активации нейтрофилов с нарастанием активности болезни.

Суставной синдром при СКВ характеризовался снижением показателей спонтанной люминолзависимой хемилюминесценции нейтрофилов по сравнению с аналогичными данными у больных с отсутствием этого синдрома ($p < 0,05$).

При поражениях кожи обнаружены более высокие показатели спонтанной люминолзависимой хемиллюминесценции нейтрофилов ($p < 0,05$), чем без таковых.

Синдром Рейно характеризовался достоверным ($p < 0,05$) увеличением данных спонтанной и индуцированной люминолзависимой хемиллюминесценции нейтрофилов, а также повышением показателей активированного лизосомального теста.

Функциональный резерв нейтрофилов по данным определения коэффициента активации нейтрофилов в тесте хемиллюминесценции был увеличен при поражениях суставов и почек при СКВ. Прием ГКС приводил к снижению показателей спонтанного и активированного лизосомального теста у больных СКВ, а также выработки активных форм кислорода по данным спонтанного теста.

3.3. Провоспалительные цитокины, циркулирующие иммунные комплексы, С-реактивный белок и антитела к ДНК у больных дискоидной и системной красной волчанкой

Результаты изучения содержания провоспалительных цитокинов, ЦИК, СРБ и антител к ДНК у больных ДКВ и СКВ сведены в таблице 16. У больных ДКВ и СКВ содержание сывороточного IL-1 β было существенно выше, чем в группе контроля ($p < 0,05$). Уровень цитокина при СКВ достоверно превышал аналогичный показатель пациентов с ДКВ ($p < 0,05$). Достоверные изменения количества IL-6 в виде повышения его концентрации затрагивало только пациентов с СКВ по сравнению с аналогичными показателями больных ДКВ и здоровых лиц. Сходные данные получены при анализе содержания TNF- α – существенное увеличение уровня только при СКВ ($p < 0,05$).

Уровни провоспалительных цитокинов, циркулирующих иммунных комплексов, С-реактивного белка и антител к ДНК у больных дискоидной и системной красной волчанкой, Me (Q_{25} – Q_{75})

Показатели	Контроль (n = 33)	Больные с ДКВ (n = 34)	Больные с СКВ (n = 67)
IL-1 β , пкг/мл	5,45 (0,00–17,4)	50,1 (24,82–79,97)*	97,1 (39,8–129,69)* **
IL-6, пкг/мл	4,45 (0,00–5,87)	4,5 (2,5–5,3)	15,1 (0,0–35,52)* **
TNF- α , пкг/мл	1,71 (0,00–8,45)	2,45 (0,00–6,2)	45,68 (3,63–136,84)* **
ЦИК, у. е.	41 (35–46)	55,5 (44–78)*	55,0 (40,0–81,0)*
СРБ, мг/дл	2,5 (0,4–7,0)	2,0 (0,4–8,0)	15,0 (3,1–31,0)* **
аДНК, МЕ/мл	80 (54,16–124,56)	75,1 (61,3–136,6)	130,1 (80,0–450,0)* **

Примечание. Статистическая значимость различий ($p < 0,05$): * – по сравнению с группой контроля, ** – между группами больных с ДКВ и СКВ.

Достоверное увеличение содержания ЦИК было выявлено как при СКВ, так и при ДКВ по сравнению с данными группы контроля; различия между показателями в обеих группах пациентов не установлено ($p > 0,05$). Продемонстрировано существенное увеличение уровня СРБ и аДНК у больных СКВ по сравнению с аналогичными данные пациентов с ДКВ и здоровых лиц ($p < 0,05$).

Результаты исследования уровней провоспалительных цитокинов, ЦИК, СРБ и антител к ДНК у больных различными стадиями ДКВ представлены в таблице 17. Уровень IL-1 β в сыворотке крови был значимо повышен на всех стадиях ДКВ по отношению к контролю ($p < 0,05$), однако статистически достоверная разница в показателях между группами отсутствовала ($p > 0,05$).

Содержание сывороточного IL-6 у пациентов всех групп достоверно не отличалось от показателей здоровых лиц, а также при сравнении результатов между группами больных ($p > 0,05$).

Количество TNF- α в сыворотке крови у всех обследованных не отличалось от показателей лиц контрольной группы ($p > 0,05$), при отсутствии статистически достоверных различий этого показателя на разных стадиях болезни ($p > 0,05$). Сходные результаты получены при исследовании уровня СРБ: отсутствие его изменений у пациентов всех групп по сравнению с контролем ($p > 0,05$), а также отсутствие достоверных различий в содержании СРБ у больных с разными стадиями ДКВ ($p > 0,05$).

Таблица 17

Уровни провоспалительных цитокинов, циркулирующих иммунных комплексов, С-реактивного белка и антител к ДНК у больных различными стадиями дискоидной красной волчанки Me (Q_{25} – Q_{75})

Показатели	Стадии ДКВ			Контроль (n = 33)
	эритематозная (n = 6)	гиперкератозно- инфильтративная (n = 14)	атрофическая (n = 14)	
IL-1 β , пкг/мл	69,8 (45,2–144,4)*	45,3 (22,6–116,6)*	48,2 (24,2–96,4)* **	5,45 (0,00–17,4)
IL-6, пкг/мл	4,9 (0,0–9,8)	3,3 (1,5–4,3)	3,5 (2,5–5,3)	4,45 (0,00–5,87)
TNF- α , пкг/мл	2,1 (0,0–6,5)	2,7 (0,1–7,2)	1,9 (0,00–8,6)	1,71 (0,00–8,45)
ЦИК, у. е.	62 (25–96)*	54 (13–82)*	58 (44–88)*	41 (35–46)
СРБ, мг/дл	2,15 (0,6–8,2)	1,8 (0,1–6,2)	2,4 (0,2–9,0)	2,5 (0,4–7,0)
аДНК, МЕ/мл	72 (12,6–64,5)	75,6 (8,2–97,6)	75,1 (11,3–97,6)	80 (54,16–124,56)

Примечание. Статистическая значимость различий ($p < 0,05$): * – по сравнению с группой контроля, ** – между показателями пациентов с эритематозной и атрофической формами.

Уровень ЦИК у пациентов всех групп был значимо выше, чем у здоровых лиц, однако разница по этому показателю в группах больных с различными стадиями патологического процесса отсутствовала ($p > 0,05$).

Содержание антител к ДНК при ДКВ во всех группах пациентов не отличалось от показателей здоровых лиц ($p > 0,05$).

Анализ уровней провоспалительных цитокинов, ЦИК, СРБ и антител к ДНК у больных СКВ в зависимости от активности процесса (табл. 18) показал статистически значимое увеличение содержания IL-1 β и аДНК ($p < 0,05$). Уровни IL-6 и TNF- α у больных с минимальной и умеренной степенями активности СКВ не имели статистически достоверных отличий ($p > 0,05$).

Таблица 18

Уровни провоспалительных цитокинов, циркулирующих иммунных комплексов, С-реактивного белка и антител к ДНК у больных системной красной волчанкой в зависимости от активности процесса, Ме (Q₂₅-Q₇₅)

Показатели	Активность СКВ	
	АI (n = 33)	АII (n = 34)
IL-1 β , пкг/мл	52,79 (39,80–89,69)	62,79 (46,36–89,10)*
IL-6, пкг/мл	4,1 (0,00–5,52)	3,15 (0,00–5,52)
TNF- α , пкг/мл	45,68 (0,00–117,67)	40,3 (13,20–144,35)
ЦИК, у. е.	55,0 (45,0–77,0)	55,5 (40,1–81,0)
СРБ, мг/дл	6,4 (3,0–8,3)	4,9 (3,0–11,0)
аДНК, МЕ/мл	120,0 (80,0–420,0)	331,0 (50,1–450,0)*

Примечание. Статистическая значимость различий: * – между группами больных с различной степенью активности СКВ ($p < 0,05$).

Результаты исследования уровней провоспалительных цитокинов, ЦИК и антител к ДНК у больных СКВ в зависимости от клинических проявлений заболевания отражены в таблице 19. Ее данные свидетельствуют о существенном повышении содержания IL-1 β и IL-6 у больных с кожным синдромом и синдромом Рейно, IL-6 и TNF- α – с синдромом Рейно.

Уровень ЦИК был снижен у больных СКВ с поражениями суставов, почек и при наличии синдрома Рейно по сравнению с аналогичными показателями тех пациентов, у которых упомянутые клинические проявления отсутствовали ($p < 0,05$). Наличие почечного синдрома характеризовалось снижением содержания ЦИК ($p < 0,05$).

Таблица 19

Уровни провоспалительных цитокинов, циркулирующих иммунных комплексов, С-реактивного белка и антител к ДНК у больных системной красной волчанкой в зависимости от клинических проявлений заболевания, Ме (Q₂₅–Q₇₅)

Показатели	Поражения				
	кожи $n = \frac{53}{14}$	суставов $n = \frac{55}{12}$	сосудов $n = \frac{25}{42}$	почек $n = \frac{16}{51}$	синдром Рейно $n = \frac{12}{55}$
IL-1 β , пкг/мл	<u>72,87 (56,36–148,15)*</u> 52,79 (39,10–66,36)	<u>65,6 (48,70–132,24)</u> 64,7 (52,80–92,27)	<u>72,87 (53,40–119,62)</u> 52,85 (24,50–66,36)	<u>63,6 (49,35–111,50)</u> 71,2 (24,6–111,7)	<u>105,9 (65,8–346,1)*</u> 58,17 (27,37–88,44)
IL-6, пкг/мл	<u>5,17 (0,0–22,33)*</u> 3,82 (0,0–6,4)	<u>4,29 (0,00–8,56)</u> 6,4 (1,90–22,33)	<u>5,49 (3,96–7,16)</u> 4,92 (0,0–26,42)	<u>4,2 (0,0–25,3)</u> 5,3 (0,0–9,15)	<u>5,96 (3,15–26,42)*</u> 3,75 (0,0–19,07)
TNF- α , пкг/мл	<u>60,47 (0,00–136,84)</u> 40,3 (0,00–60,47)	<u>44,5 (0,00–128,28)</u> 60,47 (13,20–159,72)	<u>59,7 (0,00–136,84)</u> 42,4 (0,00–126,73)	<u>50,1 (0,00–126,73)</u> 70,54 (3,63–150,72)	<u>126,8 (36,20–148,45)*</u> 42,33 (0,00–115,58)
ЦИК, у. е.	<u>68,0 (58,0–78,0)</u> 65,5 (54,0–80,0)	<u>66,0 (58,0–77,0)*</u> 76,0 (58,0–82,0)	<u>68,0 (58,0–78,0)</u> 68,0 (65,0–78,0)	<u>54,0 (52,1–58,0)*</u> 66,0 (56,0–76,0)	<u>60,0 (50,0–66,5)*</u> 73,0 (62,0–78,0)
аДНК, МЕ/мл	<u>242 (110–410)</u> 240 (102–382)	<u>282 (132–422)</u> 276 (122–401)	<u>362 (202–504)*</u> 162 (92–296)	<u>182 (62–356)*</u> 268 (188–398)	<u>268 (142–475)*</u> 288 (108–465)

Примечание. В числителе указано наличие поражений, в знаменателе – отсутствие. Статистическая значимость различий: * – между числителем и знаменателем ($p < 0,05$).

Анализ уровня ЦИК, аДНК и цитокинов в сыворотке крови больных СКВ, получавших и не получавших поддерживающую терапию ГКС (табл. 20), показал, что в обеих группах показатели были достоверно выше, чем в группе контроля. В то же время концентрация ЦИК, СРБ, аДНК и всех исследованных цитокинов у больных, не получавших ГКС, была достоверно выше ($p < 0,05$), чем у пациентов, получавших поддерживающие дозы ГКС.

Таблица 20

Уровни интерлейкинов, циркулирующих иммунных комплексов, С-реактивного белка и антител к ДНК у больных системной красной волчанкой, получавших и не получавших поддерживающую терапию глюкокортикостероидами, Ме (Q_{25} – Q_{75})

Показатели	Обследуемые группы		
	Контроль (n = 33)	ГКС- (n = 11)	ГКС+ (n = 56)
IL-1 β , пкг/мл	5,45 (0,00–17,4)	88,8 (68,6–122,2)* **	39,9 (29,8–66,6)*
IL-6, пкг/мл	4,45 (0,00–5,87)	18,1 (0,0–16,52)* **	6,2 (0,0–10,2)*
TNF- α , пкг/мл	1,71 (0,00–8,45)	42,6 (12,4–102,4)**	22,8 (0,0–88,4)*
ЦИК, у. е.	41 (35–46)	66,6 (38,1–98,0)* **	42,0 (42,0–66,0)*
СРБ, мг/дл	2,5 (0,4–7,0)	14,2 (2,2–16,0)* **	7,2 (3,2–9,4)*
аДНК, МЕ/мл	80 (54,16–124,56)	322,0 (82,1–462,0)* **	140,0 (68,4–412,2)*

Примечание. Статистическая значимость различий ($p < 0,05$): * – по сравнению с группой контроля, ** – между группами больных, получавших и не получавших ГКС.

Таким образом, у больных ДКВ и СКВ констатировано увеличение содержания сывороточного IL-1 β , более значимое при СКВ, тогда как повышенные концентрации IL-6 и TNF- α отмечалось только при СКВ.

Продемонстрировано повышение содержания IL-6 и IL-1 β у пациентов с кожным синдромом и синдромом Рейно, IL-6 и TNF- α – с синдромом Рейно. Уровень ЦИК снижен при СКВ у лиц с поражениями суставов, почек и синдромом Рейно. Повышение уровня TNF- α отмечалось только у пациентов с

синдромом Рейно. Достоверное увеличение содержания ЦИК выявлено как при СКВ, так и при ДКВ, антител к ДНК – только при СКВ. Показано увеличение содержания IL-1 β и антител к ДНК в зависимости от активности процесса. Поражения почек наблюдались на фоне существенного повышения количества CD95⁺ нейтрофилов; поражения почек, сосудов, синдром Рейно – на фоне уменьшения числа ДНК нейтрофилов.

Концентрация ЦИК, СРБ, аДНК и всех исследованных цитокинов у больных, не получавших терапии ГКС, была выше, чем у пациентов, получавших ее в поддерживающих дозах.

3.4. Сравнительная характеристика маркеров апоптоза циркулирующих нейтрофилов и иммунологических показателей при дискоидной и системной красной волчанке

Результаты сравнения изменений маркеров апоптоза циркулирующих нейтрофилов и исследованных иммунологических показателей при ДКВ и СКВ представлены в таблице 21. Уровень маркера апоптоза по данным исследования количества CD95⁺ антигена нейтрофилов был увеличен как у больных ДКВ, так и СКВ, определяя сходство обоих заболеваний по данному показателю. В то же время число ДНК нейтрофилов было снижено исключительно при СКВ, определяя отличие этого заболевания от ДКВ по описываемому критерию.

Кислородзависимый метаболизм нейтрофилов характеризовался и при ДКВ, и при СКВ идентичностью в виде увеличения данных спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов на фоне снижения показателей индуцированной хемилюминесценции и, соответственно, функционального резерва фагоцитов.

Спонтанная активность лизосом была снижена как при ДКВ, так и при СКВ, тогда как активированный тест и коэффициент активации клеток не претерпевали существенных изменений, что определяло сходство обоих заболеваний только по одному тесту – спонтанной активности лизосом.

Таблица 21

Сравнительная характеристика маркеров апоптоза
циркулирующих нейтрофилов и иммунологических показателей
при дискоидной и системной красной волчанке

Иммунологические показатели	ДКВ	СКВ	Сходство ДКВ и СКВ	Различия СКВ от ДКВ
Маркеры апоптоза				
CD95 ⁺ Нф	↑	↑	↑	нет
ДНК Нф	N	↓	нет	↓
Кислородзависимый метаболизм фагоцитов				
сХЛ Нф	↑	↑	↑	нет
иХЛ Нф	↓	↓	↓	нет
КА ХЛ Нф	↓	↓	↓	нет
Кислороднезависимый метаболизм фагоцитов (лизосомальный тест)				
сЛТ Нф	↓	↓	↓	нет
аЛТ Нф	N	N	нет	нет
КА ЛТ Нф	N	N	нет	нет
ЦИК, цитокины				
аДНК	N	↑	нет	↑
ЦИК	↑	↑	↑	нет
IL-1 β	↑	↑	↑	нет
IL-6	N	↑	нет	↑
TNF- α	N	↑	нет	↑

Сходство ДКВ и СКВ заключалось также в повышении уровня ЦИК и IL-1 β , а разница – в увеличении количества антител к ДНК, уровней IL-6 и TNF- α при СКВ.

Таким образом, у больных СКВ и ДКВ констатированы выраженные изменения маркеров апоптоза нейтрофилов, их метаболических функций, уровней провоспалительных цитокинов, ЦИК и антител к ДНК. Продемонстрированы различия СКВ и ДКВ по четырем показателям в виде повышения при СКВ уровней антител к ДНК, IL-6, TNF- α на фоне снижения количества ДНК нейтрофилов. Сходство иммунологических показателей при ДКВ и СКВ встречалось чаще (7 показателей), выражаясь увеличением уровней IL-1 β , ЦИК, спонтанной продукцией активных форм кислорода нейтрофилами, экспрессии CD95⁺ антигена на нейтрофилах, снижением показателей резервных функций нейтрофилов (по данным теста индуцированной хемилюминисценции и коэффициента активации, а также снижением кислороднезависимых функций, оцениваемых по показателю спонтанного лизосомального теста).

Глава 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ МЕЖДУ ПОКАЗАТЕЛЯМИ АПОПТОЗА, МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ НЕЙТРОФИЛОВ И УРОВНЕМ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ПРИ ДИСКОИДНОЙ И СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ

4.1. Взаимосвязи апоптоза, метаболизма нейтрофилов и уровня провоспалительных цитокинов у больных дискоидной и системной красной волчанкой

В настоящем разделе представлены результаты изучения взаимосвязей по данным корреляционного анализа как между показателями апоптоза нейтрофилов (CD95⁺, ДНК) и полученными иммунологическими данными (метаболические функции нейтрофилов, уровень аДНК, ЦИК, провоспалительных цитокинов), так и между всеми показателями иммунологических исследований. На рисунках 2–4 представлены достоверные данные корреляционных тестов ($p < 0,05$).

Исследование корреляционных взаимосвязей между иммунологическими показателями у больных ДКВ показали наличие слабой обратной взаимосвязи между количеством CD95⁺ нейтрофилов и результатами спонтанного лизосомального теста ($r = -0,29$). Констатировано, что умеренная прямая связь спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов прямо коррелировала с содержанием IL-1 β , сильная связь – с уровнем ЦИК, IL-6, TNF- α ($p < 0,05$) (рис. 2).

Корреляционные связи коэффициента активации нейтрофилов в хемилюминесцентом тесте характеризовались обратной слабой связью с содержанием ЦИК и IL-6, прямыми слабыми – с уровнем TNF- α ($p < 0,05$) (рис. 3).

Продемонстрирована обратная связь слабой степени содержания TNF- α с показателями активированного лизосомального теста и прямая – с коэффициентом активации лизосом ($p < 0,05$) (рис. 4).

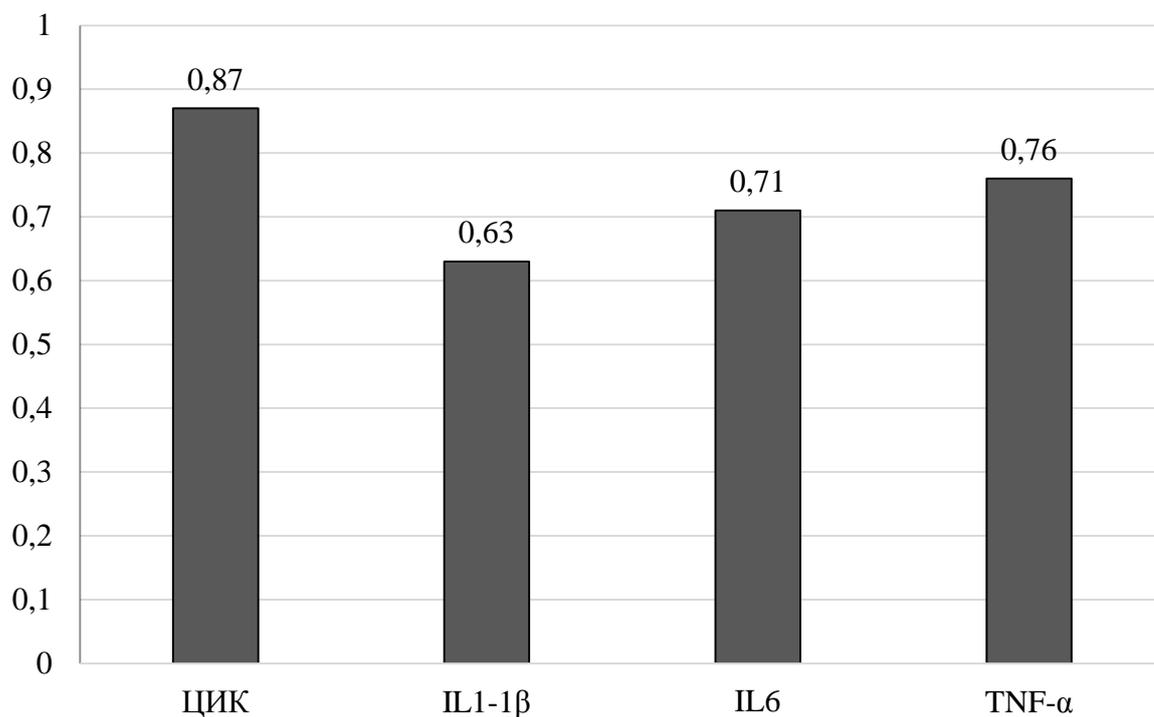
**Коэффициент
корреляции**

Рис. 2. Взаимосвязи спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов с иммунологическими показателями при дискоидной красной волчанке

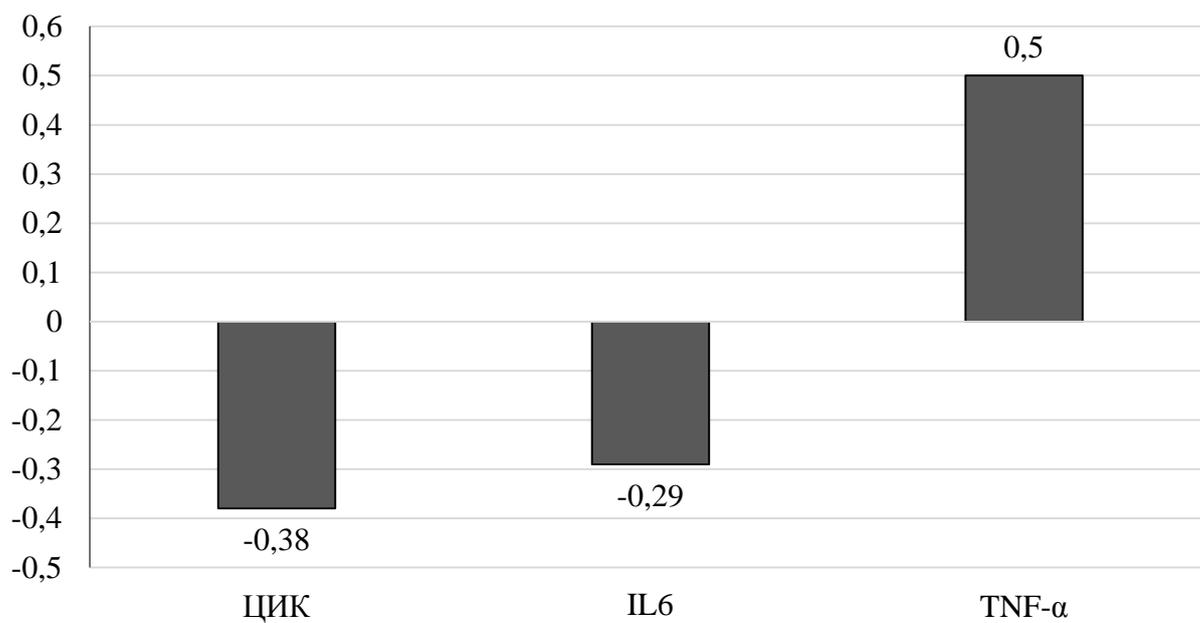
**Коэффициент
корреляции**

Рис. 3. Взаимосвязи между коэффициентом активации хемилюминесценции нейтрофилов и иммунологическими показателями при дискоидной красной волчанке

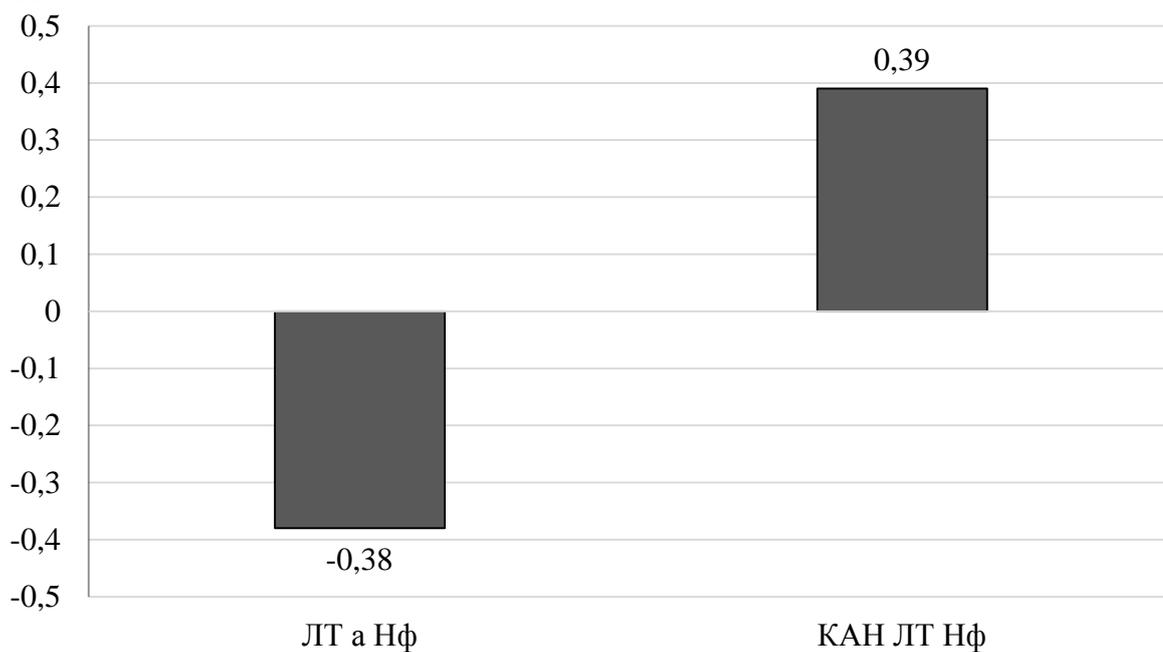
**Коэффициент
корреляции**

Рис. 4. Взаимосвязи TNF- α и лизосомального теста при дискоидной красной волчанке

Взаимосвязи уровня IL-6 с другими иммунологическими показателями при ДКВ характеризовались прямыми умеренными корреляциями с содержанием ЦИК, IL-1 β и TNF- α ($p < 0,05$) (рис. 5).

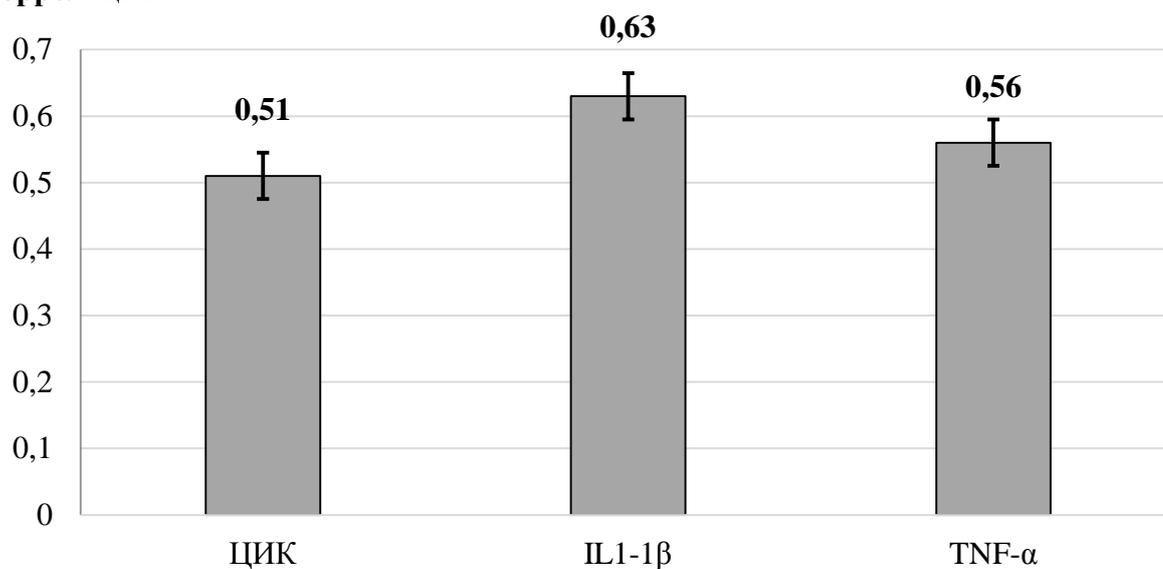
**Коэффициент
корреляции**

Рис. 5. Взаимосвязи IL6 с иммунологическими показателями при дискоидной красной волчанке

Анализ корреляционных взаимосвязей между исследованными иммунологическими показателями у больных СКВ указал на наличие обратной связи между содержанием CD95⁺ и данными активированного лизосомального теста ($p < 0,05$).

Выявлены обратные взаимосвязи слабой степени между количеством ДНК нейтрофилов и показателями спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов, уровнем IL-1 β , IL-6, активностью лизосом клеток в спонтанном и индуцированным тестах ($p < 0,05$) (рис. 6).

Коэффициент корреляции

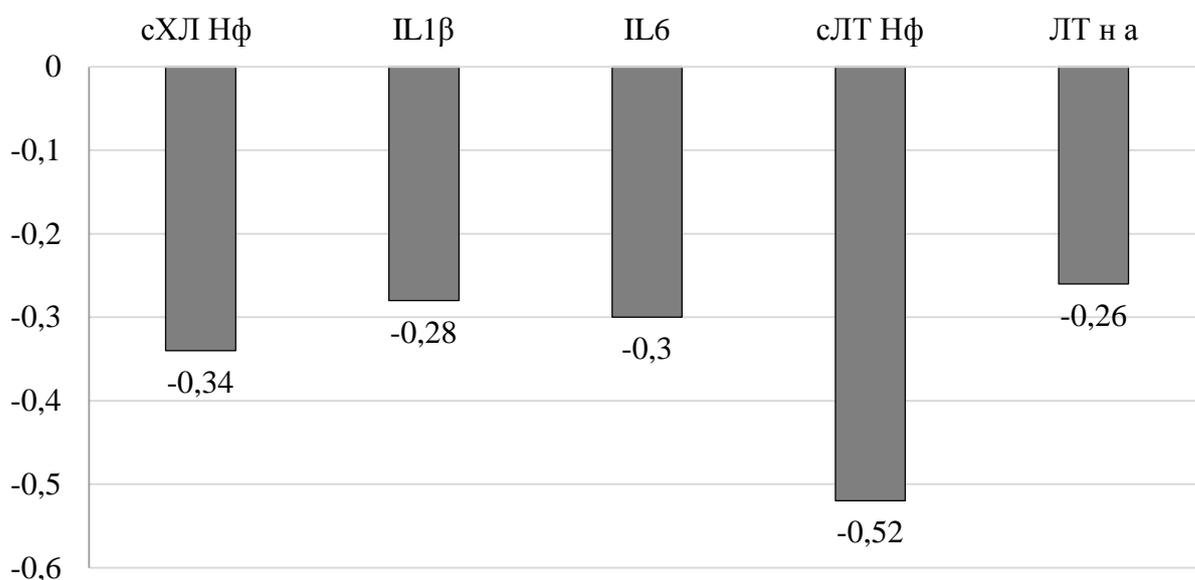


Рис. 6. Взаимосвязи между ДНК нейтрофилов и иммунологическими показателями при системной красной волчанке

Корреляционные связи сХЛ нейтрофилов с иммунологическими показателями при СКВ (рис. 7) характеризовались обратными слабыми связями с количеством антител к ДНК, уровнем ЦИК, цитокинов IL-1 β , IL-6, TNF- α , данными лизосомальных тестов ($p < 0,05$).

Спонтанная лизосомальная активность нейтрофилов прямо коррелировала в умеренной степени с уровнем TNF- α и количеством ДНК клеток ($p < 0,05$) (рис. 8).

**Коэффициент
корреляции**

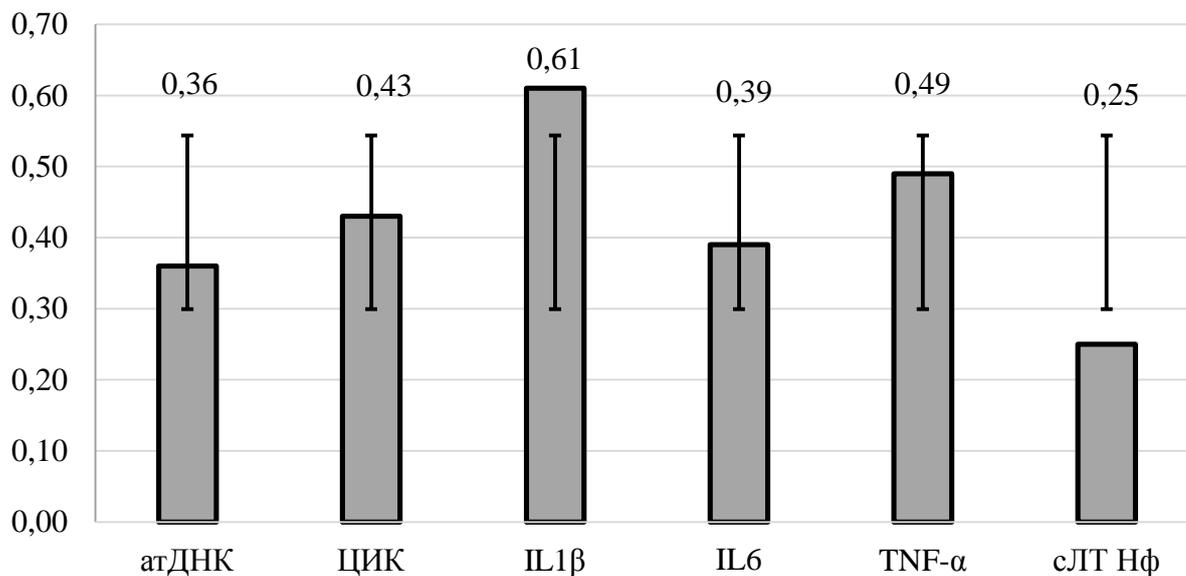


Рис. 7. Корреляционные связи показателей спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов с иммунологическими показателями при системной красной волчанке

**Коэффициент
корреляции**

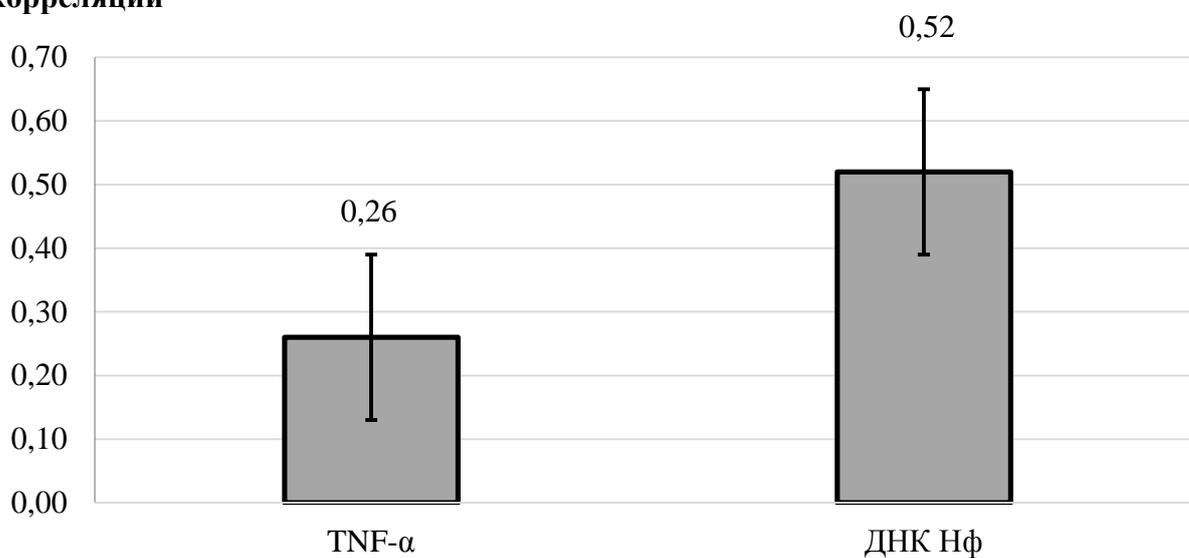


Рис. 8. Корреляционные связи показателей спонтанного лизосомального теста нейтрофилов с иммунологическими показателями при системной красной волчанке

Выявлены слабые прямые корреляционные взаимосвязи уровня IL-1 β с показателями спонтанной хемилюминесценцией нейтрофилов, количеством антител к ДНК, ДНК клеток, умеренные – с уровнем ЦИК и IL-6, сильные – с содержанием TNF- α ($p < 0,05$) (рис. 9).

**Коэффициент
корреляции**

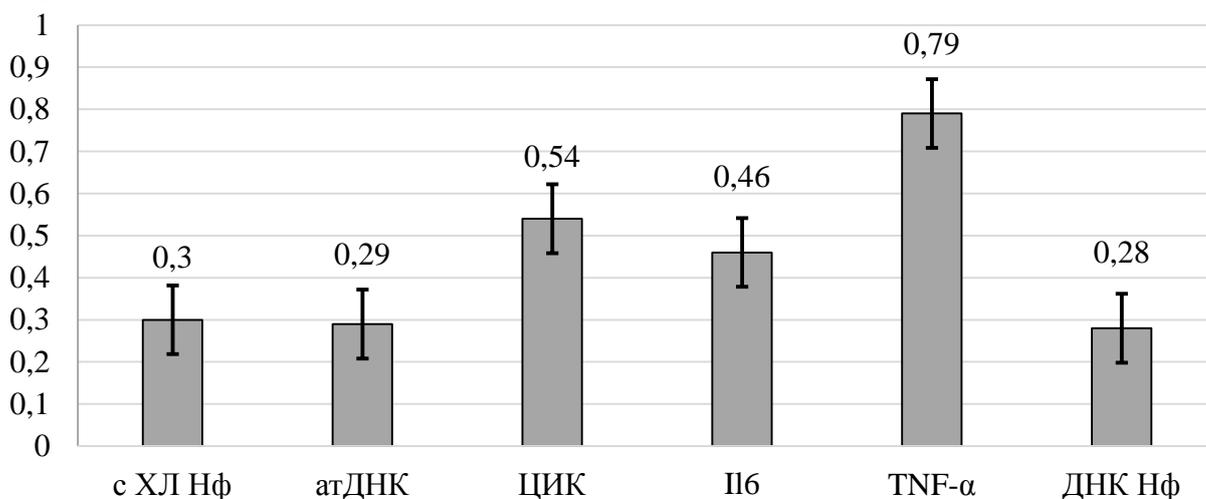


Рис. 9. Взаимосвязи IL1β с иммунологическими показателями при системной красной волчанке

При СКВ продемонстрированы слабые прямые корреляции уровня TNF-α с данными спонтанного лизосомального теста и индуцированной хемилюминесценцией нейтрофилов, умеренные – с показателями спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов и уровнем ЦИК, сильные – с содержанием IL-1β ($p < 0,05$) (рис. 10).

**Коэффициент
корреляции**

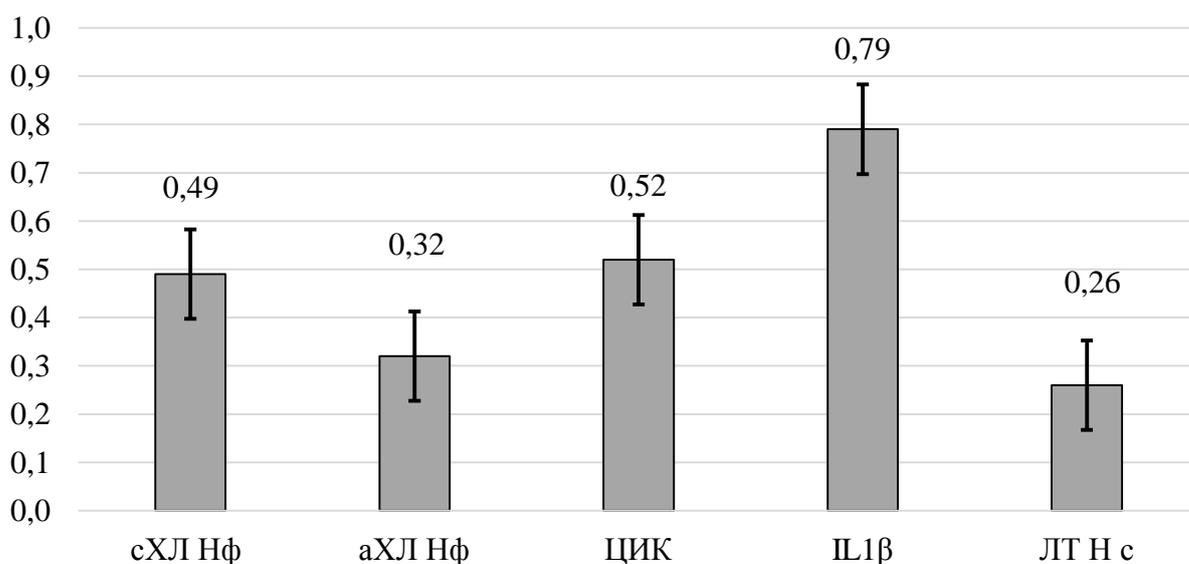


Рис. 10. Взаимосвязи TNF-α с иммунологическими показателями при системной красной волчанке

Таким образом, у больных красной волчанкой установлено наличие различных взаимосвязей маркеров апоптоза нейтрофилов, показателей кислород-независимых и кислородзависимых функций фагоцитов и уровня провоспалительных цитокинов, характер которых имеет черты сходства и отличий при кожных и системных формах заболевания.

4.2. Сравнительная характеристика взаимосвязей апоптоза, метаболизма нейтрофилов и уровня провоспалительных цитокинов у больных дискоидной и системной красной волчанкой

Сводные данные анализа корреляционных взаимосвязей при ДКВ и СКВ, их сходства и различия представлены в таблице 22.

Результаты изучения взаимосвязей между всеми полученными иммунологическими данными позволили установить, что у больных ДКВ имелась обратная взаимосвязь между количеством CD95⁺ нейтрофилов и показателями спонтанного лизосомального теста ($r = -0,29$).

Показатели спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов при ДКВ прямо коррелировали с уровнем ЦИК, IL-1 β , IL-6, TNF- α . Корреляционные связи коэффициента активации нейтрофилов у больных ДКВ в хемилюминесцентом тесте характеризовались обратными показателями с содержанием ЦИК и IL-6, прямыми – с TNF- α . Продемонстрирована обратная связь уровня TNF- α с данными активированного лизосомального теста, прямая – с коэффициентом активации лизосом, а IL-6 – прямыми корреляциями с содержанием ЦИК, IL-1 β и TNF- α .

У больных СКВ установлена обратная связь между уровнем CD95⁺ и данными активированного лизосомального теста, прямые взаимосвязи между количеством ДНК нейтрофилов и показателями спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов, уровнем IL-1 β , IL-6, активностью лизосом клеток в спонтанном и индуцированном тестах.

Таблица 22

Маркеры апоптоза циркулирующих нейтрофилов и их корреляционные связи с окислительным стрессом клеток, лизосомальной активностью, содержанием циркулирующих иммунных комплексов, антител к ДНК и цитокинов при дискоидной и системной красной волчанке

Показатели	ДКВ	СКВ	Сходство ДКВ и СКВ	Различия ДКВ и СКВ
Маркеры апоптоза CD95 ⁺ ДНК Нф	(-) CD95 ⁺ – сЛТ Нф	(-) ДНК Нф – сХЛ Нф, IL-1β, IL-6, аЛТ Нф	нет	ДКВ (-)CD95 ⁺ – сЛТ Нф СКВ (-) ДНК Нф – сХЛ Нф, IL-1β, IL-6, аЛТ Нф
Кислородзависимый метаболизм фагоцитов (хемилюминесцентный тест)	(+) сХЛ Нф – ЦИК, IL-1β, IL-6, TNF-α (-) иХЛ Нф – ЦИК, IL-6 (+) иХЛ Нф – TNF-α	(+) сХЛ Нф – аДНК, ЦИК, IL-1β, IL-6, TNF-α, сЛТ Нф	(+) сХЛ Нф – ЦИК, IL-1β, IL-6, TNF-α	ДКВ (-) иХЛ Нф – ЦИК, IL-6 (+) иХЛ Нф – TNF-α СКВ (+) сХЛ Нф – аДНК, сЛТ Нф
Кислороднезависимый метаболизм фагоцитов (лизосомальный тест)	(-) сЛТ Нф – TNF-α (+) КАН ЛТ Нф – TNF-α	(+) сЛТ Нф – ДНК Нф, TNF-α	нет	ДКВ (+) КАН ЛТ Нф – TNF-α СКВ (+) сЛТ Нф -ДНК Нф, TNF-α
ЦИК, цитокины	–	(+) IL-1β – сХЛ Нф, аДНК, ЦИК, IL-6, TNF-α, ДНК Нф (+) TNF-α – сХЛ Нф, иХЛ Нф, ЦИК, IL-1β, сЛТ Нф	(+) IL-1β – IL-6 (-)TNF-α – сЛТ Нф	ДКВ (+) IL-6 – ЦИК, TNF-α СКВ (+) IL-1β - сХЛ Нф, аДНК, ЦИК, TNF-α, ДНК Нф (+) TNF-α – сХЛ Нф, иХЛ Нф, ЦИК, IL-1β, сЛТ Нф

Корреляционные связи сХЛ нейтрофилов с иммунологическими показателями при СКВ характеризовались прямыми связями с уровнем антител к ДНК, ЦИК, цитокинов IL-1 β , IL-6, TNF- α , данными лизосомальных тестов. В то же время спонтанная лизосомальная активность нейтрофилов прямо коррелировала с уровнем TNF- α и количеством ДНК клеток. Отмечены слабые прямые корреляционные взаимосвязи содержания IL-1 β с показателями спонтанной хемилюминесценцией нейтрофилов, количеством антител к ДНК, ДНК клеток, умеренные – с уровнем ЦИК и IL-6, сильные – с TNF- α . Продемонстрированы слабые прямые корреляции содержания TNF- α с показателями спонтанного лизосомального теста и индуцированной хемилюминесценцией нейтрофилов, умеренные – с данными спонтанной хемилюминесценцией нейтрофилов, при СКВ и ЦИК, сильные – с уровнем IL-1 β .

Анализируя результаты изучения корреляционных взаимосвязей при ДКВ и СКВ с точки зрения их сходства и различий следует отметить, что только при ДКВ наблюдалась обратная корреляция между содержанием CD95⁺ нейтрофилов и продукцией активных форм кислорода в спонтанном хемилюминесцентном тесте. При СКВ были выявлены иные взаимосвязи – прямая связь количества ДНК нейтрофилов с окислительным стрессом нейтрофилов в тесте спонтанной хемилюминесценции, уровнем IL-1 β , IL-6 и с активацией лизосом в активированном тесте. Таким образом, принципиально сходства взаимосвязей маркеров апоптоза нейтрофилов между ДКВ и СКВ отмечено не было, тогда как различия были весьма существенными.

Кислородзависимый метаболизм фагоцитов при ДКВ характеризовался наличием прямых связей показателей спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов с уровнем ЦИК, IL-1 β , IL-6, TNF- α , а индуцированной хемилюминесценции – с содержанием TNF- α , а также обратных – индуцированной хемилюминесценции с уровнем ЦИК и IL-6.

У больных СКВ спонтанная хемилюминесценция нейтрофилов прямо коррелировала с количеством ДНК клеток, антител к ДНК, уровнем ЦИК, IL-6 и данными спонтанного лизосомального теста нейтрофилов. Сходство взаи-

мосвязей показателей окислительного стресса нейтрофилов при ДКВ и СКВ заключалось только в существовании прямой связи между продукцией активных форм кислорода клетками с ЦИК и уровнем ИЛ-6.

Различия в связях показателей кислородзависимого метаболизма нейтрофилов с другими полученными иммунологическими показателями при ДКВ заключались в том, что были обнаружены прямые корреляции показателей спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов с уровнем ИЛ-1 β , обратные – индуцированной хемилюминесценции с содержанием ЦИК и ИЛ-6. Иные связи установлены у больных СКВ. Так, спонтанная хемилюминесценция нейтрофилов прямо коррелировала с количеством ДНК клеток, антител к ДНК, данными спонтанного лизосомального теста.

При исследовании взаимосвязей кислороднезависимого метаболизма нейтрофилов с иными иммунологическими показателями сходства ДКВ и СКВ обнаружено не было. Различия констатированы по двум взаимосвязям: по прямой корреляции коэффициента активации клеток в лизосомальном тесте с уровнем TNF- α у больных ДКВ и данных спонтанного лизосомального теста нейтрофилов с количеством ДНК Нф, уровнем TNF- α у больных СКВ.

Что касается сходства взаимосвязей уровня ЦИК и цитокинов с прочими лабораторными показателями, то они заключались в существовании прямых связей между уровнями ИЛ-1 β и ИЛ-6 и обратных – содержания TNF- α с данными спонтанного лизосомального теста нейтрофилов. Различия при ДКВ выражались в наличии прямой связи уровней ИЛ-6 и ЦИК, ИЛ-1 β , TNF- α , а при СКВ – прямой связи содержания ИЛ-1 β и показателей спонтанной хемилюминесценцией нейтрофилов, антителами к ДНК, ЦИК, TNF- α , ДНК Нф, а также TNF- α – с данными спонтанной и индуцированной хемилюминесценцией нейтрофилов, ЦИК, ИЛ-1 β , спонтанным лизосомальным тестом нейтрофилов.

Таким образом, как при СКВ, так и при ДКВ имеются многочисленные и разнообразные взаимосвязи маркеров апоптоза нейтрофилов, их метаболических функций, а также содержания провоспалительных цитокинов. Конста-

тированы немногочисленные черты сходства указанных корреляций у больных ДКВ и СКВ, преимущественно связанные с кислородзависимым метаболизмом нейтрофилов и содержанием провоспалительных цитокинов на фоне значительного преобладания разнообразных различий в корреляционных связях при этих заболеваниях.

В качестве иллюстрации, отражающей исследованные иммунопатологические нарушения при ДКВ, приводим следующий клинический пример:

Б-на В. С., 1944 г. р. (выписка из амбулаторной карты), обратилась на прием 28.01.11 г. с жалобами на поражение кожи в области лица. Больной себя считает 10 последних лет.

При объективном осмотре: общее состояние пациентки удовлетворительное, на коже щек с переходом на спинку носа видны эритематозные пятна с четкими границами, умеренно выраженной инфильтрацией, фолликулярным гиперкератозом и участками атрофии в центре. В легких дыхание везикулярное. АД – 140/80 мм рт. ст. ЧСС – 80 в минуту. Печень и селезенка не пальпируются.

Анализ крови: эритроциты – $3,78 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты – $5,9 \times 10^9$ /л, Нв – 121 г/л, нейтрофилы палочкоядерные – 1%, сегментоядерные – 75%, лимфоциты – 20%, моноциты – 4%, тромбоциты – 190×10^9 /л, СОЭ – 4 мм/ч. LE-клетки не обнаружены. Содержание мочевины – 5,28 ммоль/л, глюкозы – 4,2 ммоль/л; общего белка – 70 г/л, ревматоидного фактора – 0, билирубина – 13,3 мкмоль/л. Общий анализ мочи: удельный вес – 1013; лейкоцитов – 0-1-2 в поле зрения.

Диагноз: «Дискоидная красная волчанка».

Проведено лечение: делагил, никотиновая кислота, аевит, аскорутин, наружно – ГКС мази. В результате терапии состояние пациентки значительно улучшилось: эритематозные очаги стали бледнее, инфильтрация в очагах поражения значительно уменьшилась. Данные специального иммунологического исследования от 28.01.11 г. приведены в таблицах 23–25.

Таблица 23

Содержание антител к ДНК, циркулирующих иммунных комплексов, С-реактивного белка и цитокинов в сыворотке крови больной Б-ной

аДНК, МЕ/мл	ЦИК, у. е.	СРБ, мг/дл	IL-1 β , пкг/мл	IL-6, пкг/мл	TNF- α , пкг/мл
Показатели пациента					
61,3	78	0,4	31,9	5,3	2,45
Показатели нормы					
54,16–124,56	35–46	0,4–7,0	0,0–17,4	0,00–5,87	0,0–8,4

Таблица 24

Показатели лизосомальной активности

и кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у больной Б-ной

сЛТ Нф	аЛТ Нф	ЛТ Нф КА	сХЛ Лм Нф, $\times 10^4$ имп/мин	иХЛ Лм Нф, $\times 10^4$ имп/мин	КА ХЛ Лм Нф
Показатели пациента					
3,9	4,1	1,05	3,1	2,0	0,64
Показатели нормы					
4,02–6,20	4,36–6,00	0,82–1,11	1,6–2,2	2,2–8,2	1,0–3,0

Таблица 25

Маркеры апоптоза и ДНК нейтрофилов у больной Б-ной

CD95 ⁺ , %	ДНК, mV
Показатели пациента	
62	6,9
Показатели нормы	
34-45	6,2-9,6

У данной больной выявлено повышение содержания ЦИК, IL-1 β , повышение количества CD95⁺ нейтрофилов, снижение показателей спонтанного теста при отсутствии отклонений результатов активированного лизосомального теста и коэффициента активации; изменение кислородзависимого метаболизма нейтрофилов в виде повышения показателя спонтанной люминолзависимости

мой хемиллюминисценции на фоне снижения данных индуцированной хемиллюминисценции и коэффициента активации.

В качестве иллюстрации иммунопатологических нарушений при СКВ приводим следующее клиническое наблюдение.

А-ва М. Н., 1972 г.р. (выписка из истории болезни № 923), находилась на лечении в терапевтическом отделении городской клинической больницы № 10 с 18.01.11 по 08.02.11 г. с диагнозом: «Системная красная волчанка, хроническое течение, активность 2. Синдром Рейно. Ливедоваскулит. Полиартралгии». При поступлении предъявляет жалобы на повышенную утомляемость, слабость, периодически возникающие боли в суставах верхних конечностей, высыпания на коже лица. Больной себя считает в течение 5 лет.

Объективно: состояние удовлетворительное; на коже лица, преимущественно в области щек с переходом на спинку носа, наблюдается симметрично расположенная отечная эритема без четких границ. Отмечается сосудистое ливедо на коже нижних конечностей, акроцианоз кистей. Дыхание везикулярное, АД – 130/75 мм рт. ст. ЧСС – 75 в минуту. Печень – по краю реберной дуги. Селезенка не пальпируется.

Анализ крови: эритроциты – $2,98 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты – $8,4 \times 10^9$ /л, Нв – 118 г/л, базофилы – 0%, эозинофилы – 0%, нейтрофилы: сегментоядерные – 76%, лимфоциты – 21%, моноциты – 3%, тромбоциты – 164×10^9 /л, СОЭ – 20 мм/ч. Содержание мочевины – 7,8 ммоль/л, глюкозы – 4,1 ммоль/л; белка – 82 г/л, ревматоидного фактора – 30, билирубина – 15,2 мкмоль/л. Общий анализ мочи: удельный вес – 1023; содержание белка – 0, лейкоцитов – 2-3 в поле зрения. Активность заболевания, согласно шкале SLEDAI – 9 баллов, ECLAM – 7 баллов. Иммунологические показатели (от 18.01.11 г.) представлены в таблицах 26–28.

Результаты иммунологического исследования пациентки указывают на повышение уровней IL-1 β , IL-6, TNF- α , СРБ, ЦИК, антител к ДНК, показателей кислородзависимого метаболизма нейтрофилов, повышение уровня CD95⁺ нейтрофилов на фоне уменьшения содержания в них ДНК.

Таблица 26

Содержание антител к ДНК, циркулирующих иммунных комплексов, С-реактивного белка и цитокинов в сыворотке крови больной А-вой

аДНК, МЕ/мл	ЦИК, у. е.	СРБ, мг/дл	IL-1 β , пкг/мл	IL-6, пкг/мл	TNF- α , пкг/мл
Показатели пациента					
459,7	91	10	110,6	18,1	43,6
Показатели нормы					
54,16–124,56	35–46	0,4–7,0	0,0–17,4	0,0–5,87	0,0–8,4

Таблица 27

Показатели лизосомальной активности и кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у больной А-вой

ЛТ Нф с	ЛТ Нф а	ЛТ Нф КА	сХЛ Лм Нф, $\times 10^4$ имп/мин	иХЛ Лм Нф, $\times 10^4$ имп/мин	КА ХЛ Лм Нф
Показатели пациента					
4,14	4,6	1,1	10,6	1,59	0,15
Показатели нормы					
4,02–6,2	4,36–6,0	0,82–1,11	1,6–2,2	2,2–8,2	1,0–3,0

Таблица 28

Маркеры апоптоза и ДНК нейтрофилов у больной А-вой

CD95 ⁺ %	ДНК, mV
Показатели пациента	
50	5,9
Показатели нормы	
34–45	6,2–9,6

К моменту обследования больная получала поддерживающую терапию: метипред – 8 мг/сут, делагил – 250 мг/сут.

Проведенное лечение: метилпреднизолон, делагил, аевит, трентал перорально, глюконат кальция внутримышечно, наружно – мазь «Локоид». В результате терапии состояние улучшилось: эритема на коже лица стала бледнее, уменьшились слабость, болезненность в суставах.

Глава 5. МАРКЕРЫ АПОПТОЗА НЕЙТРОФИЛОВ У БОЛЬНЫХ ОГРАНИЧЕННОЙ И СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ

5.1. Уровень CD95⁺ и ДНК нейтрофилов у больных ограниченной и системной склеродермией

В настоящем разделе представлены результаты изучения маркеров апоптоза нейтрофилов по данным определения у больных ОСД и ССД содержания CD95⁺ антигена клеток иммунофлюоресцентным методом, а также интенсивности связывания акридинового оранжевого красителя с ДНК нейтрофилов микроцитометрическим методом. Показатели апоптоза нейтрофилов проанализированы в зависимости от содержания при обоих заболеваниях ЦИК и цитокинов, а также от активности, характера течения и клинических проявлений ССД.

Результаты исследования маркера апоптоза нейтрофилов, представленные в таблице 29, указывают на существенное повышение содержания CD95⁺ клеток не только при ССД, но и при ОСД ($p < 0,05$) по сравнению с аналогичными данными здоровых лиц, однако статистически достоверной разницы в уровне CD95⁺ позитивных нейтрофилов при обоих заболеваниях выявлено не было ($p > 0,05$).

Таблица 29

Маркеры апоптоза и ДНК нейтрофилов
у больных очаговой и системной склеродермией, Ме (Q₂₅–Q₇₅)

Показатели	Контроль (n = 33)	Больные с ОСД (n = 28)	Больные с ССД (n = 22)
CD95 ⁺ %	42 (34–45)	54 (47–59)*	55 (41–58)*
ДНК, mV	8,6 (6,2–9,6)	6,4 (4,59–9,17)	3,89 (3,54–5,45)* **

Примечание. Статистическая значимость различий ($p < 0,05$): * – по сравнению с группой контроля, ** – между группами больных с ОСД и ССД.

Показатели ДНК нейтрофилов были достоверно ниже у больных ССД по сравнению с данными лиц контрольной группы ($p < 0,05$), а также пациентов с ОСД ($p > 0,05$).

Анализ результатов изучения маркеров апоптоза и ДНК нейтрофилов у больных ССД с различной степенью активности воспалительного процесса (табл. 30) показал, что с увеличением активности патологического процесса количество $CD95^+$ клеток и ДНК нейтрофилов не претерпевало существенных изменений ($p > 0,05$).

Таблица 30

Маркеры апоптоза и ДНК нейтрофилов у больных системной склеродермией с различной степенью активности воспалительного процесса, Ме (Q_{25} – Q_{75})

Показатели	Больные с ССД 1 (n = 10)	Больные с ССД2 (n = 12)
$CD95^+$ %	50 (37–59)	55 (46–55)
ДНК, mV	4,14 (3,54–6,65)	3,89 (2,92–6,8)

Примечание: различия между группами не имеют статистической значимости ($p > 0,05$).

Результаты исследования маркеров апоптоза у больных СКВ в зависимости от клинических проявлений заболевания (табл. 31) свидетельствовали о том, что при поражениях почек и синдроме Рейно наблюдалось статистически значимое увеличение количества $CD95^+$ нейтрофилов ($p < 0,05$) по сравнению с таковым у пациентов, у которых эти поражения отсутствовали, тогда как при наличии суставного синдрома достоверных изменений количества $CD95^+$ отмечено не было ($p > 0,05$).

Поражения почек и синдром Рейно характеризовались достоверным уменьшением содержания ДНК нейтрофилов ($p < 0,05$); при поражениях суставов существенных изменений количества ДНК клеток выявлено не было ($p > 0,05$).

Результаты изучения маркеров апоптоза нейтрофилов у больных ССД, получавших и не получавших поддерживающую терапию ГКС, представлены в таблице 32.

Таблица 31

Маркеры апоптоза нейтрофилов у больных системной склеродермией в зависимости от клинических проявлений заболевания, Ме (Q₂₅–Q₇₅)

Показатели	Поражения		
	суставов $n = \frac{11}{11}$	синдром Рейно $n = \frac{20}{2}$	почек $n = \frac{4}{18}$
CD95 ⁺ , %	<u>46 (23–54)</u> 50 (28–8)	<u>66 (54–68)*</u> 44 (41–58)	<u>64 (58–66)*</u> 42 (39–46)
ДНК, mV	<u>3,6 (3,2–4,2)</u> 3,4 (3,29–4,17)	<u>2,4 (2,88–3,20)*</u> 4,4 (4,20–6,22)	<u>2,89 (3,22–4,34)*</u> 5,4 (4,88–5,64)

Примечание. В числителе указано наличие поражений, в знаменателе – отсутствие. Статистическая значимость различий: * – между числителем и знаменателем ($p < 0,05$).

Таблица 32

Маркеры апоптоза нейтрофилов у больных системной склеродермией, получавших и не получавших поддерживающую терапию глюкокортикостероидами, Ме (Q₂₅–Q₇₅)

Показатели	Контроль (n = 33)	ГКС- (n = 6)	ГКС+ (n = 16)
CD95 ⁺ %	41 (33–46)	58 (52–68)*	68 (60–78)* **
ДНК, mV	8,6 (6,2–9,6)	5,66 (4,6–7,88)*	2,44 (2,2–4,2)* **

Примечание. Статистическая значимость различий ($p < 0,05$): * – по сравнению с группой контроля, ** – между группами больных, получавших и не получавших ГКС.

Из таблицы 32 видно, что содержание CD95⁺ нейтрофилов у больных обеих групп было достоверно выше, чем у здоровых лиц, при этом у пациентов, получавших в составе комплексной терапии ГКС, количество этих клеток было существенно выше, чем у больных, не принимавших ГКС ($p < 0,05$).

При исследовании ДНК нейтрофилов в обеих группах больных (соответственно не получавших или получавших терапию ГКС) установлено достоверное уменьшение показателей по сравнению с данными группы контроля ($p < 0,05$). Более высокие показатели ДНК были обнаружены у больных, не

принимавших ГКС, по сравнению с аналогичными данными у пациентов, принимавших эти препараты ($p < 0,05$).

Таким образом, у больных ССД и ОСД наблюдается увеличение содержания CD95⁺ нейтрофилов на фоне снижения количества ДНК этих клеток. Уровень CD95⁺ нейтрофилов возрастало с нарастанием активности патологического процесса при ССД, а также при поражениях сосудов, почек и особенно – при синдроме Рейно на фоне снижения количества ДНК в нейтрофилах. У больных ССД, принимавших ГКС, количество CD95⁺ нейтрофилов выше, а ДНК клеток ниже, чем у пациентов, не принимавших ГКС.

5.2. Лизосомальная активность и кислородзависимый метаболизм нейтрофилов у больных ограниченной и системной склеродермией

Данные исследования активности лизосом и кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у больных ОСД и ССД отражены в таблице 33.

Таблица 33

Лизосомальная активность и кислородзависимый метаболизм нейтрофилов
у больных очаговой и системной склеродермией, Me (Q₂₅–Q₇₅)

Показатели	Контроль (n = 33)	Больные с ОСД (n = 28)	Больные с ССД (n = 22)
сЛТ Нф	5,84 (4,02–6,20)	4,57 (3,4–6,0)*	4,32 (3,08–4,96)*
аЛТ Нф	5,08 (4,36–6,08)	5,24 (4,56–6,92)	4,56 (4,08–5,28)
ЛТНф КА	0,98 (0,82–1,11)	1,14 (1,08–1,40)	1,03 (0,90–1,48)
сХЛ Лм Нф	1,60 (1,6–2,2)	3,5 (3,0–10,4)*	3,92 (2,3–10,2)*
иХЛ Лм Нф	7,00 (2,2–8,2)	2,24 (0,2–4,3)*	1,3 (0,9–3,7)*
КА ХЛ Лм Нф	2,50 (1,0–3,0)	0,64 (0,20–1,23)*	0,33 (0,13–1,00)*

Примечание. Статистическая значимость различий ($p < 0,05$): * – по сравнению с группой контроля, ** – между группами больных с ОСД и ССД.

Из таблицы 33 видно, что лизосомальная активность нейтрофилов в спонтанном тесте была статистически достоверно снижена и при ССД, и при ОСД по сравнению с показателями лиц группы контроля ($p < 0,05$) на фоне отсутствия существенной разницы в показателях обеих групп пациентов ($p > 0,05$). Существенной разницы в результатах активированного теста и коэффициентов активации нейтрофилов в лизосомальном тесте у больных ОСД по сравнению с аналогичными данными при ССД и у здоровых лиц отмечено не было ($p > 0,05$).

Показатели окислительного стресса нейтрофилов по данным теста спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов у больных ОСД и ССД были достоверно увеличены по сравнению с показателями контрольной группы ($p < 0,05$); разницы во всех показателях окислительного стресса нейтрофилов у больных ССД и ОСД выявлено не было ($p > 0,05$).

Результаты определения активности лизосом и окислительного стресса нейтрофилов у больных ССД в зависимости от активности процесса представлены в таблице 34.

Таблица 34

Лизосомальная активность и кислородзависимый метаболизм нейтрофилов у больных системной склеродермией в зависимости от активности процесса, Ме (Q_{25} – Q_{75})

Показатели	Активность ССД	
	АI (n = 10)	АII (n = 12)
сЛТНф	3,82 (2,54–5,65)	4,92 (4,2–6,0)
аЛТНф	5,16 (2,89–5,68)	4,44 (2,96–7,48)
ЛТНф КА	1,13 (0,88–1,73)	0,99 (0,87–1,48)
сХЛ Лм Нф	3,9 (0,7–11,0)	3,92 (0,4–23,5)
иХЛ Лм Нф	1,1 (0,2–13,0)	1,3 (0,3–12,3)
КА ХЛ Лм Нф	0,28 (0,10–1,65)	0,33 (0,05–2,30)

Примечание. Статистическая значимость различий: * – между группами больных с различной степенью активности ССД ($p < 0,05$).

Результаты исследования демонстрируют отсутствие статистически достоверной разницы в показателях спонтанного, индуцированного лизосомального теста и коэффициента активации лизосом у больных со степенями активности 1 (минимальной) и 2 (умеренной) ССД. Все показатели кислородзависимого метаболизма у больных ССД существенно не отличались у пациентов с 1 и 2 степенями активности патологического процесса ($p > 0,05$).

Данные изучения лизосомальной активности и кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у больных СКВ в зависимости от клинических проявлений представлены в таблице 35.

Таблица 35

Лизосомальная активность и кислородзависимый метаболизм нейтрофилов у больных системной склеродермией в зависимости от клинических проявлений заболевания, Ме (Q_{25} – Q_{75})

Показатели	Поражения		
	суставов $n = \frac{11}{11}$	синдром Рейно $n = \frac{20}{2}$	почек $n = \frac{4}{18}$
сЛТ Нф	<u>4,68 (3,32–5,16)</u> 3,76(3,20–4,28)	<u>4,42 (3,32–4,96)</u> 4,2(3,08–4,68)	<u>4,32 (3,32–4,92)</u> 4,82(3,58–5,46)
аЛТ Нф	<u>4,28 (4,08–5,20)</u> 4,5(3,20–5,52)	<u>5,52 (4,44–5,56)</u> 4,16 (3,8–5,2)	<u>5,52 (4,44–7,48)</u> 4,86 (4,22–5,56)
КА ЛТ Нф	<u>0,9 (0,87–1,48)</u> 1,06(0,89–1,66)	<u>1,13 (0,99–1,66)</u> 0,89(0,80–1,69)	<u>1,52 (1,48–1,52)</u> 1,0(0,88–1,29)
сХЛ Лм Нф	<u>3,9 (1,2–14,5)</u> 3,5 (2,1–7,0)	<u>3,1 (0,4–11,0)</u> 3,8 (3,0–9,0)	<u>5,5 (4,5–7,4)*</u> 1,2 (0,95–4,1)
иХЛ Лм Нф	<u>2,3 (0,7–12,0)</u> 1,0 (0,9–1,5)	<u>0,95 (0,2–3,7)</u> 1,7 (1,0–7,0)	<u>1,2 (1,0–3,7)</u> 1,3 (0,80–5,15)
КА ХЛ Лм Нф	<u>0,6 (0,13–1,00)</u> 0,39 (0,12–1,05)	<u>0,31 (0,14–0,90)</u> 0,44 (0,1–1,4)	<u>0,22 (0,1–0,4)*</u> 1,1 (0,80–5,15)

Примечание. В числителе указано наличие поражений, в знаменателе – отсутствие. Статистическая значимость различий: * – между числителем и знаменателем ($p < 0,05$).

Из таблицы 35 видно, что поражения суставов и почек, а также синдром Рейно не сопровождалось статистически достоверными изменениями практически всех (как спонтанных, так и индуцированных) показателей лизосомального теста ($p > 0,05$).

Показатели кислородзависимого метаболизма нейтрофилов не претерпевали достоверных изменений в зависимости от наличия или отсутствия поражений суставов и сосудов; лишь при почечном синдроме возрастала продукция активных форм кислорода по данным спонтанного теста хемилюминесценции на фоне существенного снижения коэффициента активации нейтрофилов.

Результаты исследования лизосомальной активности и кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у больных ССД, получавших и не получавших комплексную терапию с ГКС, представлены в таблице 36.

Таблица 36

Лизосомальная активность и кислородзависимый метаболизм нейтрофилов у больных системной склеродермией, получавших и не получавших поддерживающую терапию глюкокортикостероидами, Ме (Q_{25} – Q_{75})

Показатели	Контроль (n = 33)	ГКС- (n = 4)	ГКС+ (n = 18)
сЛТ Нф	5,84 (4,02–6,20)	3,66 (1,83–4,88)*	2,88 (1,64–4,22)*
аЛТ Нф	5,08 (4,36–6,08)	4,23 (2,62–5,84)	2,89 (2,40–4,62)*
КА ЛТ Нф	0,98 (0,82–1,11)	1,21 (0,80–1,66)	1,1 (0,90–1,68)
сХЛ Лм Нф	1,60 (1,6–2,2)	3,82 (2,1–6,6)*	2,84 (2,20–6,82)*
иХЛ Лм Нф	7,00 (2,2–8,2)	0,8 (0,40–4,22)*	0,6 (0,2–4,3)*
КА ХЛ Лм Нф	2,50 (1,0–3,0)	0,21 (0,1–0,3)*	0,21 (0,15–0,40)*

Примечание. Статистическая значимость различий ($p < 0,05$): * – по сравнению с группой контроля, ** – между группами больных, получавших и не получавших ГКС.

Из таблицы 36 видно, что показатели лизосомального теста в обеих группах были существенно ниже, чем у здоровых лиц, за исключением коэффициента активации нейтрофилов, который не отличался от цифр группы

контроля. В обеих группах пациентов констатировано увеличение спонтанной продукции активных форм кислорода на фоне снижения показателей индуцированной хемилюминесценции и коэффициента активации нейтрофилов по сравнению с данными контроля при отсутствии разницы показателей больных, получавших и не получавших комплексную терапию ГКС.

Таким образом, при ОСД и ССД установлено снижение активности лизосом нейтрофилов на фоне сохранности резервных функций фагоцитов. Окислительный стресс нейтрофилов у больных ОСД и ССД увеличен на фоне снижения резервных функций фагоцитов. Выраженность кислородзависимого и кислороднезависимого метаболизма нейтрофилов не зависят от активности ССД, суставных поражений и синдрома Рейно; при почечном синдроме констатировано возрастание продукции активных форм кислорода на фоне снижения резервных функций нейтрофилов. Показатели лизосомального теста у пациентов, получавших и не получавших комплексную терапию с ГКС, были существенно ниже, чем у здоровых лиц, за исключением коэффициента активации нейтрофилов, который не отличался от данных группы контроля. Характер и степень выраженности изменений метаболических функций нейтрофилов не отличаются у больных, получавших и не получавших комплексную терапию с ГКС.

5.3. Провоспалительные цитокины, циркулирующие иммунные комплексы и С-реактивный белок у больных ограниченной и системной склеродермией

Результаты изучения содержания провоспалительных цитокинов, ЦИК, СРБ у больных ССД и ОСД представлены в таблице 37. Содержание сывороточного IL-1 β и TNF- α у лиц с ОСД и ССД было существенно выше, чем в группе контроля ($p < 0,05$), с более высокими значениями IL-1 β при ССД

по сравнению с ОСД ($p < 0,05$) и отсутствии разницы в уровне TNF- α у пациентов обеих групп. Достоверных изменений уровня IL-6 в обеих группах по сравнению с данными здоровых лиц не наблюдалось. Существенное увеличение содержания ЦИК было выявлено как при ССД, так и при ОСД при отсутствии разницы между показателями в обеих группах пациентов ($p > 0,05$). Статистически значимое увеличение уровня СРБ ($p < 0,05$) обнаружено в обеих группах пациентов с более высокими значениями у больных ССД.

Таблица 37

Уровни интерлейкинов,
циркулирующих иммунных комплексов и С-реактивного белка
у больных очаговой и системной склеродермией, Me (Q_{25} – Q_{75})

Показатели	Контроль (n = 33)	Больные с ОСД (n = 28)	Больные с ССД (n = 22)
IL-1 β , пкг/мл	5,45 (0,0–17,4)	57,17 (1,32–75,80)*	78,62 (0,00–132,88)* **
IL-6, пкг/мл	4,45 (0,00–5,87)	2,85 (0,00–5,27)	3,1 (0,00–5,27)
TNF- α , пкг/мл	1,71 (0,00–8,45)	49,64 (0,0–101,1)*	42,72 (0,0–101,0)*
ЦИК, у. е.	41 (35–46)	63,5 (42–97)*	55,0 (24,0–67,0)*
СРБ, мг/дл	2,5 (0,4–7,0)	6,8 (2,4–8,0)*	10,2 (4,1–12,2)* **

Примечание. Статистическая значимость различий ($p < 0,05$): * – по сравнению с группой контроля, ** – между группами больных с ОСД и ССД.

Анализ уровней провоспалительных цитокинов, ЦИК, СРБ у больных ССД в зависимости от активности процесса (табл. 38) показал статистически значимое увеличение содержания IL-1 β , IL-6, TNF- α и ЦИК у больных с умеренной активностью процесса по сравнению с минимальной ($p < 0,05$). Разница в уровнях СРБ у больных с минимальной и умеренной степенями активности ССД статистически недостоверна ($p > 0,05$).

Результаты исследования содержания провоспалительных цитокинов, ЦИК, СРБ у больных ССД в зависимости от клинических проявлений заболевания отражены в таблице 39.

Таблица 38

Уровни интерлейкинов, циркулирующих иммунных комплексов
и С-реактивного белка у больных системной склеродермией
в зависимости от активности процесса, Ме (Q₂₅–Q₇₅)

Показатели	Активность ССД	
	АІ (n=10)	АІІ (n=12)
IL-1β, пкг/мл	32,43 (0,0–135,0)	95,3 (50,3–132,88)*
IL-6, пкг/мл	0,0 (0,0–3,56)	4,13 (0,0–6,05)*
TNF-α, пкг/мл	26,23 (0,0–60,34)	60,5 (7,1–132,7)*
ЦИК, у. е.	36,5 (23,0–66,5)	60,5 (44,1–67,0)*
СРБ, мг/дл	6,03 (3,2–8,4)	8,2 (3,0–15,0)

Примечание. Статистическая значимость различий: * – между группами больных с различной степенью активности ССД (p < 0,05).

Таблица 39

Уровни интерлейкинов, циркулирующих иммунных комплексов
и С-реактивного белка у больных системной склеродермией
в зависимости от клинических проявлений заболевания, Ме (Q₂₅–Q₇₅)

Показатели	Поражения		
	суставов $n = \frac{11}{11}$	синдром Рейно $n = \frac{20}{2}$	почек $n = \frac{4}{18}$
IL-1β, пкг/мл	<u>69,2 (0,0–132,9)</u> 95,3 (23,8–141,8)	<u>108,7 (19,9–232,9)*</u> 39,2 (17,2–122,2)	<u>192,6 (132,8–156,6)*</u> 26,7 (0,0–126,4)
IL-6, пкг/мл	<u>3,1 (0,0–5,0)</u> 0,0 (0,0–5,2)	<u>7,3 (0,6–10,1)*</u> 1,9 (0,0–3,1)	<u>3,8 (0,0–6,5)</u> 2,3 (0,00–4,71)
TNF-α, пкг/мл	<u>43,9 (18,7–129,0)</u> 15,1 (0,0–107,8)	<u>33,8 (0,0–129,0)</u> 33,9 (7,1–129,0)	<u>105,3 (33,9–129,0)*</u> 33,8(3,5–107,8)
ЦИК, у. е.	<u>55,0 (31,0–67,0)*</u> 43,0 (23,5–66,5)	<u>39,5 (23,0–67,0)</u> 55,0 (42,6–67,0)	<u>67 (67,0–98,0)*</u> 44,5 (23,0–66,0)
СРБ, мг/дл	<u>8,6 (4,1–12,2)</u> 9,7 (2,0–14,2)	<u>10,4 (1,0–16,3)</u> 9,5 (0,9–12,0)	<u>11,2 (1,00–14,58)</u> 8,6 (1,0–10,4)

Примечание. В числителе указано наличие поражений, в знаменателе – отсутствие. Статистическая значимость различий: * – между числителем и знаменателем (p < 0,05).

Данные таблицы 39 свидетельствуют о существенном повышении содержания IL-1 β у больных с синдромом Рейно и с поражениями почек, TNF- α – с поражением почек. Достоверное повышение содержания IL-6 было констатировано у больных ССД при синдроме Рейно.

Существенных изменений уровня СРБ в зависимости от клинических проявлений ССД отмечено не было.

Уровень ЦИК был существенно повышен у больных с поражениями суставов и почек по сравнению с аналогичными показателями тех пациентов, у которых упомянутые клинические проявления отсутствовали ($p < 0,05$).

Результаты изучения уровня интерлейкинов, ЦИК, СРБ у больных ССД, получавших и не получавших поддерживающую терапию ГКС, представлены в таблице 40.

Таблица 40

Уровни интерлейкинов, циркулирующих иммунных комплексов и С-реактивного белка у больных системной склеродермией, получавших и не получавших поддерживающую терапию глюкокортикостероидами, Me (Q₂₅–Q₇₅)

Показатели	Контроль (n = 33)	ГКС- (n = 6)	ГКС+ (n = 16)
IL-1 β , пкг/мл	5,45 (0,0–17,4)	56,2 (8,2–122,2)*	24,6 (8,6–58,4)* **
IL-6, пкг/мл	4,45 (0,00–5,87)	2,9 (0,00–6,48)	4,2 (0,0–10,2)
TNF- α , пкг/мл	1,71 (0,00–8,45)	32,4 (12,4–86,4)*	11,8 (0,0–58,4)* **
ЦИК, у. е.	41 (35–46)	86,6 (8,1–128,0)*	32,0 (4,0–68,0)* **
СРБ, мг/дл	2,5 (0,4–7,0)	16,2 (2,2–16,0)*	5,2 (3,2–9,4)*

Примечание. Статистическая значимость различий ($p < 0,05$): * – по сравнению с группой контроля, ** – между группами больных, получавших и не получавших ГКС.

Из таблицы 40 видно, что уровни всех исследованных цитокинов (кроме IL-6), ЦИК и СРБ в обеих группах пациентов были существенно выше, чем у здоровых лиц, в то же время концентрация IL-1 β , TNF- α , ЦИК, СРБ у боль-

ных, не получавших ГКС, была достоверно выше ($p < 0,05$), чем у лиц, получавших поддерживающие дозы ГКС.

Таким образом, констатировано увеличение содержания сывороточного IL-1 β и СРБ при ОСД и в большей степени – при ССД. Продемонстрировано увеличение уровня ЦИК и TNF- α - как при ССД, так и при ОСД по сравнению с данными группы контроля при отсутствии разницы между показателями в обеих группах пациентов. Показано увеличение уровней IL-1 β , IL-6, TNF- α и ЦИК с нарастанием активности ССД. Содержание ЦИК, СРБ, IL-1 β , TNF- α в сыворотке крови больных ССД, получавших и не получавших поддерживающую терапию ГКС, было достоверно выше, чем в группе контроля. Наряду с этим уровень IL-1 β , TNF- α , ЦИК, СРБ у больных, не принимавших ГКС, была достоверно выше, чем у пациентов, получавших поддерживающие дозы ГКС.

5.4. Сравнительная характеристика маркеров апоптоза циркулирующих нейтрофилов, метаболических функций нейтрофилов и цитокинов при ограниченной и системной склеродермии

Сравнительная характеристика маркеров апоптоза ЦИК и иммунологических показателей при ОСД и ССД представлена в таблице 41.

Из таблицы 41 видно, что маркер апоптоза по данным исследования уровня CD95⁺ антигена нейтрофилов был увеличен у больных как ССД, так и ОСД, определяя сходство обоих заболеваний по данному показателю. Содержание другого маркера апоптоза – ДНК нейтрофилов – было снижено только при ССД, свидетельствуя об отличии ОСД и ССД по этому показателю.

Характер изменений кислородзависимого метаболизма нейтрофилов был идентичен при ОСД и ССД, проявляясь увеличением показателей спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов на фоне снижения данных индуцированной хемилюминесценции и коэффициента активации клеток. Различий

в характеристиках и количественных выражениях окислительного стресса нейтрофилов при ОСД и ССД обнаружено не было.

Таблица 41

Сравнительная характеристика маркеров апоптоза
циркулирующих нейтрофилов и иммунологических показателей
при ограниченной и системной склеродермии

Иммунологические показатели	ОСД	ССД	Сходство ОСД и ССД	Различия ССД от ОСД
Маркеры апоптоза				
CD95 ⁺ Нф	↑	↑	↑	нет
ДНК Нф	N	↓	нет	↓
Кислородзависимый метаболизм фагоцитов				
сХЛ Нф	↑	↑	↑	нет
иХЛ Нф	↓	↓	↓	нет
КА ХЛ Нф	↓	↓	↓	нет
Кислороднезависимый метаболизм фагоцитов (лизосомальный тест)				
сЛТ Нф	↓	↓	↓	нет
аЛТ Нф	N	N	нет	нет
КА ЛТ Нф	N	N	нет	нет
ЦИК, цитокины				
ЦИК	↑	↑	↑	нет
IL-1 β	↑	↑↑	↑	↑
IL-6	N	N	нет	нет
TNF- α	↑	↑	↑	нет

Кислороднезависимый метаболизм нейтрофилов по данным спонтанного лизосомального теста был снижен как при ОСД, так и при ССД, в то время как данные активированного теста и коэффициент активации клеток

существенно не менялись, что определяло сходство обоих заболеваний только по одному тесту – спонтанной активности лизосом при отсутствии различий по показателям всех других лизосомальных тестов.

Уровень ЦИК был увеличен в обеих группах больных при отсутствии количественной разницы, что определяло сходство ОСД и ССД по данному показателю. Содержание IL-1 β также было повышено у пациентов обеих групп с превышением показателя при ССД, что свидетельствует как об идентичности изменений показателя, так и о существовании различий по количественной характеристике. По концентрации IL-6 не было выявлено признаков сходства или различий у больных ОСД и ССД, т. к. этот показатель не отличался от данных группы контроля, тогда как содержание TNF- α было достоверно выше как при ССД, так и при ОСД, определяя сходства по уровню данного интерлейкина при упомянутых заболеваниях.

Следовательно, у больных ОСД и ССД установлены выраженные изменения маркеров апоптоза нейтрофилов, их метаболических функций, уровней провоспалительных цитокинов. Констатированы различия ОСД и ССД по двум показателям: повышение уровня провоспалительного цитокина IL-1 β на фоне снижения количества ДНК нейтрофилов при ССД. Сходство иммунологических показателей при ОСД и ССД встречалось чаще (8 показателей), выражаясь увеличением уровней экспрессии CD95⁺ антигена на нейтрофилах, повышением содержания IL-1 β , TNF- α , ЦИК, спонтанной продукции активных форм кислорода нейтрофилами на фоне снижения резервных функций фагоцитов и спонтанной активации лизосом.

Глава 6. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ ПОКАЗАТЕЛЯМИ АПОПТОЗА НЕЙТРОФИЛОВ С ИХ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ И УРОВНЕМ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ ОГРАНИЧЕННОЙ И СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ

В настоящей главе представлены результаты изучения взаимосвязей по данным корреляционного анализа как между показателями апоптоза нейтрофилов (CD95⁺, ДНК) и исследованными иммунологическими данными (метаболические функции нейтрофилов, ЦИК, провоспалительные цитокины), у больных ОСД и ССД. Достоверные данные корреляционных тестов представлены на рисунках 11–18 ($p < 0,05$).

6.1. Взаимосвязи апоптоза, метаболизма нейтрофилов и уровня провоспалительных цитокинов у больных ограниченной и системной склеродермией

Исследование корреляционных взаимосвязей между иммунологическими показателями показало, что у больных ОСД ДНК нейтрофилов положительно коррелировала с показателями индуцированного теста хемилюминесценции и индуцированного лизосомального теста соответственно (рис. 11).

Отсутствовали корреляционные взаимосвязи у больных ОСД между уровнем CD95⁺ нейтрофилов и всеми иммунологическими показателями, в частности, с содержанием ДНК в нейтрофилах, показателями кислородзависимого и кислороднезависимого метаболизма нейтрофилов, уровнем ЦИК, провоспалительных цитокинов.

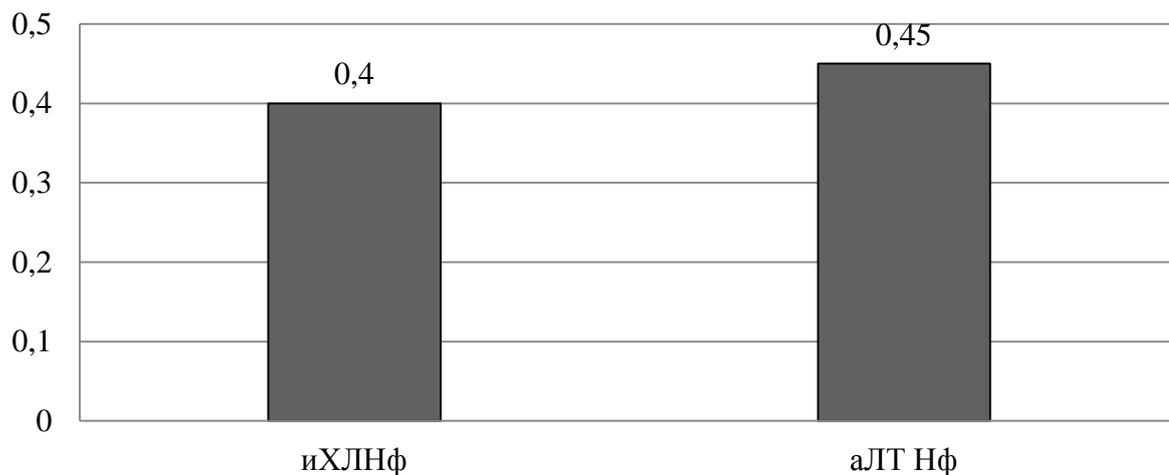
**Коэффициент
корреляции**

Рис 11. Взаимосвязь ДНК нейтрофилов с метаболизмом клеток при ограниченной склеродермии

Исследование взаимосвязей кислородзависимого метаболизма нейтрофилов с иммунологическими показателями установило наличие зависимости между значениями спонтанной продукции активных форм кислорода нейтрофилами и уровнем ЦИК и IL-6 при ОСД (рис. 12).

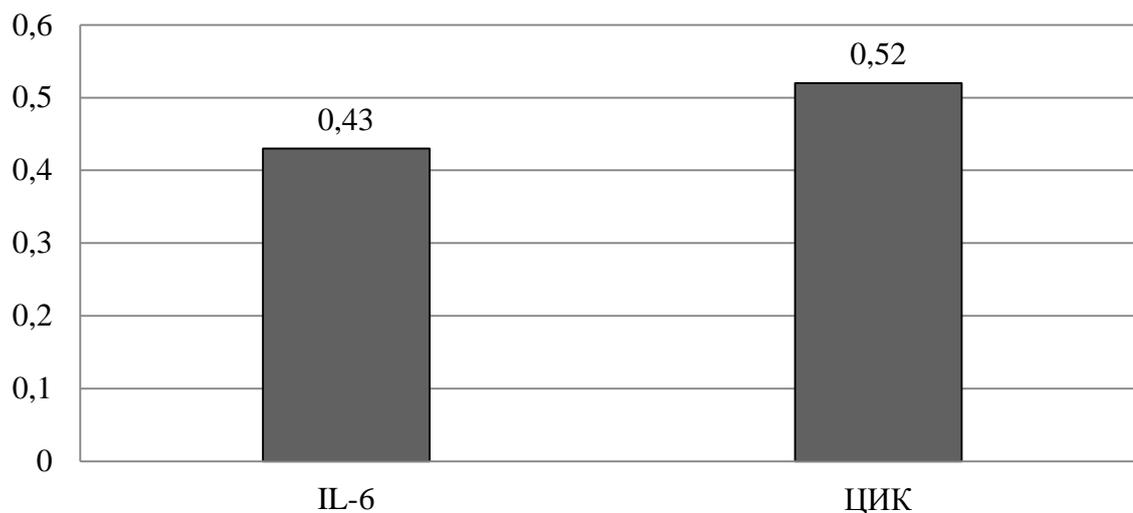
**Коэффициент
корреляции**

Рис. 12. Взаимосвязи показателей спонтанной продукции активных форм кислорода нейтрофилами с циркулирующими иммунными комплексами и интерлейкинами при ограниченной склеродермии

Иных взаимосвязей кислородзависимого метаболизма нейтрофилов с иммунологическими показателями обнаружено не было.

Результаты исследования взаимосвязи уровня IL-1 β с содержанием провоспалительных цитокинов при ОСД показали наличие положительных корреляций между ним и содержанием TNF- α (рис. 13).

Коэффициент корреляции

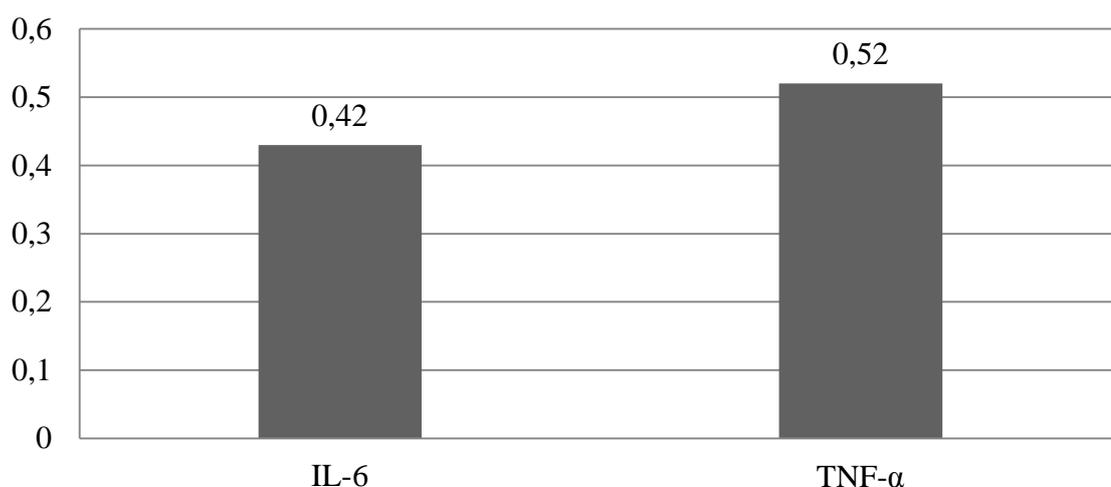


Рис. 13. Взаимосвязи IL-1 β с другими провоспалительными цитокинами при ограниченной склеродермии

Как видно из рисунка 13, имелись прямые корреляционные связи уровня IL-1 β с содержанием IL-6 и TNF- α . В свою очередь уровень IL-6 прямо коррелировал с концентрацией TNF- α и с коэффициентом активации нейтрофилов в лизосомальном тесте (рис. 14).

При ССД не было установлено существования достоверных корреляционных взаимосвязей маркера апоптоза нейтрофилов по данным определения количества CD95⁺ клеток с иммунологическими показателями. Констатирована связь между содержанием ДНК нейтрофилов и активностью лизосом в индуцированном тесте (рис. 15).

Имело место наличие широких взаимосвязей показателей спонтанной продукции активных форм кислорода с рядом иммунологических показателей

(рис. 16). Продукция активных форм кислорода нейтрофилами по данным теста спонтанной хемилюминесценции прямо коррелировала с уровнем провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β), ЦИК и активированной активностью лизосом; установлена обратная корреляция показателей спонтанной продукции активных форм кислорода с активностью лизосом в спонтанном тесте.

Коэффициент корреляции

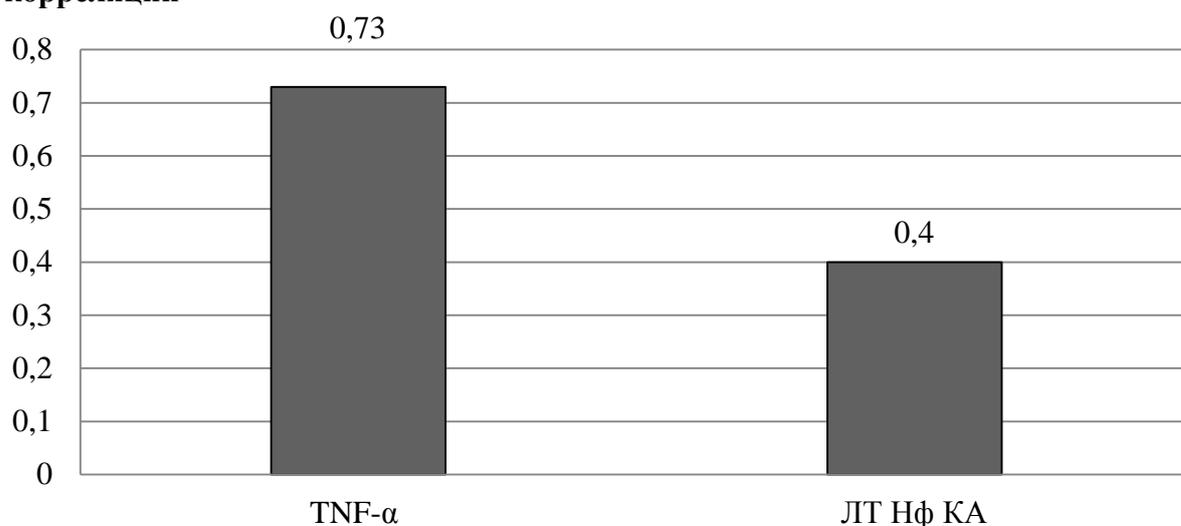


Рис. 14. Взаимосвязи IL-6 с иммунологическими показателями при ограниченной склеродермии

Коэффициент корреляции

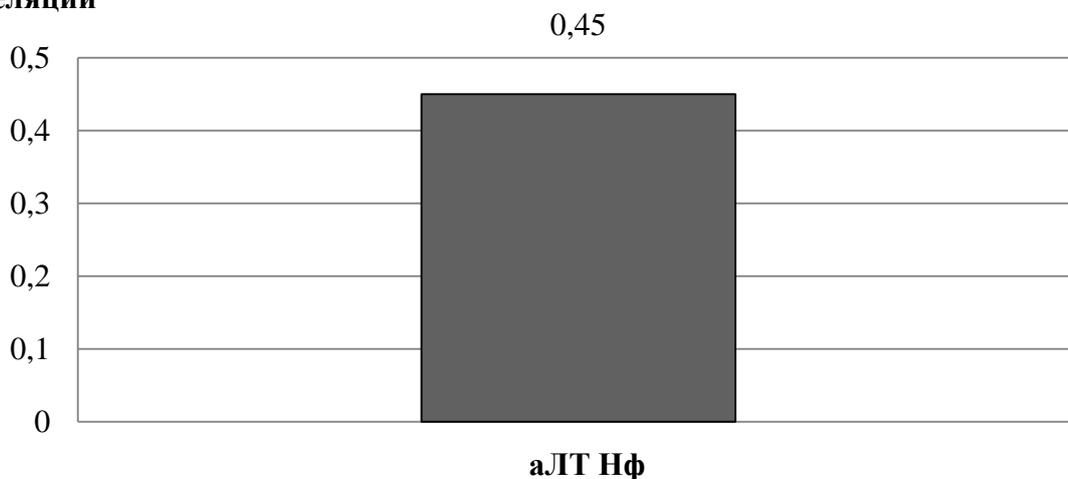


Рис. 15. Взаимосвязь ДНК нейтрофилов с активностью лизосом клеток при системной склеродермии

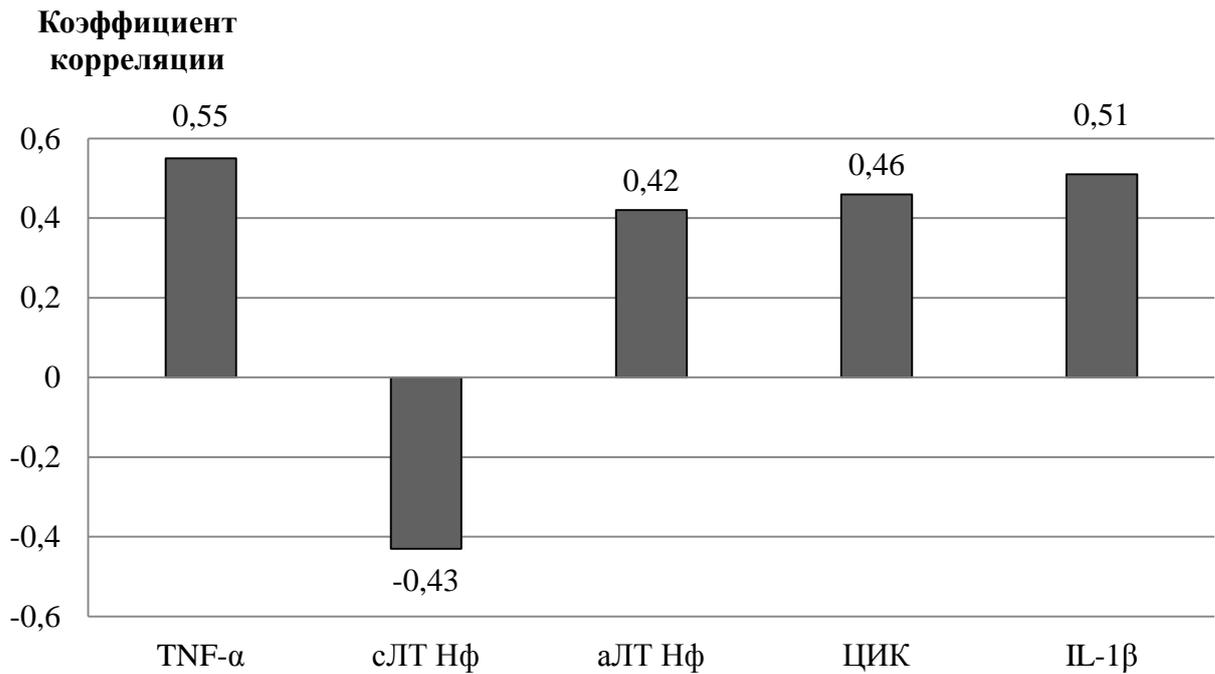


Рис. 16. Взаимосвязи показателей спонтанной продукции активных форм кислорода с иммунологическими показателями при системной склеродермии

Кроме того, у больных ССД были констатированы прямые взаимосвязи уровня ИЛ-1 β с содержанием ЦИК и TNF- α (рис. 17), а уровня ИЛ-6 – с содержанием TNF- α (рис. 18).

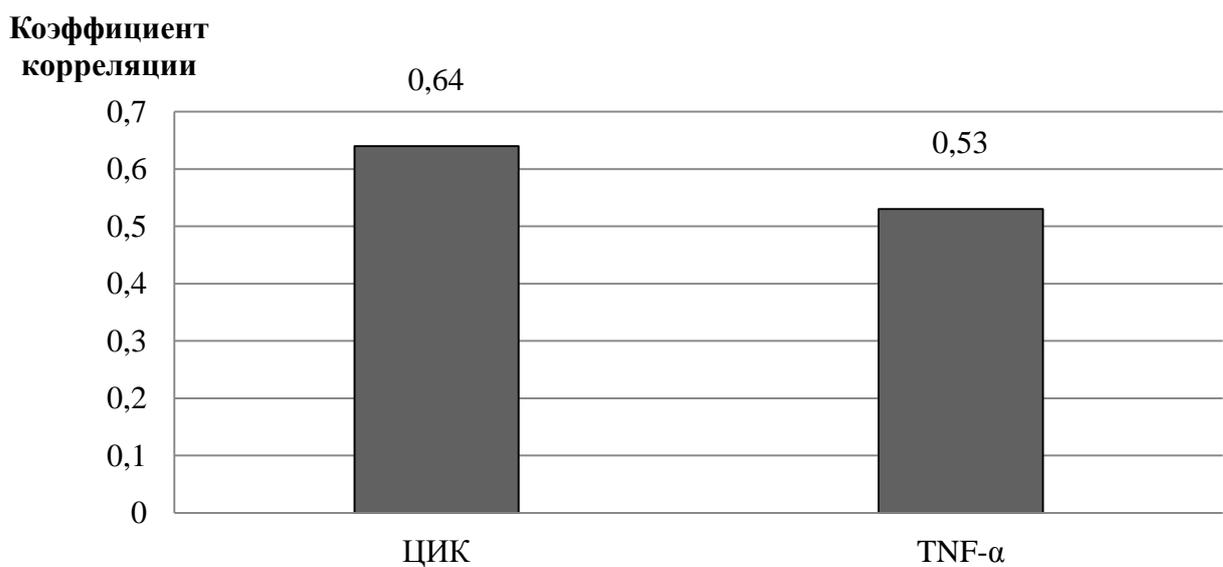


Рис. 17. Взаимосвязи ИЛ-1 β с иммунологическими показателями при системной склеродермии

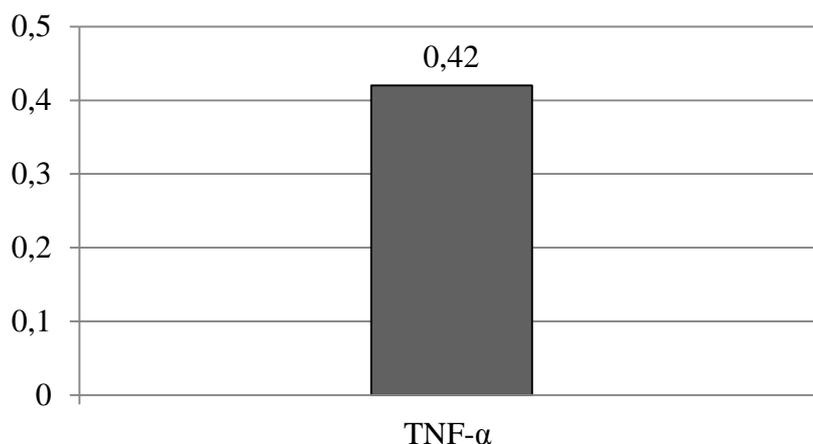
**Коэффициент
корреляции**

Рис. 18. Взаимосвязь IL-6 с TNF-α при системной склеродермии

Таким образом, у больных различными формами склеродермии констатированы разнообразные взаимосвязи маркеров апоптоза нейтрофилов, показателей метаболических функций фагоцитов и уровня провоспалительных цитокинов, характер которых различен при ОСД и ССД.

6.2. Сравнительная характеристика взаимосвязей апоптоза, метаболизма нейтрофилов и уровня провоспалительных цитокинов у больных ограниченной и системной склеродермией

Сводные результаты анализа корреляционных взаимосвязей при ОСД и ССД, их сходства и различия представлены в таблице 42. По данным исследования маркеров апоптоза нейтрофилов как при ОСД, так и при ССД отмечалось сходство в виде прямой корреляционной зависимости между содержанием ДНК нейтрофилов и активностью лизосом в индуцированном лизосомальном тесте. Отличия обоих заболеваний по взаимосвязям маркеров апоптоза с иммунологическими показателями состояло в существовании при ОСД прямой корреляции между содержанием ДНК нейтрофилов и данными индуцированной хемилюминесценции клеток.

Маркеры апоптоза циркулирующих нейтрофилов и их корреляционные связи
с метаболической активностью клеток циркулирующих иммунных комплексов и цитокинами
при очаговой и системной склеродермии

Показатели	ОСД	ССД	Сходство ОСД и ССД	Различия ОСД и ССД
Маркеры апоптоза	(+) ДНК Нф – иХЛ Нф, аЛТ Нф	(+) ДНК Нф – аЛТ Нф	(+) ДНК Нф – аЛТ Нф	ОСД (+) ДНК Нф – иХЛ Нф
Метаболические функции нейтрофилов	(+) сХЛ Нф – ЦИК, ИЛ-6	(+) сХЛ Нф – TNF- α , аЛТ Нф, ЦИК, ИЛ-1 β (-) сХЛНф – сЛТНф	(+) сХЛ Нф – ЦИК	ОСД (+) сХЛ Нф – ИЛ-6 ССД (+) сХЛ Нф – TNF- α , аЛТ Нф, ИЛ-1 β (-) сХЛНф – сЛТ Нф
Цитокины, ЦИК	(+) ИЛ-1β – TNF- α , ИЛ-6 (+) ИЛ-6 – TNF- α , ЛТНф КА	(+) ИЛ-1β – ЦИК, TNF- α (+) ИЛ-6 – TNF- α	(+) ИЛ-1β – TNF- α (+) ИЛ-6 – TNF- α	ОСД (+) ИЛ-1β – ИЛ-6 (+) ИЛ-6 – ЛТ Нф КА ССД (+) ИЛ-1β – ЦИК

Описывая особенности взаимосвязей метаболических функций нейтрофилов при ОСД и ССД, следует отметить, что у пациентов обеих групп имелась прямая корреляционная зависимость между продукцией активных форм кислорода, выявленных в спонтанном хемилюминесцентном тесте, и уровнем ЦИК.

Различия во взаимосвязях между ОСД и ССД заключались в наличии прямой зависимости между показателями спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов и уровнем IL-6 у больных ОСД, прямой зависимости между данными спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов и содержанием TNF- α , аЛТНф, IL-1 β – у лиц с ССД; обратная зависимость была установлена между продукцией активных форм кислорода в спонтанном хемилюминесцентном тесте нейтрофилов и показателями спонтанного лизосомального теста нейтрофилов.

При ОСД показано наличие зависимостей между показателями спонтанной продукции активных форм кислорода нейтрофилами с уровнем ЦИК и IL-6. Результаты исследования взаимосвязи IL-1 β с содержанием провоспалительных цитокинов при ОСД показали наличие положительных корреляций уровня указанного цитокина с содержанием TNF- α .

Установлены прямые корреляционные связи уровней IL-1 β и IL-6, а также TNF- α . В свою очередь содержанием IL-6 прямо коррелировало с уровнем TNF- α и коэффициентом активации нейтрофилов в лизосомальном тесте.

При ССД не было установлено существования достоверных корреляционных взаимосвязей маркера апоптоза нейтрофилов по данным определения количества CD95⁺ клеток с иммунологическими показателями. Констатирована связь между уровнем ДНК нейтрофилов и активностью лизосом в индуцированном тесте. Продукция активных форм кислорода нейтрофилами по данным теста спонтанной хемилюминесценции прямо коррелировала с содержанием провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β), ЦИК и активированной активностью лизосом; установлена обратная корреляция показателей спон-

танной продукции активных форм кислорода с активностью лизосом в спонтанном тесте.

Различия во взаимосвязях между ОСД и ССД заключались в наличии прямой зависимости между показателями спонтанной хемилюминесценцией нейтрофилов и уровнем ИЛ-6 у больных ОСД, а при ССД – прямой зависимости между данными спонтанной хемилюминесценцией нейтрофилов и содержанием TNF- α , АЛТ нейтрофилов, ИЛ-1 β ; обратная зависимость была установлена между продукцией активных форм кислорода в спонтанном хемилюминесцентном тесте нейтрофилов и показателями спонтанного лизосомального теста нейтрофилов.

Черты сходства ОСД и ССД по данным корреляционного анализа состояли в наличии прямой связи уровней ИЛ-1 β с TNF- α и ИЛ-6 – также с TNF- α . Различия обоих заболеваний заключались в существовании при ОСД обратных связей содержания ИЛ-1 β с ИЛ-6, а ИЛ-6 – с коэффициентом активации нейтрофилов в лизосомальном тесте. При ССД документирована взаимосвязь уровней ИЛ-1 β и ЦИК.

Таким образом, при ОСД и ССД имеются многочисленные и разнообразные взаимосвязи маркеров апоптоза нейтрофилов, их кислородзависимых и кислороднезависимых функций, а также уровня провоспалительных цитокинов. Констатированы немногочисленные черты сходства (по трем связям) у больных ОСД и ССД в виде взаимных коррелятивных связей уровня провоспалительных цитокинов, связи содержания ЦИК с активацией кислородзависимого метаболизма, а ДНК нейтрофилов – с кислороднезависимым метаболизмом фагоцитов. Преобладали различия в корреляционных связях, более выраженные при ОСД и ССД (7 связей). Это касалось связей уровней провоспалительных цитокинов между собой, их связей с метаболическими функциями нейтрофилов, связи кислородзависимого метаболизма фагоцитов с уровнем ДНК клеток.

В качестве иллюстрации приводим следующие клинические примеры.

И-на Л. М., 62 лет (выписка из амбулаторной карты), обратилась на прием 08.02.2011 г. с жалобами на поражение кожи в области молочных желез, живота, голеней.

Диагноз: «Ограниченная склеродермия. Бляшечная форма».

Считает себя больной в течение 6 месяцев. Начало заболевания связывает с перенесенной вирусной инфекцией. Заболевание началось с появления на коже живота отежных красных пятен округлой формы, постепенно увеличивающихся в размерах, с сиреневым венчиком по периферии, вскоре в их центре начали возникать участки уплотнения. Объективно: общее состояние удовлетворительное. Непораженные кожные покровы имеют обычную окраску. В легких дыхание везикулярное, хрипов нет. Сердечные тоны ясные, ритмичные. Пульс – 71 в минуту. АД – 135/85 мм рт. ст. Печень – по краю реберной дуги. Селезенка и почки не пальпируются. Живот при пальпации мягкий, безболезненный.

Status localis. На коже живота, интрамаммарной складки, передней поверхности голеней видны 6 пятен округлой формы, диаметром 3–5 см. Центр очага имеет цвет слоновой кости, уплотнен, кожа гладкая, в складку не собирается, пушковые волосы отсутствуют. По периферии очага кожа имеет лиловый оттенок. Чувствительность кожи в очаге поражения снижена.

Анализ крови: эритроциты – $4,42 \times 10^{12}/л$, лейкоциты – $6,6 \times 10^9/л$, Нв – 125 г/л, эозинофилы – 3%, нейтрофилы сегментоядерные – 66%, лимфоциты – 31%, моноциты – 10%, тромбоциты – $280 \times 10^9/л$, СОЭ – 5 мм/ч; ревматоидный фактор не выявлен. Кровь на антитела к ВИЧ, бледной трепонеме, вирусам гепатита В и С отрицательна.

Общий анализ мочи: удельный вес – 1020, белка нет, количество лейкоцитов – 0-1-2 в поле зрения; эпителий плоский – 1-2 в поле зрения.

УЗИ сердца и сосудов: патологии не обнаружено.

ЭКГ: ритм синусовый правильный. Патологических изменений не обнаружено. Рентгенограмма грудной клетки: видимых изменений не обнаружено.

ФГДС: патологических изменений не найдено.

Данные иммунологических исследований от 08.02.11 г. представлены в таблицах 43–45.

Таблица 43

Содержание антител к ДНК, циркулирующих иммунных комплексов, С-реактивного белка и цитокинов в сыворотке крови больной И-ной

аДНК, МЕ/мл	ЦИК, у. е.	СРБ, мг/дл	IL-1 β , пкг/мл	IL-6, пкг/мл	TNF- α , пкг/мл
Показатели пациента					
56,1	60	0,4	27,3	0,06	0,03
Показатели нормы					
54,16–124,56	35–46	0,4–7,0	0,0–17,4	0,00–5,87	0,0–8,4

Таблица 44

Показатели лизосомальной активности и кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у больной И-ной

сЛТ Нф	аЛТ Нф	ЛТ Нф КА	сХЛ Лм Нф, $\times 10^4$ имп/мин	иХЛ Лм Нф, $\times 10^4$ имп/мин	КА ХЛ Лм Нф
Показатели пациента					
4,97	5,01	1,01	6,2	1,86	0,3
Показатели нормы					
4,02–6,2	4,36–6,0	0,82–1,11	1,6–2,2	2,2–8,2	1,0–3,0

Таблица 45

Маркеры апоптоза и ДНК нейтрофилов у больной И-ной

CD95 ⁺ , %	ДНК, mV
Показатели пациента	
67	6,2
Показатели нормы	
34-45	6,2-9,6

Итак, у обследованной больной наблюдалось повышение сывороточного уровня ЦИК и IL-1 β , а также маркера апоптоза нейтрофилов CD95⁺. Кислороднезависимые функции нейтрофилов (отражаемые в лизосомальном тесте) не изменены в отличие от кислородзависимых (определяется повышение спонтанной хемилюминисценции на фоне снижения функционального резерва клеток).

Лечение: бензилпенициллина натриевая соль, никотиновая кислота, витамины В₁, В₁₂, лидаза внутримышечно, аевит. Местно: аппликации с 80%-ным димексидом, электрофорез с лидазой, мазь «Синафлан» в чередовании с гелем «Эгаллохит». После проведенного лечения уплотнение в очагах значительно уменьшилось, исчез синюшный ободок по периферии очагов.

В качестве иллюстрации иммунологических изменений при ССД приводим следующий клинический пример.

В-на Т. Г., 67 лет (выписка из истории болезни № 2138), находилась на лечении в ревматологическом отделении областной клинической больницы с 12.09.2011 по 02.10. 2011 г. с диагнозом: «Системная склеродермия, хроническое течение, активность 1. Склеродактилия. Синдром Рейно. Пневмосклероз. Эзофагит. Полиартралгии».

Больная предъявляет жалобы на чувство онемения пальцев кистей, «зябкость» конечностей, изменение окраски кожи кистей, боли в суставах, общую слабость, снижение аппетита, затруднение при проглатывании пищи. Больной себя считает с 1974 г., когда впервые появились признаки синдрома Рейно. Диагноз ССД был установлен в 1980 году.

При поступлении в клинику общее состояние удовлетворительное. Больная астенического телосложения. Кожа лица и туловища атрофирована, бледного цвета, имеются единичные телеангиэктазии. В легких дыхание везикулярное, в нижних отделах ослаблено, хрипов нет. Сердечные тоны ритмичные, приглушены. Пульс – 70 в минуту. АД – 160/90 мм рт. ст. Печень пальпируется на 1 см ниже края реберной дуги. Живот при пальпации мягкий, безболез-

ненный. Селезенка не увеличена, симптом Пастернацкого отрицательный с обеих сторон.

Анализ крови: эритроциты – $4,4 \times 10^{12}/л$, Нв – 130 г/л, лейкоциты – $8,7 \times 10^9/л$, палочкоядерные – 1%, сегментоядерные – 79%, лимфоциты – 11%, моноциты – 9%, тромбоциты – $400 \times 10^9/л$, СОЭ – 22 мм/ч. Ревматоидный фактор не обнаружен, содержание билирубина – 16,1 мкмоль/л, АЛТ – 16,0 ед./л, АСТ – 17 ед./л, общего белка крови – 94 г/л, антител к сарколемме Scl-70 – 18,5 ЕД./мл (N-до 15).

Анализ крови на антитела к ВИЧ, бледной трепонеме, вирусам гепатита В и С – отрицательный.

Общий анализ мочи: удельный вес – 1010, содержание белка – 0,02 г/л, лейкоцитов – 2–5 в поле зрения, слизь – небольшое количество.

ЭКГ: регулярный синусовый ритм, горизонтальное положение электрической оси сердца. Гипертрофия миокарда левого желудочка.

Рентгенограмма кистей обеих рук: грубые дегенеративно-дистрофические изменения не определяются.

ФГДС: начальные проявления рефлюкс-эзофагита.

УЗИ органов брюшной полости: диффузные изменения печени, поджелудочной железы.

Результаты иммунологического обследования от 12.09.11 г. приведены в таблицах 46–48.

Таблица 46

Содержание антител к ДНК, циркулирующих иммунных комплексов, С-реактивного белка и цитокинов в сыворотке крови больной В-ной

аДНК, МЕ/мл	ЦИК, у. е.	СРБ, мг/дл	IL-1 β , пкг/мл	IL-6, пкг/мл	TNF- α , пкг/мл
Показатели пациента					
60,0	65	8,0	62,0	10,1	35,0
Показатели нормы					
54,16–124,56	35–46	0,4–7,0	0,0–17,4	0,00–5,87	0,0–8,4

Показатели лизосомальной активности
и кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у больной В-ной

сЛТ Нф	аЛТ Нф	ЛТ Нф КА	сХЛ Лм Нф ×10 ⁴ имп/мин	иХЛ Лм Нф ×10 ⁴ имп/мин	КА ХЛ Лм Нф
Показатели пациента					
3,9	4,68	1,2	9,2	2,4	0,2
Показатели нормы					
4,02–6,2	4,36–6,0	0,82–1,11	1,6–2,2	2,2–8,2	1,0–3,0

Маркеры апоптоза и ДНК нейтрофилов у больной В-ной

CD95 ⁺ , %	ДНК, mV
Показатели пациента	
58	4,0
Показатели нормы	
34–45	6,2–9,6

У обследованной отмечено повышение содержания ЦИК, СРБ, исследованных цитокинов. Кислородзависимый метаболизм нейтрофилов был увеличен по данным спонтанного теста, тогда как показатели индуцированного теста и коэффициента активации снижены. Показатели кислороднезависимого метаболизма по данным лизосомального теста не изменены. Констатировано снижение содержания количества ДНК в нейтрофилах на фоне увеличения уровня маркера их апоптоза (CD95⁺).

Лечение: метилпреднизолон, пентоксифиллин, никотиновая кислота внутримышечно, витаминотерапия. В результате терапии состояние пациентки улучшилось: уменьшились боли в суставах, снизилась выраженность вазоспастического синдрома, несколько снизилась интенсивность дисфагии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проблема иммунопатогенеза аутоиммунных заболеваний, относящихся к категории тяжелых болезней человека и характеризующихся поражением лиц трудоспособного возраста с неуклонно прогрессирующим течением и неизбежной инвалидизацией, до сих пор является предметом дискуссий, нередко диаметрально противоположных. Полагают, что развитие этих заболеваний связано с дефектами иммунорегуляции, приводящими к утрате аутоотолерантности с активацией аутореактивных Т- и В-лимфоцитов и формированием воспалительной реакции в собственных тканях организма [18, 43, 44, 95, 108]. Вместе с тем высказываются иные точки зрения, в частности, разрабатывается проблема генетической предрасположенности к аутоиммунным болезням, обсуждается триггерная роль микроорганизмов и нарушений врожденного иммунитета в развитии аутоиммунных процессов, высказывается мнение об относительно важной роли микрохимеризма в возникновении этой патологии [8, 15, 35, 97, 107, 112, 169, 173, 186].

Классическим примером аутоиммунного заболевания является СКВ. В основе заболевания лежит утрата аутоотолерантности, поликлональная активация В-лимфоцитов на фоне нарушений в сети цитокинов с продукцией широкого спектра антител, преимущественно к нуклеиновым кислотам, с последующим формированием иммунных комплексов, играющих основополагающую роль в иммунопатогенезе данного страдания [11, 44, 54, 113, 128, 172]. Принципиально перечень аутоиммунных заболеваний достаточно обширен. Помимо СКВ среди других ревматических болезней иммунные нарушения играют важную роль в патогенезе ССД, ревматоидного артрита, системных васкулитов, ревматизма, реактивных артритов. Однако, несмотря на ряд выдающихся достижений в иммунологии и ревматологии, многие проблемы в этих областях, связанные с иммунопатогенезом, диагностикой и лечением

аутоиммунных ревматических заболеваний, остаются дискуссионными и до сих пор не решенными. В частности, это касается ряда патологических состояний, при которых могут развиваться как системные поражения, так и местные (ограниченные, локальные, например кожные) формы. Примерами являются СКВ и ИКВ, ССД и ОСД, кожные и системные формы васкулитов, другие виды сходных между собой заболеваний. Исследование механизмов развития подобных состояний в сравнительном аспекте и разработка на этой основе новых подходов к вопросам дифференциальной диагностики, лечения и профилактики представляется актуальной научной задачей, имеющей важное научно-практическое значение для современной медицины. Между тем сведения научной литературы по данному вопросу применительно к различным формам красной волчанки и склеродермии весьма немногочисленны и достаточно противоречивы [34, 42, 133, 141]. В отличие от системных форм указанных выше заболеваний вклад иммунопатогенетических механизмов в развитии ИКВ и ОСД исследован явно недостаточно, особенно с учетом появления новых взглядов относительно роли иммунологических нарушений в разворачивании аутоиммунных процессов [165, 190].

В этом плане представляют значительный интерес исследования процессов апоптоза или программированной гибели клеток, лежащих в основе адекватного функционирования иммунной системы здорового человека, оказывая мощное воздействие на процессы селекции и поддержания постоянства популяции клеток иммунной системы и аутоотолерантности [9, 51, 84, 114, 197, 214, 232].

Нарушение процессов апоптоза и элиминации клеток, характерное для аутоиммунного воспаления, является одним из факторов прогрессирования аутоиммунного заболевания и развития его осложнений [114, 232].

Непосредственная роль апоптоза в патогенезе ДБСТ в настоящее время остается предметом дискуссий. Результаты исследований, посвященных изучению этой проблемы, в большинстве своем носят противоречивый характер.

Рядом авторов показано, что развитие аутоиммунных реакций и персистенция воспаления сопровождаются ослаблением процессов апоптоза клеток иммунной системы, прежде всего лимфоцитов [118], тогда как другими исследователями, напротив, продемонстрирована активация программируемой гибели клеток [151, 152, 212, 214, 228].

Среди клеток, принимающих участие в воспалительном процессе, особое внимание привлекает к себе нейтрофил как постмитотическая клетка с высокой степенью дифференцировки, функциональной активности и настроенности на быструю гибель [9, 175], что позволяет считать ее одной из перспективных моделей для изучения апоптоза. Несомненный интерес вызывает нейтрофил и с точки зрения появления при СКВ волчаночных LE-клеток-нейтрофилов или моноцитов с крупными гомогенными базофильными включениями, представляющими собой фагоцитированные ядра, покрытые антинуклеарными антителами.

В процессах апоптоза принимает участие множество факторов, один из которых – гиперпродукция активных форм кислорода на фоне ослабления антиоксидантной защиты – является одним из ключевых в развитии СКВ, располагает клетку к гибели, активируя каспазный каскад, деполяризует митохондриальную мембрану с кластеризацией «рецепторов смерти» (DRs-death receptors) и запускает апоптоз, который регулируется экспрессией про- и антиапоптозных протеинов семейства Bcl-2. Эффекторные каспазы завершают апоптоз клетки, однако в лейкоцитах возможен механизм апоптоза без активации каспаз, инициируемый через рецепторы TNF- α [9].

Регуляция апоптоза осуществляется с помощью многих вне- и внутриклеточных механизмов. Индукция процесса апоптоза возникает при недостатке факторов роста, действии ГКС и других веществ со сходным эффектом, в результате дисбаланса сигналов активации или экспрессии с последующим связыванием рецепторов для индукторов апоптоза [47, 56, 69, 86]. Имеются данные об активирующем влиянии *in vitro* цитокинов, таких как TNF- α , IL-2

и IL-4, на процесс апоптоза. Неспецифические факторы (высокая температура, токсические агенты, оксиданты, свободные радикалы, гамма- и УФ-излучение, бактериальные токсины и др.) также способны вызывать апоптоз.

Вместе с тем сообщается об ингибиции апоптоза гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором [247], IL-18, инсулиноподобным фактором роста-1 (IGF1), антителами к Fas и др.

По вопросу о состоянии апоптоза нейтрофилов и механизмах его регуляции у больных СКВ и ССД данные литературы немногочисленны и противоречивы [83, 126, 178, 205]. В отдельных работах продемонстрирована активация этого процесса при указанных заболеваниях, тогда как другими авторами, напротив, показана ингибиция [13, 30, 118, 151, 152, 212, 214, 228]. Практически неисследованными являются особенности апоптоза нейтрофилов и его взаимосвязей с рядом иммунологических показателей при кожных и системных формах как красной волчанки, так и склеродермии, что и определило цель настоящей работы.

Были изучены показатели апоптоза нейтрофилов по данным экспрессии CD95⁺ антигена с помощью непрямого иммунофлюоресцентного теста и количества ДНК клеток при микроцитометрическом исследовании с использованием красителя акридиновый оранжевый у больных СКВ и ДКВ, ССД и ОСД. У пациентов всех групп определяли также лизосомальную активность в тесте с красителем акридиновым оранжевым и кислородзависимый метаболизм нейтрофилов методом хемилюминесценции, уровень провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF- α), СРБ и антител к ДНК (у больных ДКВ и СКВ) иммуноферментным методом, ЦИК – турбидиметрическим методом. Кроме того, проводился корреляционный анализ с целью поиска взаимосвязей показателей апоптоза нейтрофилов с исследованными иммунологическими показателями. Подобный подход представлялся целесообразным и оправданным как с теоретической точки зрения с целью поиска сходства и различий в иммунопатогенезе системных и локальных (кожных, ограничен-

ных форм) красной волчанки и склеродермии, так и в практическом плане для разработки дополнительных и новых подходов в дифференциальной диагностике различных форм красной волчанки и склеродермии, а также определения мишеней для терапевтических воздействий при этих заболеваниях.

Проведенными исследованиями маркеров апоптоза нейтрофилов установлено увеличение количества CD95⁺ нейтрофилов как при ДКВ, так и при СКВ на фоне снижения числа ДНК клеток исключительно при СКВ. Активация процессов апоптоза нейтрофилов при СКВ констатирована и другими авторами [217], одной из возможных причин ее может быть индукция апоптоза антителами к ДНК [85]. Однако другие исследователи демонстрируют, напротив, ингибцию процессов апоптоза нейтрофилов при этом заболевании [13, 30, 118]. Противоречивость результатов цитированных работ, возможно, объясняется различием в методических подходах оценки апоптоза клеток.

Анализ корреляций показателей апоптоза нейтрофилов с исследованными метаболическими функциями клеток и уровнем цитокинов при ДКВ показал обратную взаимосвязь между количеством CD95⁺ нейтрофилов и активностью лизосом в спонтанном тесте. Эти данные свидетельствуют о важной роли снижения кислороднезависимого метаболизма нейтрофилов в увеличении экспрессии проапоптотного антигена фагоцитирующих клеток при ДКВ. У пациентов с ДКВ повышение числа CD95⁺ нейтрофилов при отсутствии существенных различий в этом показателе у больных эритематозной, гиперкератозно-инфильтративной и атрофической стадиями заболевания не сопровождалось уменьшением количества ДНК клеток. Эти данные совпадают с результатами единичных исследований апоптоза нейтрофилов при ДКВ [60].

Кислородзависимый метаболизм нейтрофилов при ДКВ характеризовался увеличением продукции активных форм кислорода в спонтанном тесте хемилюминесценции на фоне снижения показателей индуцированного теста и коэффициента активации фагоцитов в этом тесте.

При эритематозной стадии ДКВ, в отличие от гиперкератозно-инфильтративной и атрофической стадий, окислительный стресс нейтрофилов по данным теста спонтанной хемилюминесценции был увеличен. Более высокие показатели индуцированной хемилюминесценции констатированы у пациентов с гиперкератозно-инфильтративной и атрофической стадиями, нежели с эритематозной, а более низкие значения резервных функций нейтрофилов – при эритематозной стадии по сравнению с гиперкератозно-инфильтративной и атрофической. Данные исследований, посвященные изучению различий в показателях окислительного стресса нейтрофилов при ДКВ в зависимости от стадии заболевания, в доступной литературе отсутствуют.

Корреляционные взаимосвязи при ДКВ касались ЦИК- и цитокиноопосредованной (через провоспалительные цитокины IL-1 β , IL-6, TNF- α) активации респираторного взрыва нейтрофилов в спонтанном хемилюминесцентном тесте, тогда как индуцированная выработка активных форм кислорода находилась в прямой зависимости от TNF- α и в обратной – от ЦИК и IL-6.

Кислороднезависимый метаболизм нейтрофилов по данным лизосомального теста у больных ДКВ был снижен на уровне спонтанной функции лизосом, в то время как индуцированная лизосомальная активность, как и коэффициент активации клеток, не отличались от показателей здоровых лиц. Спонтанная активация лизосом при ДКВ обратно коррелировала с TNF- α , а коэффициент активации лизосом – прямо с TNF- α .

Важно отметить, что у больных ДКВ содержание адНК не превышало показатели группы контроля и у этих пациентов не были найдены адНК в диагностически значимых титрах; об отсутствии повышения титров адНК при кожных формах красной волчанки сообщают и другие авторы [31]. При ДКВ уровни адНК, IL-6, TNF- α не отличались от показателей здоровых лиц; у пациентов констатировано увеличение содержания ЦИК и IL-1 β . Концентрация сывороточного IL-1 β была достоверно выше на всех стадиях ДКВ по отношению к контролю при отсутствии достоверной разницы в показателях цито-

кина на разных стадиях заболевания. Сходные данные сообщаются другими авторами [60].

Совокупность полученных результатов указывает на важную роль нарушений маркеров апоптоза нейтрофилов, их метаболических дисфункций, а также изменений в системе провоспалительных цитокинов в иммунопатогенезе ДКВ. Активация окислительного взрыва нейтрофилов в виде увеличения спонтанной экспрессии активных форм кислорода на фоне снижения индуцированной продукции, резервных функций и угнетения лизосомальных функций фагоцита сопровождается увеличением экспрессии проапоптотических белков нейтрофила, ЦИК и IL-1 β . Однако деструктивный потенциал нейтрофила при этом заболевании, вероятно, не настолько велик, чтобы вызвать повреждение ДНК фагоцита с развитием иммунной реакции в виде продукции антител к ДНК и в результате – классического системного аутоиммунного процесса – СКВ. Это подтверждается результатами настоящего исследования ДНК нейтрофилов при ДКВ, показатели которого не отличались от аналогичных данных здоровых лиц. Кроме того, у больных ДКВ уровни IL-6 и TNF- α – провоспалительных цитокинов, играющих важную роль в развитии системного процесса [45], не превышали значений здоровых людей, что, на наш взгляд, существенно ограничивало развитие системного процесса при ДКВ.

Иные результаты были получены при обследовании больных СКВ. В частности, у пациентов было констатировано повышение числа CD95⁺ нейтрофилов на фоне снижения количества ДНК клеток. С нарастанием активности СКВ число CD95⁺ клеток достоверно возрастало ($p < 0,05$) на фоне недостоверного уменьшения количества ДНК фагоцитов ($p > 0,05$). Клинико-иммунологический анализ данных позволил установить, что поражения сосудов, почек и синдром Рейно протекали на фоне существенного повышения количества CD95⁺ нейтрофилов и снижения – ДНК клеток. Поражения кожи и суставов не сопровождались существенными изменениями экспрессии проапоптотического антигена и числа ДНК клеток.

У больных СКВ установлены иные взаимосвязи маркеров апоптоза с функциями нейтрофилов и цитокинами, чем при ДКВ. В частности, установлены обратные корреляционные связи количества ДНК нейтрофилов со спонтанной продукцией активных форм кислорода, активацией лизосом, уровнем провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6. По описанным взаимосвязям сходства ДКВ и СКВ нет, тогда как различия очевидны и достаточно разнообразны.

Как активация, так и ингибция процессов апоптоза нейтрофилов при различных формах красной волчанки может быть следствием дисбаланса указанных процессов. Повышение программированной гибели клеток связывается с эффектами провоспалительных цитокинов [70], оксидантов, лизосомальных ферментов [39, 47, 50, 69, 86], источником которых могут быть сами нейтрофилы, действием ряда других факторов. В ряде работ показано, что TNF- α , IL-8 и ГМ-КСФ праймируют нейтрофилы, приводя к активации мембранной НАДФ оксидазы [70, 86].

При исследовании показателей кислородзависимого метаболизма нейтрофилов было продемонстрировано увеличение показателей окислительного стресса нейтрофилов по данным теста спонтанной хемилюминесценции в большей степени при СКВ, нежели при ДКВ, на фоне уменьшения показателей индуцированной хемилюминесценции и коэффициента активации клеток, что указывает на интенсификацию процессов «дыхательного взрыва», происходящего в нейтрофилах при аутоиммунной патологии, с одной стороны, и вместе с тем – на снижение резервных функций фагоцитов – с другой. Аналогичные данные, преимущественно при СКВ, приводят другие исследователи [59]. Эти данные дополнительно подтверждают значимость высокого деструктивного потенциала нейтрофилов в отношении собственной ДНК при СКВ в результате ЦИК- и цитокинопосредованной активации мембранной НАДФ оксидазы с гиперпродукцией активных форм кислорода, в конечном итоге приводя к истощению резервных возможностей полиморфноядерных лейкоцитов.

Продукция активных форм кислорода нейтрофилами у больных СКВ возрастала с нарастанием активности заболевания на фоне снижения резерв-

ных функций фагоцитов, тогда как активность лизосом не отражала выраженности воспалительного процесса. Продемонстрировано снижение индуцированной выработки активных форм кислорода нейтрофилами при суставном синдроме. Напротив, поражения кожи характеризовались более высокими показателями индуцированной продукции активных форм кислорода нейтрофилами, тогда как синдром Рейно отличался достоверным увеличением как спонтанной, так и индуцированной их выработки.

Активность лизосом, отражающая переваривающие функции нейтрофила [21], была существенно снижена в спонтанном тесте как при СКВ, так и при ДКВ, однако глубина этого снижения была выражена значительно больше при СКВ. Вместе с тем не отмечалось существенной разницы в показателях активированного лизосомального теста и коэффициентов активации нейтрофилов у пациентов обеих групп по сравнению с группой контроля, что указывало на относительную сохранность резервных и переваривающих функций фагоцита при различных формах красной волчанки. Кроме того выраженное снижение спонтанной активности лизосом с нарушением переваривающей способности свидетельствует о потенциальной неспособности нейтрофила выполнять функции клиренса в отношении деградированной ДНК, ЦИК и других биологически активных молекул.

Результаты исследования продемонстрировали отсутствие статистически достоверной разницы в показателях спонтанного, активированного лизосомального теста и коэффициента активации лизосом у больных с минимальной и умеренной степенями активности СКВ. В то же время кислородзависимый метаболизм у больных СКВ с увеличением активности патологического процесса характеризовался существенным возрастанием спонтанной продукции активных форм кислорода на фоне тенденции к уменьшению индуцированной продукции и резервных функций фагоцитов.

Анализ метаболических функций нейтрофилов в зависимости от клинических проявлений СКВ позволил установить, что поражения кожи, суставов,

сосудов, и почек не сопровождалась существенными изменениями показателей лизосомального теста за исключением синдрома Рейно, при котором увеличивалась активированная активность лизосом.

Более выраженные изменения при СКВ претерпевал кислородзависимый метаболизм полиморфноядерных лейкоцитов. В частности, суставной синдром и поражения кожи характеризовались снижением индуцированной продукции активных форм кислорода, синдром Рейно – существенным увеличением спонтанного и индуцированного окислительного стресса нейтрофилов. Зависимость клинических проявлений СКВ от метаболических функций нейтрофилов показана и другими авторами [59, 61].

Корреляционный анализ позволил установить у больных СКВ существование прямых связей продукции активных форм кислорода по данным теста спонтанной хемилюминесценция нейтрофилов с количеством ДНК клеток, антител к ДНК, уровнем ЦИК, IL-6 и показателями спонтанного лизосомального теста нейтрофилов. Это указывает на общность процессов активации процессов окислительного стресса полиморфноядерных лейкоцитов при ДКВ и СКВ ЦИК и провоспалительными цитокинами. Переваривающие функции нейтрофилов при СКВ по данным спонтанного лизосомального теста прямо зависели от количества ДНК нейтрофилов и провоспалительного цитокина TNF- α .

Что касается сети исследованных провоспалительных цитокинов, то при СКВ было установлено более значимое увеличение уровня сывороточного IL-1 β , чем при ДКВ. В противоположность данным при ДКВ, при СКВ провоспалительный потенциал цитокинов был значительно шире и мощнее за счет существенного повышения содержания IL-6 и TNF- α . На патогенетическое значение уровня IL-6 в развитии СКВ указывают и другие авторы [24, 45, 117].

Достоверное увеличение содержания ЦИК выявлено как при СКВ, так и при ДКВ, тогда как уровень СРБ и антител к ДНК – только у больных СКВ, что согласовывается с данными литературы [29, 172, 237]. Следует отметить, что

вопрос об уровне ЦИК, антител к ДНК, СРБ и цитокинов при СКВ освещен достаточно широко, о чем свидетельствует ряд исследований [20, 42, 60, 113, 187]. В меньшей мере этот вопрос изучался при ДКВ, причем ряд работ в этом направлении носит противоречивый и дискуссионный характер [34, 190].

Значимость конкретных цитокинов в развертывании клинических проявлений СКВ иллюстрируется повышением уровня IL-6 и IL-1 β у больных с кожным синдромом и синдромом Рейно, а IL-6 и TNF- α – с синдромом Рейно. Нарастание активности СКВ характеризовалось увеличением содержания IL-1 β и антител к ДНК. Поражение почек протекало на фоне существенного повышения уровня CD95⁺ нейтрофилов, поражения сосудов, почек, синдром Рейно – на фоне уменьшения количества ДНК нейтрофилов. Для поражений суставов и почек типичным было снижение уровня ЦИК. О зависимости клинических проявлений СКВ от содержания цитокинов, антител к ДНК, СРБ и ЦИК сообщают и некоторые другие авторы [20, 29, 40, 113].

Поиск взаимосвязей уровня провоспалительных цитокинов с иными исследованными лабораторными показателями позволил установить при СКВ наличие прямых связей содержания IL-1 β со спонтанной продукцией активных форм кислорода нейтрофилами, уровнем антител к ДНК, ЦИК, TNF- α , ДНК нейтрофилов, а TNF- α – со спонтанной и индуцированной активацией респираторного взрыва нейтрофилов, уровня ЦИК, IL-1 β , спонтанной активацией лизосом нейтрофилов [51, 61].

В развитии ИКВ и СКВ, как было показано выше, важную роль играют триггерные факторы внешней среды, генетическая предрасположенность, состояние нейроэндокринной и иммунной систем. Дефекты элиминации иммунных комплексов, наблюдающиеся почти у 90% больных СКВ [110, 172], являются следствием снижения количества рецепторов для CR1 комплемента и функциональных нарушений поверхностных рецепторов фагоцитов с уменьшением фагоцитоза в фазе адгезии и рецепции [150], что приводит к значительному снижению фагоцитарных показателей как при СКВ, так и ИКВ.

Вместе с тем, согласно полученным данным, и при СКВ, и при ИКВ наблюдается усиление спонтанной продукции нейтрофилами активных форм кислорода, обладающих мощным гистодеструктивным действием. Возрастание кислородзависимого метаболизма циркулирующих фагоцитов при СКВ, как показали проведенные исследования, носит ЦИК-, аДНК- и цитокинопосредованный характер. В условиях недостаточности антиоксидантной защиты при СКВ: супероксиддисмутазы, каталазы, глутатион-пероксидазы [149], АФК вызывают серьезные клеточные и тканевые поражения с образованием ДНК-модифицированных антигенов [153, 220], обладающих повышенной иммуногенностью. Вместе с тем несостоятельность переваривающей способности нейтрофилов по данным лизосомального теста, констатированная как при ДКВ, так и более выраженная при СКВ, определяет незавершенность фагоцитоза, низкую эффективность клиренса, длительную персистенцию ДНК-модифицированных антигенов и хроническое течение СКВ.

Обобщая результаты исследований маркеров апоптоза нейтрофилов, их метаболических функций, уровней провоспалительных цитокинов, ЦИК и антител к ДНК следует отметить наличие как сходства, так и различий в изученных показателях у больных СКВ и ДКВ. Как при ДКВ, так и при СКВ отмечалось увеличение экспрессии на нейтрофилах проапоптотного антигена (белка) CD95⁺, однако выраженность этого процесса была выше при СКВ. В то же время количество ДНК нейтрофилов было снижено исключительно при СКВ, определяя кардинальные различия по этому показателю между ДКВ и СКВ, а также ряд ключевых моментов в развитии системного процесса при СКВ в результате готовности клеток к апоптозу. Увеличение апоптоза нейтрофилов при СКВ констатируют и другие авторы [82, 95, 214, 223, 177, 205]. Высказывается мнение, что процессы апоптоза и удаления апоптотных клеток являются ключевыми в этиологии СКВ [177]. При наличии высокого уровня аутоантител к ДНК при СКВ фагоцитоз ядер клеток, подвергшихся

апоптозу, может привести к развитию воспалительной реакции при этом заболевании.

Различия в иммунопатогенезе ДКВ и СКВ заключались в повышении содержания при СКВ антител к ДНК, IL-6, TNF- α на фоне снижения количества ДНК нейтрофилов суммарно по четырем показателям. Значительно чаще, по 7 показателям, наблюдалось сходство иммунологических показателей при ДКВ и СКВ в виде увеличения уровней IL-1 β , ЦИК, спонтанной продукции активных форм кислорода нейтрофилами на фоне снижения индуцированной продукции и показателей резервных функций нейтрофилов, повышения экспрессии CD95⁺ антигена на нейтрофилах.

Следует отметить, что у больных СКВ, получавших или не получавших в силу разных причин поддерживающую терапию ГКС, количество CD95 нейтрофилов, спонтанная продукция активных форм кислорода, уровни ЦИК, аДНК и цитокинов в сыворотке крови были достоверно выше, а число ДНК клеток и спонтанная лизосомальная активность ниже, чем у здоровых лиц. В то же время у больных, не получавших ГКС, содержание CD95⁺ нейтрофилов было ниже, а концентрация сывороточных ЦИК, аДНК и цитокинов, кислородзависимый метаболизм нейтрофилов и их лизосомальная активность – выше, чем у пациентов, получавших эти препараты.

Анализируя результаты изучения корреляционных взаимосвязей при ДКВ и СКВ с точки зрения их сходства и различий следует отметить, что только при ДКВ наблюдалась обратная корреляция между содержанием CD95⁺ нейтрофилов и спонтанной активацией их лизосом. При СКВ были выявлены иные взаимосвязи: обратная связь количества ДНК нейтрофилов с окислительным стрессом нейтрофилов в тесте спонтанной хемилюминесценции, уровня IL-1 β , IL-6 – с активацией лизосом в индуцированном тесте. Таким образом, принципиально сходства взаимосвязей маркеров апоптоза нейтрофилов и исследованных иммунологических показателей у больных ДКВ и СКВ отмечено не было, тогда как различия были весьма существенными.

Кислородзависимый метаболизм фагоцитов при ДКВ характеризовался наличием прямых связей показателей спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов с уровнем ЦИК, IL-1 β , IL-6, TNF- α , индуцированной хемилюминесценции – с TNF- α , а также обратных связей данных индуцированной хемилюминесценции – с содержанием ЦИК и IL-6.

У больных СКВ показатели спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов прямо коррелировали с количеством антител к ДНК, уровнем ЦИК, IL-1 β , IL-6, TNF- α и спонтанной активацией лизосом нейтрофилов. Сходство взаимосвязей окислительного стресса нейтрофилов при ДКВ и СКВ заключалось только в существовании прямой связи между продукцией активных форм кислорода клетками с уровнем ЦИК и ЦИК, IL-1 β , IL-6, TNF- α .

Различия в связях показателей кислородзависимого метаболизма нейтрофилов с другими исследованными иммунологическими показателями при ДКВ заключались в том, что были обнаружены обратные корреляции индуцированной продукции активных форм кислорода с уровнем ЦИК и IL-6, а прямые корреляции – определяемой по данным индуцированной хемилюминесценции продукции активных форм кислорода – с уровнем TNF- α . Иные связи установлены у больных СКВ. Так, спонтанная хемилюминесценция нейтрофилов прямо коррелировала с содержанием антител к ДНК и показателями спонтанного лизосомального теста.

При исследовании взаимосвязей кислороднезависимого метаболизма нейтрофилов с иными иммунологическими показателями сходства ДКВ и СКВ обнаружено не было. Различия констатированы по двум взаимосвязям: по прямой корреляции коэффициента активации клеток в лизосомальном тесте с уровнем TNF- α у больных ДКВ и по прямой связи показателей спонтанного лизосомального теста нейтрофилов с количеством ДНК нейтрофилов, TNF- α .

Что касается сходства взаимосвязей уровня ЦИК и цитокинов с прочими исследованными лабораторными показателями при ДКВ и СКВ, то они заключались в существовании прямых связей содержания IL-1 β с IL-6 и об-

ратных – уровня TNF- α с показателями спонтанного лизосомального теста нейтрофилов. Различия при ДКВ выражались в наличии прямой связи уровня IL-6 с содержанием ЦИК и TNF- α , а при СКВ – прямой связи уровня IL-1 β с показателями спонтанной хемилюминесценцией нейтрофилов, количеством антител к ДНК, уровнем ЦИК, TNF- α , ДНК нейтрофилов, а содержание TNF- α – с данными спонтанной и индуцированной хемилюминесценцией нейтрофилов, уровнем ЦИК, IL-1 β , спонтанным лизосомальным тестом нейтрофилов.

Таким образом, как при СКВ, так и при ДКВ имеются многочисленные и разнообразные взаимосвязи маркеров апоптоза нейтрофилов, их метаболических функций, а также уровня провоспалительных цитокинов. Констатированы немногочисленные черты сходства указанных корреляций у больных ДКВ и СКВ, преимущественно связанные с кислородзависимым метаболизмом нейтрофилов и содержанием провоспалительных цитокинов на фоне значительного преобладания разнообразных различий в корреляционных связях при этих заболеваниях.

Обсуждая полученные результаты, следует подчеркнуть увеличение количества маркеров апоптоза нейтрофилов как при ДКВ, так и при СКВ на фоне снижения числа ДНК фагоцитов только при СКВ. На активизацию процессов апоптоза при СКВ, в том числе индуцированного сывороткой крови пациентов, указывают и другие авторы [85, 177]. СКВ в настоящее время рассматривается не только как результат нарушений адаптивного иммунитета, но и как результат серьезных нарушений в системе врожденного иммунитета, в связи с чем нейтрофил изучается на современном уровне развития иммунологии именно с этих позиций [159, 160]. Не вызывает сомнений, что абберантность этой клетки способна не только инициировать патологический процесс, но и определять его хронизацию, а в ряде случаев – клинические проявления, на что справедливо указывает ряд авторов [159, 183]. Один из ключевых моментов в патогенезе СКВ – деградация ДНК с увеличением ее антиген-

ности в результате усиления окислительного стресса нейтрофилов. По данным настоящей работы, снижение ДНК нейтрофилов происходило только при СКВ, но не при ДКВ, что определяло при системном процессе развертывание классического аутоиммунного заболевания с его глубиной, тяжестью и полиорганностью поражений. В связи с изложенным представляет интерес исследование P. J. Roberts, D. A. Isenberg, A. W. Segal [207], в котором была показана более высокая эффективность деградации бактериальной ДНК фагоцитами, изолированными от больных СКВ, чем от лиц с ДКВ.

Как было нами показано, при ДКВ и при СКВ имелись определенные универсальные отклонения в маркерах апоптоза и метаболической активности нейтрофилов, системе провоспалительных цитокинов. Однако при ДКВ не наблюдались главные компоненты иммунопатогенеза, свойственные СКВ – интенсивное повреждение ДНК и формирование соответствующих антител. Эти обстоятельства определяют целесообразность существующего выделения кожных (интегументных) форм красной волчанки и СКВ как самостоятельных нозологических форм.

Проведенными исследованиями были продемонстрированы также разнообразные многогранные взаимосвязи между собой маркеров апоптоза, метаболических функций нейтрофилов, уровня ЦИК, аутоантител, провоспалительных цитокинов. Эти данные могут иметь практическое значение как с точки зрения применения новых дополнительных лабораторных диагностических приемов, в том числе для дифференциации ДКВ и СКВ, так и для поиска мишеней терапевтических воздействий. Показано, в частности, что NADPH оксидаза, запуская окислительный взрыв нейтрофила, тем не менее, в эксперименте на мышцах ингибировала развитие волчаночного процесса, что делает этот фермент важной мишенью для дальнейшего изучения в качестве кандидата для терапевтического вмешательства [103].

Среди диффузных болезней соединительной ткани аутоиммунного характера, помимо красной волчанки, особое внимание привлекает склеро-

дермия, которая, как и красная волчанка, протекает в кожной форме (ОСД) или с вовлечением в системный патологический процесс ряда внутренних органов (ССД). Этиология и патогенез этих заболеваний до сих пор не ясны, открытыми остаются вопросы о переходе ОСД в ССД, о клинико-лабораторных критериях дифференциальной диагностики и патогенетически обоснованной терапии обеих форм склеродермии.

В последние годы в литературе широко обсуждается роль апоптоза в развитии ряда патологических процессов, в том числе аутоиммунных болезней, включая склеродермию [84, 108, 232], однако по вопросу о состоянии апоптоза нейтрофилов и механизмах его регуляции у больных ОСД и ССД данные литературы немногочисленны и противоречивы [13, 73, 126]. Учитывая эти обстоятельства, в задачи настоящего исследования вошло исследование особенностей апоптоза нейтрофилов и его взаимосвязей с рядом иммунологических показателей и уровнем провоспалительных цитокинов при ограниченных и системных формах склеродермии.

Изучение маркеров апоптоза у больных ОСД и ССД показало достоверное увеличение количества CD95⁺ нейтрофилов по сравнению с аналогичными данными здоровых лиц при отсутствии существенной разницы в показателях в обеих группах пациентов. Увеличение экспрессии проапоптотного антигена проходило на фоне снижения количества ДНК нейтрофилов как при ОСД, так и при ССД по сравнению с данными здоровых лиц, причем при ССД этот показатель был достоверно меньше, чем при ОСД. Увеличение уровня маркеров апоптоза нейтрофилов при ОСД и ССД, свидетельствующее о готовности клеток к ускоренной программируемой гибели и о способности нейтрофилов вызывать усиление апоптоза иных клеток, в частности эндотелиальных, отмечают и другие авторы [126], указывая на патогенетически важную роль в этом процессе IL-6 и обосновывая дальнейшее его изучение как терапевтической мишени при склеродермии.

Установлено, что с увеличением активности патологического процесса у больных ССД количество CD95⁺ нейтрофилов и их ДНК не претерпевало существенных изменений. Число CD95⁺ нейтрофилов возрастало при поражениях почек и синдроме Рейно на фоне снижения количества ДНК в нейтрофилах.

Корреляционный анализ взаимосвязей маркеров апоптоза с метаболической активностью нейтрофилов, уровнем ЦИК и цитокинов продемонстрировал при ОСД наличие прямых связей количества ДНК нейтрофилов с индуцированной выработкой активных форм кислорода этими клетками и индуцированной активностью лизосом, а при ССД – только с индуцированной активностью лизосом нейтрофилов. Эти данные свидетельствуют об участии при ОСД как кислородзависимых, так и кислороднезависимых метаболических механизмов в снижении числа ДНК нейтрофилов, а при ССД – только кислороднезависимых.

При исследовании лизосомальной активности нейтрофилов было установлено снижение спонтанных показателей как при ОСД, так и при ССД на фоне отсутствия существенной разницы в показателях обеих групп пациентов, а также в данных индуцированных тестов и коэффициентов активации.

Продукция активных форм кислорода нейтрофилами по данным спонтанного теста хемилюминесценции у больных ОСД и ССД была увеличена по сравнению с данными контрольной группы, однако разницы во всех показателях окислительного стресса нейтрофилов у больных между обеими группами пациентов выявлено не было. Аналогичные результаты приводят и другие авторы [63]. В последние годы интерес исследователей к вопросу о роли окислительного стресса в формировании фиброза существенно возрос [178, 184, 193, 216] не только для дальнейшего изучения патогенеза склеродермии, но и для поиска новых целей терапевтического воздействия при этом заболевании [177]. Не было установлено достоверной разницы в показателях кислородзависимого и кислороднезависимого метаболизма нейтрофилов у боль-

ных ССД с минимальной и умеренной активностью патологического процесса и в зависимости от клинических проявлений заболевания, за исключением поражения почек, при которых возрастала продукция активных форм кислорода по данным спонтанного теста хемиллюминесценции на фоне существенного снижения коэффициента активации нейтрофилов.

Повышение содержания сывороточного IL-1 β было установлено у больных ОСД и ССД с превышением при ССД аналогичного показателя у пациентов с ОСД. Увеличение уровня TNF- α и ЦИК отмечалось как при ССД, так и при ОСД при отсутствии разницы между показателями в обеих группах пациентов. Показано также увеличение содержания IL-1 β , IL-6, TNF- α и ЦИК у больных с умеренной активностью процесса по сравнению с минимальной ($p < 0,05$). Аналогичные данные приводят К. Kurzinski и К. S. Torok [165].

Повышенное содержание IL-1 β было выявлено у больных с синдромом Рейно и с поражениями почек, TNF- α – с поражением почек. Уровень ЦИК был выше у больных с поражениями суставов и почек.

Следовательно, у больных ОСД и ССД установлены выраженные изменения маркеров апоптоза нейтрофилов, их метаболических функций, уровней провоспалительных цитокинов. Констатированы различия ОСД и ССД по двум показателям в виде повышения при ССД уровня провоспалительного цитокина IL-1 β на фоне снижения количества ДНК нейтрофилов.

Сходство иммунологических показателей при ОСД и ССД встречалось чаще (8 показателей), выражаясь в увеличении экспрессии CD95⁺ антигена на нейтрофилах, в повышении уровней IL-1 β , TNF- α , ЦИК, спонтанной продукции активных форм кислорода нейтрофилами на фоне снижения резервных функций фагоцитов, спонтанной активации лизосом.

Корреляционный анализ исследованных показателей показал, что при ОСД и ССД имеются многочисленные и разнообразные взаимосвязи маркеров апоптоза нейтрофилов, их кислородзависимых и кислороднезависимых функций, а также уровня провоспалительных цитокинов. Констатированы немно-

гочисленные черты сходства (по трем связям) у больных ОСД и ССД в виде прямых взаимных коррелятивных связей содержания провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, TNF- α , ЦИК с активацией кислородзависимого метаболизма, а количества ДНК нейтрофилов – с индуцированной активностью лизосом фагоцитов. Различия в корреляционных связях при ОСД и ССД преобладали (7 связей) и касались при ОСД прямой связи ДНК нейтрофилов с индуцированной выработкой активных форм кислорода фагоцитами, прямой связи спонтанной продукции активных форм кислорода с уровнем провоспалительного цитокина IL-6, прямой взаимосвязи содержания IL-1 β – с уровнем IL-6, а IL-6 – с коэффициентом активации лизосом.

При ССД констатированы вполне закономерные прямые связи спонтанной продукции активных форм кислорода с уровнем IL-1 β , TNF- α и показателями активации лизосом нейтрофилов, обратные связи показателей спонтанного окислительного взрыва нейтрофилов – со спонтанной активацией лизосом, прямая связь уровня IL-1 β с содержанием ЦИК.

Таким образом, программируемая гибель нейтрофилов играет важную роль в иммунопатогенезе различных форм красной волчанки и склеродермии. Характер и выраженность этого процесса зависят от метаболических функций нейтрофилов, уровня ЦИК, аутоантител, провоспалительных цитокинов и клинических проявлений заболеваний. Продемонстрированы разнообразные многогранные и обширные взаимосвязи апоптоза нейтрофилов с кислородзависимыми и кислороднезависимыми функциями фагоцитов, иммунологическими показателями, уровнем провоспалительных цитокинов при кожных и системных формах красной волчанки и склеродермии. Полученные данные позволяют уточнить элементы иммунопатогенеза ДКВ, СКВ, ОСД, ССД, дать рекомендации по использованию новых подходов к лабораторной диагностике этих болезней с точки зрения дифференциации ДКВ и СКВ, ОСД и ССД, а также наметить перспективные мишени (нейтрофил и его метаболическая активность, цитокины) терапевтического воздействия.

ВЫВОДЫ

1. При дискоидной и системной красной волчанке увеличено количество CD95+ нейтрофилов на фоне снижения числа ДНК клеток только у больных системной красной волчанкой. Нарастание активности, синдром Рейно, поражения сосудов и почек при системной красной волчанке характеризуются увеличением числа CD95+ нейтрофилов со снижением уровня ДНК фагоцитов. При дискоидной и системной красной волчанке повышен окислительный стресс нейтрофилов, более выраженный при системной красной волчанке, который возрастает с нарастанием активности заболевания, при синдроме Рейно и поражениях кожи и снижается при суставном синдроме, на фоне уменьшения резервных функций фагоцитов. При дискоидной, и в большей мере при системной красной волчанке снижена активность лизосом, увеличена их индуцированная активность при синдроме Рейно. При дискоидной и системной красной волчанке повышено содержание сывороточного интерлейкина-1 β , более значимое при у больных системной красной волчанкой на фоне увеличения у них уровня интерлейкина-6 и фактора некроза опухоли- α .
2. У больных дискоидной красной волчанкой продемонстрирована обратная взаимосвязь между количеством CD95+ нейтрофилов и спонтанной активностью лизосом, прямая связь спонтанного окислительного стресса нейтрофилов с уровнем интерлейкина-1 β и -6, циркулирующих иммунных комплексов, фактора некроза опухоли- α . Резервные функции нейтрофилов в окислительном стрессе при дискоидной красной волчанке характеризовались обратной связью с содержанием циркулирующих иммунных комплексов и интерлейкина-6, прямой – с уровнем фактора некроза опухоли- α ; выявлена обратная связь содержания фактора некроза опухоли- α с активацией лизосом, прямая – с резервными функциями

лизосом нейтрофилов, прямая – уровня интерлейкина-6 с содержанием циркулирующих иммунных комплексов, интерлейкина-1 β и фактора некроза опухоли- α . У больных системной красной волчанкой установлена обратная связь количества CD95+ нейтрофилов с активацией лизосом, обратные взаимосвязи между уровнем ДНК нейтрофилов, спонтанной продукцией активных форм кислорода нейтрофилами, содержанием интерлейкина-1 β , интерлейкина-6 и активацией лизосом. Спонтанный окислительный стресс при системной красной волчанке был обратно связан с количеством антител к ДНК, уровнем циркулирующих иммунных комплексов, интерлейкина-1 β , интерлейкина-6, фактора некроза опухоли- α , спонтанной активностью лизосом; спонтанная активность лизосом нейтрофилов прямо коррелировала с уровнем фактора некроза опухоли- α и ДНК клеток. При системной красной волчанке установлены прямые взаимосвязи уровня интерлейкина-1 β со спонтанным окислительным стрессом нейтрофилов, количеством антител к ДНК, числом ДНК клеток, содержанием циркулирующих иммунных комплексов, интерлейкина-6, фактора некроза опухоли- α ; прямые корреляции содержания фактора некроза опухоли- α – со спонтанной активностью лизосом, показателями окислительного стресса нейтрофилов, уровнем циркулирующих иммунных комплексов, интерлейкина-1 β .

3. При ограниченной и системной склеродермии число CD95+ нейтрофилов увеличено на фоне снижения уровня ДНК клеток при системной склеродермии, особенно при поражениях почек и синдроме Рейно. У всех пациентов интенсифицирован окислительный стресс нейтрофилов на фоне снижения резервных функций клеток, наиболее выраженный при почечном синдроме, уменьшена лизосомальная активность фагоцитов. Содержание сывороточного интерлейкина-1 β , фактора некроза опухоли- α и С-реактивного белка увеличено у всех пациентов; при этом уровень интерлейкина-1 β и С-реактивного белка повышен более значи-

тельно у больных системной склеродермией. Продemonстрировано нарастание уровней интерлейкина-1 β , интерлейкина-6, фактора некроза опухоли- α – с увеличением активности системной склеродермии, повышение уровня интерлейкина-1 β при синдроме Рейно и поражениях почек, фактора некроза опухоли- α – при поражении почек.

4. У больных ограниченной склеродермией установлены положительные корреляции уровня ДНК нейтрофилов с показателями индуцированного окислительного стресса нейтрофилов и активацией лизосом, показателей спонтанной продукции активных форм кислорода нейтрофилами – с уровнем циркулирующих иммунных комплексов и интерлейкина-6, -1 β – с содержанием интерлейкина-6 и фактора некроза опухоли- α . Продemonстрированы прямые корреляционные связи уровня интерлейкина-1 β с содержанием интерлейкина-6 и фактора некроза опухоли- α , а интерлейкина-6 – с уровнем фактора некроза опухоли- α и с резервными функциями лизосом нейтрофилов. При системной склеродермии констатированы прямые связи между количеством ДНК нейтрофилов и активацией лизосом, спонтанной продукцией активных форм кислорода нейтрофилами – с уровнем фактора некроза опухоли- α , интерлейкина-1 β , циркулирующих иммунных комплексов и активацией лизосом, интерлейкина-1 β – с содержанием циркулирующих иммунных комплексов и фактора некроза опухоли- α , а интерлейкина-6 – с уровнем фактора некроза опухоли- α ; установлена также обратная корреляция показателей спонтанной продукции активных форм кислорода со спонтанной активностью лизосом.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для дифференциации дискоидной и системной красной волчанки в качестве дополнительного лабораторного теста рекомендуется определять уровень ДНК нейтрофилов, сниженный при системной красной волчанке.
2. Диагностику активности системной красной волчанки целесообразно проводить по данным определения количества CD95⁺ нейтрофилов, увеличивающегося по мере ее нарастания, поражений сосудов, почек и синдрома Рейно – по нарастанию числа CD95⁺ нейтрофилов и снижению уровня ДНК клеток.
3. В качестве дополнительного лабораторного теста, дифференцирующего ограниченную и системную склеродермию, рекомендуется использовать определение количества ДНК нейтрофилов, сниженного при системной склеродермии.
4. Диагностику активности системной склеродермии целесообразно проводить по данным определения уровня интерлейкина-1 β , интерлейкина-6, фактора некроза опухоли- α и циркулирующих иммунных комплексов, увеличивающегося по мере ее нарастания. Почечный синдром при системной склеродермии может быть диагностирован при увеличении количества CD95⁺ нейтрофилов на фоне уменьшения числа ДНК клеток, возрастании продукции активных форм кислорода на фоне снижения резервных функций нейтрофилов, повышении уровня интерлейкина-1 β , фактора некроза опухоли- α и циркулирующих иммунных комплексов. При синдроме Рейно рекомендуется определять содержание интерлейкина-1 β и интерлейкина-6, которое повышено у больных системной склеродермией.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

аДНК	антитела к ДНК
аЛТ	активированный лизосомальный тест
АНФ	антинуклеарный фактор
АРА	Американская ревматологическая ассоциация
АФК	активные формы кислорода
АФС	антифосфолипидный синдром
ВИЧ	вирус иммунодефицита человека
ГКС	глюкокортикостероиды
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ДБСТ	диффузные болезни соединительной ткани
ДКВ	дискоидная красная волчанка
ЖКТ	желудочно-кишечный тракт
ИКВ	интегументные (кожные) формы красной волчанки
КА	коэффициент активации
ИФН	интерферон
ИФА	иммуноферментный анализ
Лм	люминол
Нф	нейтрофилы
ОСД	ограниченная склеродермия
СКВ	системная красная волчанка
сЛТ	спонтанный лизосомальный тест
СОД	супероксиддисмутаза
СОЭ	скорость оседания эритроцитов
СРБ	С-реактивный белок
ССД	системная склеродермия
сХЛ	спонтанная хемилюминесценция фагоцитов

иХЛ	индуцированная хемилюминесценция фагоцитов
ЦИК	циркулирующие иммунные комплексы
ЦНС	центральная нервная система
CD	cluster differentiation (кластер дифференцировки клеток)
ECLAM	European Consensus Lupus Activity Measurement – Европейское соглашение по определению активности волчанки
Fc	антиген-несвязывающий фрагмент молекулы иммуноглобулина
Fc γ R	рецептор к фрагменту Fc иммуноглобулина G
IL	интерлейкин
HLA	human leukocyte antigens – антигены лейкоцитов человека
Ig	иммуноглобулин
SLEDAI	systemic lupus erythematosus disease activity index – индекс активности системной красной волчанки
TNF- α	фактор некроза опухоли α
AKR	Американская коллегия ревматологии

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алекперов, Р. Г. Фактор некроза опухоли альфа при системной склеродермии / Р. Г. Алекперов, А. В. Тимченко, Е. Л. Насонов // Клиническая медицина. — 2003. — № 12. — С. 4—7.
2. Алекперов, Р. Т. Ассоциации уровня С-реактивного белка с клиническими проявлениями при системной склеродермии / Р. Г. Алекперов, А. А. Баранов, Н. Е. Абайтова // Терапевт. арх. — 2006. — Т. 78, № 6. — С. 34—35.
3. Алекперов, Р. Т. Лечение ССД / Р. Г. Алекперов // Современная ревматология. — 2011. — № 3. — С. 18—24.
4. Алекперов, Р. Т. Синдром Рейно в практике терапевта / Р. Г. Алекперов, М. Н. Старовойтова // РМЖ. — 2010. — Т. 18, № 27. — С. 695—700.
5. Алекперов, Р. Т. Статины при системной склеродермии / Р. Т. Алекперов, Е. Г. Любимова // Медицинский совет. — 2008. — № 5—6. — С. 57—60.
6. Александрова, Е. Н. Инновационные технологии в лабораторной диагностике ревматических заболеваний / А. В. Александров, Е. Л. Насонов // Науч.-практ. ревматология — 2010. — № 2. — С. 13—20.
7. Ананьева, Л. П. Ранняя системная склеродермия — современный алгоритм диагностики (лекция) / Л. П. Ананьева // Науч.-практ. ревматология. — 2012. — № 2. — С. 87—93.
8. Антитела к условно-патогенным микроорганизмам у больных ревматическими заболеваниями / В. А. Романов, Э. В. Малафеева, М. Ю. Гульнева, А. Ю. Кулибин // Фундаментальные исследования. — 2011. — № 3. — С. 57—60.
9. Апоптоз нейтрофилов / А. Н. Маянский, Н. А. Маянский, М. И. Заславская [и др.] // Иммунология. — 1999. — № 6. — С. 11—20.
10. Асеева, Е. А. Современные методы оценки активности системной красной волчанки / Е. А. Асеева, С. К. Соловьев, Е. Л. Насонов // Науч.-практ. ревматология. — 2013. — № 2 (51). — С. 186—200.

11. Ахмеров, С. Ф. Системная красная волчанка: вчера и сегодня / С. Ф. Ахмеров // Ревматология. Нефрология. Травматология. — 2008. — Т. 1, № 25. — С. 19—25.
12. Боровиков, В. П. STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов. — 2-е изд. / В. П. Боровиков. — СПб. : Питер, 2003. — С. 146—184.
13. Взаимосвязь показателей функциональной активности и апоптоза нейтрофилов у больных системной красной волчанкой и системной склеродермией / М. В. Ильин, В. В. Чмырь, О. А. Хрусталева, В. А. Романов // Иммунология. — 2008. — Т. 29, № 4. — С. 229—232.
14. Волков, А. В. Дисфункция эндотелия при системной склеродермии — клиничко-патогенетические корреляции / А. В. Волков, Э. С. Мач, Н. Г. Гусева // Терапевт. арх. — 2008. — Т. 80, № 10. — С. 68—72.
15. Волков, А. В. Комментарии к рекомендациям eular по лечению системной склеродермии / А. В. Волков // Современная ревматология. — 2009. — № 3. — С. 4—7.
16. Волнухин, В. А. О роли профиброзных цитокинов в патогенезе локализованной склеродермии / В. А. Волнухин, Н. Л. Мурадян, О. Р. Катунина // Вестн. дерматологии и венерологии. — 2012. — Т. 1. — С. 6.
17. Волнухин, В. А. Особенности нарушений Т-клеточных иммунных процессов в коже больных ограниченной склеродермией и их динамика в процессе УФА-1-терапии / В. А. Волнухин, Н. Л. Мурадян, О. Р. Катунина // Вестн. дерматологии и венерологии. — 2009. — № 6. — С. 74—80.
18. Гусева, Н. Г. Системная склеродермия — мультидисциплинарная проблема / Н. Г. Гусева // Науч.-практ. ревматология. — 2011. — № 2. — С. 10—14.
19. Гусева, Н. Г. Системная склеродермия: ранняя диагностика и прогноз / Н. Г. Гусева // Науч.-практ. ревматология. — 2007. — № 1. — С. 39—45.
20. Диагностическое значение цитокинов при системной красной волчанке / Е. Ю. Гусев, Д. В. Иванов, Л. А. Соколова, Л. Н. Камкина // Уральский мед. журн. — 2009. — Т. 56, № 2. — С. 78—82.

21. Долгушин, И. И. Нейтрофилы и гомеостаз / И. И. Долгушин, О. В. Бухарин. — Екатеринбург : УрО РАН, 2001. — 40 с.
22. Изучение функционального состояния фагоцитов человека (кислородзависимый метаболизм и подвижность клеток) / В. М. Земсков, А. А. Барсуков, С. А. Безносенко [и др.] // Экологическая иммунология / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин, Х. И. Истамов. — М. : ВНИРО, 1995. — С. 154—162.
23. Интегральный подход к оценке течения системной воспалительной реакции при ревматических заболеваниях / Д. В. Иванов, Л. А. Соколова, Е. Ю. Гусев [и др.] // Вестн. Уральской медицинской академической науки. — 2011. — Т. 2, № 34. — С. 55—58.
24. Информативность определения ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИФН- γ в сыворотке крови при системной красной волчанке / А. А. Тотолян, Т. Г. Шемеровская, С. В. Лапин [и др.] // Клин. лаб. диагностика. — 2009. — № 2. — С. 42—43.
25. Караулов, А. В. Иммунология, микробиология и иммунопатология кожи / А. В. Караулов, С. А. Быков, А. С. Быков. — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. — 328 с.
26. Караулов, А. В. Исследование изменений апоптоза лимфоцитов и гранулоцитов периферической крови у пациентов с хроническим обструктивным бронхитом на фоне комплексной терапии с включением полиоксидония / А. В. Караулов, Н. Е. Самойлов, Д. В. Кокушков // Иммунология. — 2007. — Т. 28, № 2. — С. 93—95.
27. Карнаухов, В. Н. Люминесцентный анализ клеток / В. Н. Карнаухов. — Пушино, 2002. — С. 128—129.
28. Кароли, Н. А. Эндотелиальная дисфункция у пациентов с системной склеродермией / Н. А. Кароли, А. П. Ребров, Е. Е. Орлова // Клин. медицина. — 2006. — № 7. — С. 28—31.
29. Клинико-диагностическое значение выявления антинуклеарного фактора, антител к двуспиральной ДНК и кардиолипину у больных системной красной волчанкой / А. А. Тотолян, Т. Г. Шемеровская, С. В. Лапин [и др.] // Клин. лаб. диагностика. — 2008. — № 5. — С. 44—47.

30. Клинико-патогенетическое значение определения показателей функциональной активности и апоптоза нейтрофилов у больных системной красной волчанкой / М. В. Ильин, П. А. Мальцева, Е. В. Речкина, Н. И. Коршунов // *Практ. медицина.* — 2011. — № 52. — С. 101—103.
31. Клиническая иммунология и аллергология : в 3-х т. / под ред. Л. Йегера. — М. : Медицина, 1990. — Т. 3. — 528 с.
32. Клиническое значение определения профибrogenных факторов у больных системной склеродермией / Е. А. Долгова, О. В. Бугрова, Р. И. Сайфутдинов [и др.] // *Вестн. Уральской медицинской науки.* — 2012. — Т. 41, № 4. — С. 109.
33. Комментарии к рекомендациям Европейской антиревматической лиги по ведению больных системной красной волчанкой / Т. М. Решетняк, Т. А. Лисицина, Н. М. Кошелева, Е. Л. Насонов // *Современная ревматология.* — 2008. — № 3. — С. 8—17.
34. Кряжева, С. С. Диссеминированная красная волчанка с начальными признаками перехода в системную / С. С. Кряжева, А. С. Ромашкина // *Рос. журн. кожных и венерических болезней.* — 2009. — № 4. — С. 48—53.
35. Кулибин, А. Ю. Антитела к некоторым энтеробактериям у больных системной красной волчанкой / А. Ю. Кулибин, Н. П. Шилкина, В. А. Романов // *Рос. иммунологический журн.* — 2008. — Т. 2, № 11. — С. 144.
36. Куц, А. А. Изменения свойств хроматина клеток печени в ранние сроки после частичной гепатэктомии / А. А. Куц, В. А. Колесников, А. В. Зеленин // *Молекулярная биология.* — 1975. — Т. 9, № 1. — С. 138—144.
37. Методология изучения системного воспаления / Е. Ю. Гусев, Л. Н. Юрченко, В. А. Черешнев, Н. В. Зотова // *Цитокины и воспаление.* — 2008. — Т. 7, № 1. — С. 15—23.
38. Микроспектрофлуориметрическое изучение нуклеиновых кислот клеток лимфоидного ряда / М. М. Колесников, И. С. Брит, В. Г. Бордонос, И. Н. Моргунов // *Иммунология и аллергология.* — 1978. — № 12. — С. 17—21.

39. Модуляция апоптоза мононуклеаров в условиях окислительного стресса / В. В. Новицкий, Н. В. Рязанцева, Н. Ю. Часовских [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 2008. — № 3. — С. 251—254.
40. Нагорнова, К. А. Некоторые профиброгенные цитокины при системной красной волчанке и их прогностическое значение / К. А. Нагорнова, О. В. Бугрова // Мед. вестн. Башкортостана. — 2011. — Т. 6, № 5. — С. 74—77.
41. Насонов, Е. Л. Новые возможности фармакотерапии ревматических болезней — ингибирование интерлейкина-6 / Е. Л. Насонов // Клин. фармакология и терапия. — 2008. — Т. 17, № 1. — С. 2—8.
42. Насонов, Е. Л. Современные технологии и перспективы лабораторной диагностики ревматических заболеваний / Е. Л. Насонов, Е. Н. Александрова // Терапевт. арх. — 2010. — Т. 83, № 5. — С. 5—9.
43. Насонова, В. А. Ревматические заболевания в Российской Федерации в начале XXI века глазами статистики / Е. Л. Насонов, О. М. Фоломеева, Ш. Ф. Эрдес // Терапевт. арх. — 2007. — № 12. — С. 5—12.
44. Насонова, В. А. Системная красная волчанка / Е. Л. Насонов. — М. : Медицина, 1972. — С. 246.
45. Невская, Т. А. Интерлейкин-6 при РА и СКВ / Т. А. Невская, Т. А. Рязанцева, С. М. Иванова // Рос. ревматология. — 1998. — № 4. — С. 35—42.
46. Перспективы применения антигенных наносистем в диагностике и лечении воспалительных ревматических заболеваний / А. В. Александров, И. П. Гонтарь, И. Ю. Алехина, А. Б. Зборовский // Терапевт. арх. — 2009. — Т. 81, № 5. — С. 48—51.
47. Пути реализации апоптоза лимфоцитов человека, индуцированного УФ-светом и активными формами кислорода / В. Г. Артюхов, М. С. Трубицына, М. А. Наквасина [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2011. — Т. 51, № 4. — С. 425—443.

48. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. — М. : Медиасфера, 2006. — С. 69—74.
49. Регуляторная роль оксида азота в апоптозе нейтрофилов / Е. А. Степовая, Т. В. Жаворонок, Ю. В. Стариков [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 2008. — № 12. — С. 646—650.
50. Редокс-зависимая регуляция апоптоза: адаптивная роль активных форм апоптоза при окислительном стрессе / Н. В. Рязанцева, В. В. Новицкий, Н. Ю. Часовских [и др.] // Рос. физиологический журн. им. И. М. Сеченова. — 2008. — Т. 94, № 6. — С. 710—718.
51. Рекун, А. Л. Показатели апоптоза лимфоцитов периферической крови у больных системной красной волчанкой с впервые установленным диагнозом / А. Л. Рекун // Белорусский медицинский журн. — 2005. — № 2. — С. 71—73.
52. Рецепторные каспазозависимый и каспазозависимый пути апоптоза, индуцированного УФ-излучением в лимфоцитах человека / М. Г. Артюхов, М. А. Наквасина, М. С. Трубицына [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2009. — Т. 49, № 4. — С. 432—437.
53. Решетняк Т. М., Середавкина Н. В., Насонов Е. Л. Поражение сердца при антифосфолипидном синдроме: состояние проблемы на рубеже XXI века. // Медицина неотложных состояний. — 2010. — Т. 1, № 26. — С. 10.
54. Рогова, И. В. Факторы риска неблагоприятного течения системной красной волчанки / И. В. Рогова, С. В. Моисеев, Л. В. Козловская // Клин. фармакология и терапия. — 2009. — Т. 18, № 1. — С. 65—70.
55. Роль аутоантител к ксантинооксидазе в развитии иммунопатологических реакций при воспалительных ревматических заболеваниях / А. В. Александров, И. Ю. Алехина, Л. Н. Шилова [и др.] // Аллергология и иммунология. — 2009. — Т. 10, №2. — С. 220.

56. Роль редокс-зависимых сигнальных систем в регуляции апоптоза при окислительном стрессе / Н. В. Рязанцева, В. В. Новицкий, Н. Ю. Часовских [и др.] // Цитология. — 2009. — Т. 51, № 4. — С. 329—334.
57. Романова, Н. В. Интерлейкины-1 бета, 4, 6 и фактор некроза опухоли альфа у больных ограниченной и системной формами склеродермии / Н. В. Романова, Н. П. Шилкина, Н. Ю. Ильяной // Иммунология. — 2006. — Т. 27, № 2. — С. 101—104.
58. Романова, Н. В. Кислороднезависимые функции нейтрофилов при различных формах системной склеродермии / Н. В. Романова, Н. П. Шилкина, М. Н. Семичева // Иммунология. — 2005. — Т. 26, № 2. — С. 108—110.
59. Романова, Н. В. Оксидативный стресс фагоцитов у больных дискоидной и системной красной волчанкой / Н. В. Романова, Н. П. Шилкина // Рос. журн. кожных и венерических болезней. — 2005. — № 2. — С. 22—26.
60. Романова, Н. В. Сравнительная характеристика иммунологических тестов в дифференциации системных и кожных форм красной волчанки / Н. В. Романова, Н. П. Шилкина // Терапевт. арх. — 2009. — Т. 81, № 4. — С. 40—41.
61. Романова, Н. В. Функциональные свойства циркулирующих фагоцитов при различных формах красной волчанки / Н. В. Романова, Н. П. Шилкина, М. Н. Семичева // Иммунология. — 2005. — Т. 26, №3. — С. 172—175.
62. Системная склеродермия: современные аспекты проблемы / А. Б. Малахов, В. Г. Давтян, Н. А. Геппе [и др.] // Consilium Medicum. — 2006. — № 2. — С. 62—68.
63. Сравнительная характеристика показателей кислородзависимого метаболизма и апоптоза нейтрофилов при некоторых ревматологических заболеваниях / М. В. Ильин, Д. В. Розанов, В. В. Чмырь, В. А. Романов // Иммунология. — 2009. — № 5. — С. 267.
64. Сравнительный анализ системной воспалительной реакции при ревматических заболеваниях / Д. В. Иванов, Л. А. Соколова, Е. Ю. Гусев [и др.] // Уральский мед. журн. — 2011. — № 06. — С. 100—104.

65. Старовойтова, М. Н. Комплексная терапия сосудистых нарушений у больных системной склеродермией / М. Н. Старовойтова, О. В. Десинова, А. В. Волков // Современная ревматология. — 2009. — № 2. — С. 73—77.
66. Старовойтова, М. Н. Поражение кожи при системной склеродермии / М. Н. Старовойтова // Науч.-практ. ревматология. — 2010. — № 2. — С. 83—86.
67. Характеристика клинико-иммунологических показателей у детей с ювенильным ревматоидным артритом и ювенильной склеродермией / Л. М. Беляева, Е. К. Хрусталева, Е. А. Колупаева [и др.] // Кардиология в Беларуси. — 2009. — Т. 4, № 3. — С. 55—63.
68. Хроническое системное воспаление как типовой патологический процесс / Е. Ю. Гусев, Л. Н. Юрченко, В. А. Черешнев [и др.] // Цитокины и воспаление. — 2008. — Т. 7, № 4. — С. 3—10.
69. Часовских, Н. Ю. Апоптоз и окислительный стресс / Н. Ю. Часовских, Н. В. Рязанцева, В. В. Новицкий. — Томск : Печатная мануфактура, 2009. — С. 148 .
70. Чечина, О. Е. Роль цитокинов в редокс-зависимой регуляции апоптоза / О. Е. Чечина, А. К. Биктасова, Е. В. Сазонова // Бюл. Сибирской медицины. — 2009. — Т. 8, № 2. — С. 67—71
71. Шилова, Л. Н. Антитела к ферментам пуринового метаболизма как один из факторов эндогенной регуляции энзиматической активности при системной склеродермии / Л. Н. Шилова, И. П. Гонтарь, И. А. Зборовская // Вестн. Санкт-Петербургского университета. — 2011. — № 4. — С. 42—47.
72. Эволюция Т-клеточных парадигм при иммунозависимых заболеваниях / А. В. Караулов, О. В. Калюжин, И. В. Евсегнеева [и др.] // Аллергология и иммунология. — 2011. — Т. 12, № 2. — С. 196—198.
73. Экспрессия факторов окислительного стресса и апоптоза нейтрофилов при развитии дисфункции миокарда у больных системной красной волчанкой и системной склеродермией / М. В. Ильин, П. А. Мальцева,

- А. С. Волкова [и др.] // *Фундаментальные исследования*. — 2011. — № 9. — С. 73—75.
74. Эффекты индукторов интерферона на экспрессию генов-регуляторов апоптоза в лимфоцитах человека / Т. М. Соколова, Т. П. Оспельникова, Л. В. Колодяжная, А. Н. Шувалов // *Цитокины и воспаление*. — 2011. — № 2. — С. 75—81.
75. Юнонин, И. Е. Маркеры активации эндотелия при системной красной волчанке / И. Е. Юнонин, С. В. Бутусова, Н. П. Шилкина // *Цитокины и воспаление*. — 2011. — Т. 10, № 1. — С. 26—29.
76. A role for IL-18 in human neutrophil apoptosis / J. Hirata, J. Kotani, M. Aoyama [et al.] // *Shock*. — 2008. — Vol. 30, № 6. — P. 628—633.
77. A three-year follow-up study of the development of joint contractures in 131 patients with systemic sclerosis / Z. Bálint, H. Farkas, N. Farkas [et al.] // *Clin. Exp. Rheumatol.* — 2014. — Vol. 86, № 6. — P. 68—74.
78. Al-Dhaheer, F. F. Determinants and mortality of systemic sclerosis in Canada / F. F. Al-Dhaheer, J. E. Pope, J. M. Quimet // *Sem. Arthr. Rheum.* — 2010. — Vol. 39, № 4. — P. 269—277.
79. Allanore, Y. Systemic sclerosis and cardiac dysfunction: evolving concepts and diagnostic methodologies / Y. Allanore, C. Meune, A. Kahan // *Curr. Opin. Rheumatol.* — 2008. — Vol. 20, № 6. — P. 697—702.
80. Altered redox state and apoptosis in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus / D. Shah, S. Sah, A. Wanchu [et al.] // *Immunobiology*. — 2013. — Vol. 218, № 4. — P. 620—627.
81. Anolik J. H. B cell biology: implications for treatment of systemic lupus erythematosus. // *Lupus*. — 2013. — Vol. 22, № 4. — P. 342—349.
82. Apoptosis and NET formation in the pathogenesis of SLE / Y. M. Bouts, D. F. Wolthuis, M. F. Dirx [et al.] // *J. Autoimmunity*. — 2012. — Vol. 45, № 8. — P. 597—601.
83. Apoptosis in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus / L. E. Munoz, C. van Bavel, S. Franz [et al.] // *Lupus*. — 2008. — May; 17 (5). — P. 371—375.

84. Apoptotic molecular mechanisms implicated in autoimmune diseases / F. Cacciapaglia, C. Spadaccio, M. Chello [et al.] // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sei.* — 2009. — Vol. 13. — P. 23—40.
85. Armstrong, D. Accelerated apoptosis in SLE neutrophils cultured with anti-dsDNA antibody isolated from SLE patient serum: a pilot study / D. Armstrong, A. Crockard, B. Wisdom // *Rheumatol. Int.* — 2006. — Vol. 27, № 2. — P. 153—156.
86. Arruda, M. NADPH oxidase activity: In the crossroad of neutrophil life and death / M. Arruda, C. Barja-Fidalgo // *Front Biosci.* — 2009. — Vol. 14. — P. 45—46.
87. Association of a single nucleotide polymorphism in the SH2D1A intronic region with systemic lupus erythematosus / H. Furukawa, A. Kawasaki, S. Oka [et al.] // *Lupus.* — 2013. — Vol. 22, № 5. — P. 497—503.
88. Association of C-reactive protein with high disease activity in systemic sclerosis: results from the Canadian Scleroderma Research Group / C. Muangchan, S. Harding, S. Khimdas [et al.] // *Arthritis Care Res.* — 2012. — Vol. 64, № 9. — P. 1405—1414.
89. Association of elevated transcript levels of interferon-inducible chemokines with disease activity and organ damage in systemic lupus erythematosus patients / Q. Fu, X. Chen, H. Cui [et al.] // *Arthritis. Res. Ther.* — 2008. — Vol. 10, № 5. — P. 112.
90. Association of FAS gene polymorphisms with systemic lupus erythematosus: A case-control study and meta-analysis / M. M. Lu, Q. L. Ye, C. C. Feng [et al.] // *Exp. Ther. Med.* — 2012. — Vol. 4, № 3. — P. 497—502.
91. Association study of CRP gene in systemic sclerosis in European Caucasian population / J. Wipff, P. Dieudé, J. Avouac [et al.] // *Rheumatol. Int.* — 2014. — Vol. 34, № 3. — P. 389—392.
92. Autoantibodies and microvascular damage are independent predictive factors for the progression of Raynaud's phenomenon to systemic sclerosis: a twenty

- year prospective study of 586 patients, with validation of proposed criteria for early systemic sclerosis / M. Koenig, F. Joyal, M. J. Fritzler [et al.]. // *Arthr. Rheum.* — 2008. — Vol. 58. — P. 3902—3912.
93. Autoantibodies to the functionally active RING-domain of Ro52/SSA are associated with disease activity in patients with lupus / M. Kvarnström, V. Dzikaite-Ottosson, L. Ottosson [et al.]. // *Lupus.* — 2013. — Vol. 22, № 5. — P. 477—485.
94. Autoantibodies to xantine oxidase as marker of immunological disorders in systemic lupus erythematosus / I. Y. Alekhina, E. V. Maslova-Sorokina, A. V. Alexandrov [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* — 2009. — Vol. 68, № 3. — P. 729.
95. Autoimmunity and chronic inflammation Two clearance-related steps in the etiopathogenesis of SLE / L. E. Muñoz, C. Janko, C. Schulze [et al.]. // *Autoimmun. Rev.* — 2010. — Vol. 10, № 1. — P. 38—42.
96. Bauer, R. Nucleophagocytosis in monocytes an immunocytologic phenomenon of anti-DNA-antibodies / R. Bauer, R. Schütz // *Hautarzt.* — 1979. — Mar., 30 (3). — P. 134—139.
97. Belot, A. Monogenic forms of systemic lupus erythematosus: new insights into SLE pathogenesis / A. Belot, R. Cimaz // *Pediatr. Rheumatol. Online J.* — 2012. — Vol. 10, № 1. — P. 21.
98. Bhattacharyya, S. Understanding fibrosis in systemic sclerosis: shifting paradigms, emerging opportunities / S. Bhattacharyya, J. Wei, J. Varga // *Nat. Rev. Rheumatol.* — 2011. — Vol. 8, № 1. — P. 42—54.
99. Black, C. M. Progress in systemic sclerosis: a 10-year perspective / C. M. Black, M. Matucci-Cerinic, L. Guillevin // *Rheumatology (Oxford).* — 2009. — Vol. 48. — P. 1—2.
100. Boin, F. Autoimmunity in systemic sclerosis: current concepts / F. Boin // *Curr. Rheumatol. Rep.* — 2007. — Vol. 9, № 2. — P. 165—172.
101. Boin, F. Connective tissue diseases: immunosuppressive therapy in SSc: what is the target? / F. Boin, F. Wigley // *Nat. Rev. Rheumatol.* — 2009. — Vol. 5. — P. 357—358.

102. Braga, M. Cytokines and Anxiety in Systemic Lupus Erythematosus patients not receiving antidepressant medication / M. Braga, F. Mota-Garsia // *Ann. of New York Academy of Science*. — 2010. — Vol. 1173. — P. 286—291.
103. Campbell, A. M. NADPH oxidase inhibits the pathogenesis of systemic lupus erythematosus / A. M. Campbell, M. Kashgarian, M. J. Shlomchik // *Sci. Transl. Med.* — 2012. — Oct 24; Vol. 4 (157). — P. 141—157.
104. Cárdenas-Roldán, J. How do autoimmune diseases cluster in families? A systematic review and meta-analysis / J. Cárdenas-Roldán, A. Rojas-Villarraga, J. M. Anaya // *BMC Med.* — 2013. — № 11. — P. 73.
105. Cardiovascular disease in systemic sclerosis / F. Cannarile, V. Valentini, G. Mirabelli [et al.] // *Ann. Transl. Med.* — 2015. — Vol. 3, № 1. — P. 8.
106. Catastrophic antiphospholipid syndrome triggered by fulminant disseminated herpes simplex infection in a patient with systemic lupus erythematosus / C. Catoggio, A. Alvarez-Uría, P. L. Fernandez [et al.] // *Lupus*. — 2012. — Vol. 21, № 12. — P. 1359—1361.
107. Caza, T. Interplay of infections, autoimmunity, and immunosuppression in systemic lupus erythematosus / T. Caza, Z. Oaks, A. Perl // *Int. Rev. Immunol.* — 2014. — Vol. 33, № 4. — P. 330—363.
108. Chapin, R. Imaging of scleroderma / R. Chapin, F. N. Hant // *Rheum. Dis. Clin. North Am.* — 2013. — Vol. 39, № 3. — P. 515—546.
109. Choi, J. The pathogenesis of systemic lupus erythematosus—an update / J. Choi, S. T. Kim, J. Craft // *Curr. Opin. Immunol.* — 2012. — Vol. 24, № 6. — P. 651—657.
110. Chronic active Epstein — Barr virus infection mimicking autoimmune hepatitis exacerbation in a patient with systemic lupus erythematosus / H. Yamashita, A. Shimizu, H. Tsuchiya [et al.] // *Lupus*. — 2014. — Vol. 23, № 8. — P. 833—836.
111. Clinical burden of digital vasculopathy in limited and diffuse cutaneous systemic sclerosis / S. Nihtyanova, G. Brough, C. Black [et al.] // *Ann. Rheumatic Diseases*. — 2008. — Vol. 67. — P. 120—123.

112. Clinical usefulness of measuring red blood cell distribution width in patients with systemic sclerosis / N. Farkas, A. Szabó, V. Lóránd [et al.] // *Rheumatology*. — 2014. — Vol. 53, № 8. — P. 1439—1445.
113. Connolly, J. J. Role of cytokines in systemic lupus erythematosus: recent progress from GWAS and sequencing / J. J. Connolly, H. Hakonarson // *J. Biomed. Biotechnol.* — 2012. — Vol. 2012. — P. 1.
114. Control of apoptosis in autoimmunity / E. Maniati, P. Potter, N. Rogers [et al.] // *J. Pathol.* — 2008. — Vol. 214, № 2. — P. 190—198.
115. CXCL10 (alpha) and CCL2 (beta) chemokines in systemic sclerosis a longitudinal study / A. Antonelli, C. Ferri, P. Fallahi [et al.]. // *Rheumatology*. — 2008. — Vol. 47, № 1. — P. 45—49.
116. Dale, D. The phagocytes: neutrophils and monocytes / D. Dale, L. Boxer, W. Liles // *Blood*. — 2008. — Vol. 112, № 4. — P. 935—945.
117. Davis, L. S. The role of cytokines in the pathogenesis and treatment of systemic lupus erythematosus / L. S. Davis, J. Hutcheson, C. Mohan // *Cytokine Res.* — 2011. — Vol. 31, № 10. — P. 781—789.
118. Decreased apopto-phagocytic gene expression in the macrophages of systemic lupus erythematosus patients / G. Majai, E. Kiss, T. Tarr [et al.] // *Lupus*. — 2014. — Feb; 23 (2). — P. 133—145.
119. Dema, B. Advances in mechanisms of systemic lupus erythematosus / B. Dema, N. Charles // *Discov. Med.* — 2014. — May; 17 (95). — P. 247—255.
120. Demas, K. L. Disparities in lupus care and outcomes / K. L. Demas, K. H. Costenbader // *Curr. Opin. Rheumatol.* — 2009. — Vol. 21, № 2. — P. 102—109.
121. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE / C. Bombardier, D. D. Gladman, M. B. Urowitz [et al.] // *Arthritis Rheum.* — 1992. — Vol. 35, № 6. — P. 630—640.
122. Distinctive effects of G-CSF, GM-CSF and TNF-alpha on neutrophil apoptosis in systemic lupus erythematosus / D. J. Armstrong, E. M. Whitehead,

- A. D. Crockard, A. L. Bell // *Clin. Exp. Rheumatol.* — 2005. — Mar-Apr., 23 (2). — P. 152—158.
123. Does C-reactive protein predict the long-term progression of interstitial lung disease and survival in patients with early systemic sclerosis? / X. Liu, M. D. Mayes, C. Pedroza [et al.] // *Arthritis Care Res.* — 2013. — Vol. 65, № 8. — P. 1375—1380.
124. Early systemic sclerosis: marker autoantibodies and videocapillaroscopy patterns are each associated with distinct clinical, functional and cellular activation markers / G. Valentini, A. Marcocchia, G. Cuomo [et al.] // *Arthritis Res. Ther.* — 2013. — Vol. 15, № 3. — P. 63.
125. Emilie, D. Interleukin 10 in disseminated lupus erythematosus / D. Emilie // *J. Soc. Biol.* — 2002. — Vol. 196 (1). — P. 19—21.
126. Endothelial activation and apoptosis mediated by neutrophil-dependent interleukin 6 trans-signalling: a novel target for systemic sclerosis? / T. C. Barnes, D. G. Spiller, M. E. Anderson [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* — 2011. — Feb, 70 (2). — P. 366—372.
127. EULAR recommendation for the treatment of systemic sclerosis: a report from the EULAR scleroderma trials and research group (EUROSTAR) / O. Kowal-Bielecka, R. Landewe, J. Avouac [et al.] // *Rheumatology (Oxford)*. — 2010. — Vol. 49, № 2 — P. 368—372.
128. EULAR recommendations for the management of Systemic Lupus Erythematosus. Report of a Task Force of the European Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics / G. K. Bertsias, J. P. A. Ioannidis, S. Bombardieri [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* — 2008. — Vol. 67. — P. 195—205.
129. European League Against Rheumatism recommendations for monitoring patients with systemic lupus erythematosus in clinical practice and in observational studies / M. Mosca, C. Tani, M. Aringer [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* — 2010. — Vol. 69, № 7. — P. 1269—1274.

130. Exercise delays neutrophil apoptosis by a G-CSF dependent mechanism / F. C. Mooren, K. Völker, R. Klocke [et al.] // *J. Appl. Physiol.* — 2012. — Vol. 113, № 7. — P. 1082—1090.
131. Exercise in systemic sclerosis intensifies systemic inflammation and oxidative stress / H. Hargardóttir, H. A. van Helvoort, M. C. Vonk [et al.]. // *Scand. J. Rheumatol.* — 2010. — Vol. 39, № 1. — P. 63—70.
132. Fibroblast-specific perturbation of transforming growth factor beta signaling provides insight into potential pathogenic mechanisms of scleroderma-associated lung fibrosis: exaggerated response to alveolar epithelial injury in a novel mouse model / R. Hoyles, K. Khan, X. Shiwen [et al.] // *Arthr. and Rheum.* — 2008. — Vol. 58, № 4. — P. 1175—1183.
133. Fibrosing connective tissue disorders of the skin: Molecular similarities and distinctions / J. Canady, S. Karrer, M. Fleck, A. K. Bosserhoff // *J. Dermatol. Sci.* — 2013. — Vol. 7, № 3. — P. 151—158.
134. Fortin, C. Autocrine role of endogenous interleukin-18 on inflammatory cytokine generation by human neutrophils / C. Fortin, T. Ear, P. McDonald // *FASEB J.* — 2009. — Vol. 23, № 1. — P. 194—203.
135. Frieri, M. Mechanisms of disease for the clinician: systemic lupus erythematosus / M. Frieri // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* — 2013. — Vol. 110, № 4. — P. 228—232.
136. Fuschiotti, P. Role of IL-13 in systemic sclerosis / P. Fuschiotti // *Cytokine.* — 2011. — Dec; 56 (3). — P. 544—549.
137. Gabrielli, A. Scleroderma / A. Gabrielli, E. V. Awedimento, T. Krieg // *N. Engl. J. Med.* — 2009. — Vol. 360. — P. 1989—2003.
138. Garza-Rodríguez, V. Scleroderma: an update on the pathogenesis and treatment / V. Garza-Rodríguez, M. A. Villarreal-Alarcón, J. Ocampo-Candiani // *J. Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc.* — 2013. — Vol. 51, № 1. — P. 50—57.
139. Genomic alterations in abnormal neutrophils isolated from adult patients with systemic lupus erythematosus / N. Singh, P. Traisak, K. A. Martin [et al.] // *Arthritis Res. Ther.* — 2014. — Aug 8; 16 (4). — P. 165.

140. Gilliam, A. Scleroderma / A. Gilliam // *Curr. Dir. Autoimmun.* — 2008. — № 10. — P. 258—579.
141. Gonzalez-Lopez, M. A. Pathogenesis and therapeutic approaches for improved topical treatment in localized scleroderma and systemic scleroderma / M. A. Gonzalez-Lopez // *Oxf. Rheumatol.* — 2009. — Vol. 48, № 3. — P. 213—221.
142. Hansen, A. Developments in lupus 2006 / A. Hansen, F. Hiepe, T. Doerner // *Arthritis Res. Ther.* — 2007. — Vol. 9, № 4. — P. 215.
143. Hasegawa, M. The roles of chemokines in leukocyte recruitment and fibrosis in systemic sclerosis / M. Hasegawa, S. Sato // *Front. Biosci.* — 2008. — Vol. 13. — P. 3637—3647.
144. Human neutrophil peptides upregulate expression of COX-2 and endothelin-1 by inducing oxidative stress / F. Syeda, E. Tullis, A. S. Slutsky, H. Zhang // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* — 2008. — Vol. 294, № 6. — P. 2769—2774.
145. Human papillomavirus vaccine and systemic lupus erythematosus / M. L. Gatto, N. Agmon-Levin, A. Soriano [et al.] // *Clin. Rheumatol.* — 2013. — Vol. 32, № 9. — P. 1301—1307.
146. Hunzelmann, N. What are the milestones in the pathogenesis of systemic sclerosis? / N. Hunzelmann, J. Brinckmann // *Ann. Rheum. Dis.* — 2010. — Vol. 69. — P. 52—56.
147. Immune-complex phagocytosis by human polymorphonuclear granulocytes / L. Molnár, J. M. Baló-Banga, A. Horváth [et al.] // *Acta. Physiol. Acad. Sci. Hung.* — 1978. — Vol. 52 (1). — P. 33—39.
148. Immunization with hepatitis B vaccine accelerates SLE-like disease in a murine model / N. Agmon-Levin, M. T. Arango, S. Kivity [et al.] // *J. Autoimmun.* — 2014. — № 54. — P. 21—32.
149. Immunological studies of reactive oxygen species damaged catalase in patients with systemic lupus erythematosus: correlation with disease activity index / H. A. Al-Shobaili, A. A. Al Robaee, A. A. Alzolibani, Z. Rasheed // *Immunol. Invest.* — 2013. — Vol. 42, № 3. — P. 191—203.

150. Increased apoptotic neutrophils and macrophages and impaired macrophage phagocytic clearance of apoptotic neutrophils in systemic lupus erythematosus / Y. Ren, J. Tang, M. Y. Mok [et al.] // *Arthritis Rheum.* — 2003. — Oct; 48 (10). — P. 2888—2897.
151. Increased apoptotic peripheral blood neutrophils in systemic lupus erythematosus: relations with disease activity, antibodies to double stranded DNA, and neutropenia / P. A. Courtney, A. D. Crockard, K. Williamson [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* — 1999. — May; 58 (5). — P. 309—314.
152. Increased Fas and Bcl-2 expression on peripheral mononuclear cells from patients with active juvenile-onset systemic lupus erythematosus / B. L. Liphaut 1, M. H. Kiss, S. Carrasco, C. Goldenstein-Schainberg // *J. Rheumatol.* — 2007. — Vol. 34, № 7. — P. 1580—1584.
153. Increased level of lipid peroxidation products and disturbances in oxidation-reduction balance in erythrocytes from patients suffering from systemic sclerosis, who are chronically treated with vitamin E / K. Dworniak, P. Duchnowicz, M. Koter-Michalak [et al.] // *Pol. Merkur Lekarski.* — 2013. — Vol. 206, № 35. — P. 85—88.
154. Interferon alpha in Systemic Lupus Erythematosus / T. Niewold, N. D. Clark, R. Salloum, D. B. Poole // *J. of Biomedicine and Biotechnology.* — 2012. — Vol. 2012. — P. 1—8.
155. Interleukin-6: a new therapeutic target in systemic sclerosis? / S. O'Reilly, R. Cant, M. Ciechomska, J. M. van Laar // *Clin. Transl. Immunology.* — 2013. — Apr; 2 (4). — P. 4.
156. Is there a cure for systemic lupus erythematosus? / C. Rosario, L. Seguro, C. Vasconcelos, Y. Shoenfeld // *Lupus.* — 2013. — Vol. 22, № 5. — P. 417—421.
157. Kahaleh, B. Vascular disease in scleroderma: mechanisms of vascular injury / B. Kahaleh // *Rheum. Dis. Clin. North Am.* — 2008. — Vol. 34. — P. 57—71.
158. Kaiser, R. Risk and protective factors for thrombosis in systemic lupus erythematosus: results from a large, multi-ethnic cohort / R. Kaiser, C. M. Cle-

- veland, L. A. Criswell // *Ann. Rheum. Dis.* — 2009. — Vol. 68, № 2. — P. 238—241.
159. Kaplan M. J. Neutrophils in the pathogenesis and manifestations of SLE / M. J. Kaplan // *Nat. Rev. Rheumatol.* — 2011. — Vol. 7, № 12. — P. 691—699.
160. Kaplan, M. J. Role of neutrophils in systemic autoimmune diseases / M. J. Kaplan // *Arthritis Res Ther.* — 2013. — Oct. 2; 15 (5). — P. 219.
161. Kim, A. Photosensitivity in cutaneous lupus erythematosus / A. Kim, B. F. Chong // *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* — 2013. — Vol. 29, № 1. — P. 4—11.
162. Knight, J. S. Lupus neutrophils: 'NET' gain in understanding lupus pathogenesis / J. S. Knight, M. J. Kaplan // *Curr. Opin. Rheumatol.* — 2012. — Vol. 24, № 5. — P. 441—450.
163. Krammer, P. H. CD95's deadly mission in the immune system / P. H. Krammer // *Nature.* — 2000. — Vol. 407. — P. 789—795.
164. Kumar, V. Neutrophils: Cinderella of innate immune system / V. Kumar, A. Sharma // *Int. Immunopharmacol.* — 2010. — Vol. 10, № 11. — P. 1325—1334.
165. Kurzinski, K. Cytokine profiles in localized scleroderma and relationship to clinical features / K. Kurzinski, K. S. Torok // *Arthritis Res. Ther.* — 2011. — Vol. 13 (1). — P. 202.
166. Lechner, J. RANTES and fibroblast growth factor 2 in jawbone cavitations: triggers for systemic disease? / J. Lechner, V. von Baehr // *Int. J. Gen. Med.* — 2013. — Vol. 22, № 6. — P. 277—290.
167. Lewis, J. E. Autoimmunity, end organ damage, and the origin of autoantibodies and autoreactive T cells in systemic lupus erythematosus / J. E. Lewis, S. M. Fu, F. Gaskin // *Discov. Med.* — 2013. — Vol. 15, № 81. — P. 85—92.
168. Lieberman, L. A. The IL-2 defect in Systemic Lupus Erythematosus disease has an expansive effect on host immunity / L. A. Lieberman, G. Tsocos // *J. of Biomedicine and Biotechnology.* — 2010. — Vol. 201. — P. 50—55.

169. Lupus and leprosy: beyond the coincidence / F. M. Ribeiro, V. E. Gomez, E. M. Albuquerque [et al.] // *Immunol. Res.* — 2015. — Vol. 61, № 1. — P. 160—163.
170. Lupus erythematosus cells in the cutaneous lesion of overlap syndrome of dermatomyositis-SLE-like disease / M. W. Lee, J. H. Choi, K. J. Sung [et al.] // *Am. J. Dermatopathol.* — 2003. — Jun; 25 (3). — P. 272—274.
171. Macrophages and angiogenesis in rheumatic diseases / N. Maruotti, T. Annese, F. P. Cantatore, D. Ribatti // *Vasc. Cell.* — 2013. — Vol. 5, № 1. — P. 11.
172. Madeley, A. M. Systemic lupus erythematosus / A. M. Madeley // *Pract. Midwife.* — 2013. — Vol. 16, № 4. — P. 21—25.
173. Male microchimerism and HLA-compatibility in French women with scleroderma: a difficult profile in limited and diffuse subset / J. Rak, P. Pagni, T. Tiev [et al.] // *Rheumatology.* — 2009. — Vol. 48, № 4. — P. 363—366.
174. Marshall, J. C. Modulating neutrophil apoptosis / J. C. Marshall, Z. Malam, S. Jia // *J. Appl. Physiol.* — 2012. — Vol. 280. — P. 53—66.
175. McCracken, J. M. Regulation of human neutrophil apoptosis and lifespan in health and disease / J. M. McCracken, L. A. Allen // *J. Cell. Death.* — 2014. — May 8, № 7. — Vol. 15—23.
176. Muangchant, C. The significance of interleukin-6 and C-reactive protein in systemic sclerosis: a systematic literature review / C. Muangchant, J. E. Pope // *Clin. Exp. Rheumatol.* — 2013. — Vol. 76, № 2. — P. 122—134.
177. Muñoz, L. E. The role of incomplete clearance of apoptotic cells in the etiology and pathogenesis of SLE / L. E. Muñoz, K. Lauber, M. Schiller // *Z. Rheumatol.* — 2010. — Vol. 69, № 2. — P. 152—156.
178. NADPH oxidase enzymes in skin fibrosis: molecular targets and therapeutic agents / O. Babalola, A. Mamalis, H. Lev-Tov, J. Jagdeo // *Arch. Dermatol. Res.* — 2014. — May, 306 (4). — P. 313—330.
179. Nakajima, K. Esophageal transit scintigraphy and structured questionnaire in patients with systemic sclerosis with endoscopically proven reflux esopha-

- gitis / K. Nakajima, A. Inaki, T. Hiramatsu // *Ann. Nucl. Med.* — 2009. — Vol. 23, № 9. — P. 771—776.
180. Netting neutrophils induce endothelial damage, infiltrate tissues, and expose immunostimulatory molecules in systemic lupus erythematosus / E. Villanueva, S. Yalavarthi, C. C. Berthier [et al.] // *J. Immunol.* — 2011. — Vol. 187, № 1. — P. 538—552.
181. Neutrophil apoptosis: relevance to the innate immune response and inflammatory disease / S. Fox, A. E. Leitch, R. Duffin [et al.] // *J. Innate Immun.* — 2010. — Vol. 2, № 3. — P. 216—227.
182. Neutrophil respiratory burst is decreased in scleroderma and normalized by near -infrared mediated hyperthermia / J. Foerster, A. Storch, S. Fleischanderl [et al.] // *Clin. Exp. Dermatol.* — 2006. — Nov; 31 (6). — P. 799—806.
183. Neutrophils from systemic lupus erythematosus patients demonstrate increased nuclear DNA damage / J. R. McConnell, A. D. Crockard, A. P. Cairns, A. L. Bell // *Clin. Exp. Rheumatol.* — 2002. — Sep.-Oct; 20 (5). — P. 653—660.
184. New Insights into the Role of Oxidative Stress in Scleroderma Fibrosis / A. Gabrielli, S. Svegliati, G. Moroncini, D. Amico // *Open Rheumatol. J.* — 2012. — Vol. 6. — P. 87—95.
185. Nihtyanova, S. I. Improved survival in systemic sclerosis is associated with better ascertainment of internal organ disease: a retrospective cohort study / S. I. Nihtyanova, E. C. Tang, J. G. Coghlan // *Q. J. M.* — 2010. — Vol. 103. — P. 109—115.
186. NRAMP1 (SLC11A1): a plausible candidate gene for systemic sclerosis (SSc) with interstitial lung involvement / O. Ates, B. Müsellim, G. Ongen, A. Topal-Sarikaya // *J. Clin. Immunol.* — 2008. — Vol. 28, № 1. — P. 73—77.
187. Ohl, K. Inflammatory cytokines in systemic lupus erythematosus / K. Ohl, K. Tenbrock // *J. Biomed. Biotechnol.* — 2011. — Vol. 43, № 25. — P. 95.

188. Ohtsuka, T. Relation between elevated high-sensitivity C-reactive protein and anti-mitochondria antibody in patients with systemic sclerosis / T. Ohtsuka // *J. Dermatol.* — 2008. — Vol. 35, № 2. — P. 70—75.
189. Ohtsuka, T. Serum interleukin-6 level is reflected in elevated high-sensitivity C-reactive protein level in patients with systemic sclerosis / T. Ohtsuka // *J. Dermatol.* — 2010. — Vol. 37, № 9. — P. 801—806.
190. Oke V. Cutaneous lupus erythematosus: clinical aspects and molecular pathogenesis / V. Oke, M. Wahren-Herlenius // *J. Intern. Med.* — 2013. — Vol. 273, № 6. — P. 544—554.
191. Outcomes of Barrett's oesophagus related to systemic sclerosis: a 3-year EULAR Scleroderma Trials and Research prospective follow-up study / J. Wipff, R. Coriat, M. Masciocchi [et al.] // *Rheumatology (Oxford).* — 2011. — Vol. 50, № 8. — P. 1440—1444.
192. Overview of pathogenesis of systemic fibrosis / D. J. Abraham, T. Krieg, J. Distler, O. Distler // *Rheumatology.* — 2009. — Vol. 48. — P. 3—7.
193. Oxidative stress and the pathogenesis of scleroderma: the Murrell's hypothesis revisited / A. Gabrielli, S. Svegliati, G. Moroncini [et al.]. // *Semin. Immunopathol.* — 2008. — Vol. 30, № 3. — P. 329—337.
194. Oxidative stress in Mexicans with diffuse cutaneous systemic sclerosis / M. P. Cruz-Domínguez, D. H. Montes-Cortes, I. M. Olivares-Corichi [et al.] // *Rheumatol. Int.* — 2013. — Vol. 33, № 9. — P. 2261—2267.
195. Oxidative stress in scleroderma: maintenance of scleroderma fibroblast phenotype by the constitutive up-regulation of reactive oxygen species generation through the NADPH oxidase complex pathway / P. Sambo, S. S. Baroni, M. Luchetti [et al.] // *Arthritis Rheum.* — 2001. — Nov; 44 (11). — P. 2653—2664.
196. Payavipapong, K. Generalized morthea: A case report / K. Payavipapong, K. Aunhachoke // *J. Med. Assoc. Thai.* — 2010. — Vol. 93. — P. 1—4.
197. Peng, S. Neutrophil apoptosis in autoimmunity / S. Peng // *J. Mol. Med.* — 2006. — Vol. 84, № 2. — P. 122—125.

198. Pohl, D. Systemic inflammatory and autoimmune disorders / D. Pohl, S. Benseler // *Hand. Clin. Neurol.* — 2013. — № 112. — P. 1243—1252.
199. Pradhan, V. D. APO1/FAS promoter polymorphism in systemic lupus erythematosus (SLE): significance in clinical expression of the disease / V. D. Pradhan // *J. Assoc. Physicians India.* — 2012. — № 60. — P. 34—37.
200. Preliminary criteria for the very early diagnosis of systemic sclerosis: results of Delphi Consensus Study from EULAR Scleroderma Trails and Research Group / J. Avouac, J. Fransen, U. A. Walker [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* — 2011. — Vol. 70. — P. 476—481.
201. Prevalence of subclinical atherosclerosis is increased in systemic sclerosis and is associated with serum proteins: a cross-sectional, controlled study of carotid ultrasound / E. Schiopu, K. M. Au, M. A. McMahon [et al.] // *Rheumatology.* — 2014. — Vol. 53, № 4. — P. 704—713.
202. Radic, M. Vascular manifestations of systemic lupus erythematosus / M. Radic, K. D. Martinovic, J. Radic // *Neth. J. Med.* — 2013. — Vol. 71, № 1. — P. 10—16.
203. Recent advances in the treatment of systemic sclerosis / V. K. Bournia, P. G. Vlachoviannopoulos, C. Selmi [et al.] // *Clin. Rev. Allerg. Immunol.* — 2009. — Vol. 36, № 2—3. — P. 176—200.
204. Reduced expressions of Fas and Bcl-2 proteins in CD14+ monocytes and normal CD14 soluble levels in juvenile systemic lupus erythematosus / B. L. Liphaut 1, M. H. Kiss, S. Carrasco, C. Goldenstein-Schainberg // *Lupus.* — 2013. — Vol. 22, № 9. — P. 940—947.
205. Rekvig, O. P. The pathogenesis and diagnosis of systemic lupus erythematosus: still not resolved / O. P. Rekvig, J. Van der Vlag // *Semin. Immunopathol.* — 2014. — May; 36 (3). — P. 301—311.
206. Rigante, D. The cryptic interplay between systemic lupus erythematosus and infections / D. Rigante, M. B. Mazzoni, S. Esposito // *Autoimmun. Rev.* — 2014. — Vol. 13, № 2. — P. 96—102.

207. Roberts, P. J. Defective degradation of bacterial DNA by phagocytes from patients with systemic and discoid lupus erythematosus / P. J. Roberts, D. A. Isenberg, A. W. Segal // *Clin. Exp. Immunol.* — 1987. — Jul; 69 (1). — P. 68—78.
208. Role of infectious agents in systemic rheumatic diseases / H. Amital, M. Govoni, R. Maya [et. al.] // *Clin. Exp. Rheumatol.* — 2008. — Vol. 26. — P. 27—32.
209. Rosuvastatin improves impaired endothelial function, lowers high sensitivity CRP, complement and immunocomplex production in patients with systemic sclerosis-a prospective case-series study / O. Timár, Z. Szekanecz, G. Kerekes [et al.] // *Arthritis Res. Ther.* — 2013. — Vol. 15, № 5. — P. 105.
210. Rullo, O. J. Recent insights into the genetic basis of systemic lupus erythematosus / O. J. Rullo, B. P. Tsao // *Ann. Rheum. Dis.* — 2013. — Vol. 72, № 2. — P. 56—61.
211. Scheinecker, C. Cytokines as therapeutic targets: advances and limitations / C. Scheinecker, K. Redlich, J. Smolen // *Immunity.* — 2008. — Vol. 28, № 4. — P. 440—444.
212. Selective roles for antiapoptotic MCL-1 during granulocyte development and macrophage effector function / D. Steimer, K. Boyd, O. Takeuchi [et al.] // *Blood.* — 2009. — Vol. 113, № 12. — P. 2805—2815.
213. Serum antioxidant status in patients with systemic sclerosis / I. Hassan, P. Sajad, S. Majid, T. Hassan // *Indian J. Dermatol.* — 2013. — Vol. 58, № 3. — P. 239.
214. Shao, W. H. Disturbances of apoptotic cell clearance in systemic lupus erythematosus / W. H. Shao, P. L. Cohen // *Arthritis Res Ther.* — 2011. — Vol. 13 (1). — P. 202.
215. Shapira, Y. Geoepidemiology of autoimmune rheumatic diseases / Y. Shapira, N. Agmon-Levin, Y. Shoenfeld // *Nat. Rev. Rheumatol.* — 2010. — Vol. 6, № 8. — P. 468—764.
216. Shroff, A. Oxidative Stress and Skin Fibrosis / A. Shroff, A. Mamalis, J. Jagdeo // *Curr. Pathobiol. Rep.* — 2014. — Vol. 2 (4). — P. 257—267.

217. Soluble Fas (APO-I, CD95) and soluble Fas ligand in rheumatic diseases / K. Nozawa, N. Kayagaki, Y. Tokano [et al.] // *Arthr. Rheum.* — 1997. — Vol. 40, № 6. — P. 1126—1129.
218. Stewart, F. A. New side effect of TNF-alpha inhibitors: morphea / F. A. Stewart, A. C. Gavino, B. E. Elewski // *Skinmed.* — 2013. — Vol. 11, № 1. — P. 59—60.
219. Sulli, A. Raynaud's phenomenon and plasma endothelin: correlations with capillaroscopic patterns in systemic sclerosis / A. Sulli // *J. Rheumatol.* — 2009. — № 36. — P. 1235—1239.
220. Superoxide anion production by neutrophils is associated with prevalent clinical manifestations in systemic lupus erythematosus / C. Alves, C. Marzocchi-Machado, P. Louzada-Junior [et al.] // *Clin. Rheumatol.* — 2008. — Vol. 27, № 6. — P. 701—708.
221. Systemic lupus erythematosus: a review of the disease and treatment options / S. L. Gurevitz, J. A. Snyder, E. K. Wessel [et al.] // *Consult. Pharm.* — 2013. — Vol. 28, № 2. — P. 110—121.
222. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus / E. M. Tan, A. S. Cohen, J. F. Fries [et al.] // *Arthritis Rheum.* — 1982. — Vol. 25, № 11. — P. 1271—1277.
223. The association among leukocyte apoptosis, autoantibodies and disease severity in systemic lupus erythematosus / Y. J. Su, T. T. Cheng, C. J. Chen [et al.] // *J. Transl. Med.* — 2013. — Oct. 19; № 11. — P. 261.
224. The CD95/CD95L pathway is involved in phagocytosis-induced cell death of monocytes and may account for sustained inflammation in neonates / C. L. Gille, S. Dreschers, A. Leiber [et al.] // *Pediatr. Res.* — 2013. — Vol. 73, № 4. — P. 402—408.
225. The challenge of early systemic sclerosis for the EULAR Scleroderma Trial and Research group (EUSTAR) community. It is time to cut the Gordian knot and develop a prevention or rescue strategy / M. Matucci-Cerinic, Y. Allanore, I. Czirjak [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* — 2009. — Vol. 68. — P. 1377—1380.

226. The dysregulation of cytokine networks in systemic lupus erythematosus / S. A. Apostolidis, L. A. Lieberman, K. Kis-Toth [et al.] // *J. Interferon Cytokine Res.* — 2011. — Vol. 31, № 10. — P. 769—779.
227. The Role of hOGG1 C1245G Polymorphism in the Susceptibility to Lupus Nephritis and Modulation of the Plasma 8-OHdG in Patients with Systemic Lupus Erythematosus / H. T. Lee, C. S. Lin, C. S. Lee [et al.]. // *Int. J Mol. Sci.* — 2015. — Vol. 16, № 2. — P. 3757—3768.
228. The role of neutrophil apoptosis in juvenile-onset systemic lupus erythematosus / A. Midgley, Z. McLaren, R. J. Moots [et al.] // *Art. Rheum.* — 2009. — Vol. 60, № 8. — P. 2390—401.
229. The validity of the ECLAM index for the retrospective evaluation of disease activity in systemic lupus erythematosus / M. Mosca, W. Bencivelli, C. Vitali [et al.] // *Lupus.* — 2000. — Vol. 9, № 6. — P. 445—450.
230. Tindall, A. Future targets in the management of Systemic Sclerosis / A. Tindall, M. Matucci-Cerenic, U. Muller-Lander // *Rheumatology.* — 2009. — Vol. 48. — P. 49—53.
231. TNF-related apoptosis-inducing ligand is involved in neutropenia of systemic lupus erythematosus / W. Matsuyama, M. Yamamoto, I. Higashimoto [et al.] // *Blood.* — 2004. — Jul. 1; 104 (1). — P. 184—191.
232. Todaro, M. Role of apoptosis in autoimmunity / M. Todaro, A. Zeuner, G. Stassi // *J. Clin. Immunol.* — 2004. — Vol. 24, № 1. — P. 1—11.
233. Toll-like receptors as therapeutic targets for autoimmune connective tissue diseases / J. Li, X. Wang, F. Zhang, H. Yin // *Pharmacol. Ther.* — 2013. — Vol. 138, № 3. — P. 441—451.
234. Trojanowska, M. Role of PDGF in fibrotic diseases and systemic sclerosis / M. Trojanowska // *Rheumatology.* — 2008. — Vol. 47. — P. 2—4.
235. Trojanowska, M. Cellular and molecular aspects of vascular dysfunction in systemic sclerosis / M. Trojanowska // *Nat. Rev. Rheumatol.* — 2010. — Vol. 6, № 8. — P. 453—460.

236. Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) induces integrin CD11b/CD18 (Mac-1) up-regulation and migration to the CC chemokine CCL3 (MIP-1alpha) on human neutrophils through defined signalling pathways / F. Montecucco, S. Steffens, F. Burger [et al.] // *Ibid. Cell Signal.* — 2008. — Vol. 2, № 3. — P. 557—568.
237. Updating on the pathogenesis of systemic lupus erythematosus / R. Gualtierotti, M. Biggioggero, A. E. Penatti, P.L. Meroni // *Autoimmun Rev.* — 2010. — Vol. 10, № 1. — P. 3—7.
238. Vardar, R. Is the prevalence of intestinal metaplasia at the squamocolumnar junction different in patients with progressive systemic sclerosis? / R. Vardar, E. Vardar, S. Bor // *Turk. J. Gastroenterol.* — 2010. — Vol. 21, № 3. — P. 251—256.
239. Varga, J. Fibrosis in systemic sclerosis / J. Varga, M. Trojanowska // *Rheum. Dis. Clin. North. Am.* — 2008. — Vol. 34, № 1. — P. 115—143.
240. Varga, J. Systemic sclerosis: an update / J. Varga // *Bull. N.Y.U. Hosp. Jt. Dis.* — 2008. — Vol. 66, № 3. — P. 198—202.
241. Varga, J. Transforming growth factor beta as a therapeutic target in systemic sclerosis / J. Varga, B. Pasche // *Nat. Rev. Rheumatol.* — 2009. — Vol. 5. — P. 200—206.
242. Viruses as potential pathogenic agents in systemic lupus erythematosus / P. Nelson, P. Rylance, D. Roden [et al.] // *Lupus.* — 2014. — Vol. 23, № 6. — P. 596—605.
243. Waldner, H. The role of innate immune responses in autoimmune disease development / H. Waldner // *Autoimmun. Rev.* — 2009. — Vol. 8, № 5. — P. 400—404.
244. Wick, G. Pro- and anti-fibrotic effects of TGF-beta in scleroderma / G. Wick // *Rheumatology (Oxford).* — 2008. — Vol. 47, № 5. — P. 5—7.
245. Wong, M. The identification of Fc and C3 receptors on human neutrophils / M. Wong, R. D. Wilson // *J. Immunol. Method.* — 1975. — Vol. 7. — P. 69—76.

246. Yap, D. Y. The role of cytokines in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus — from bench to bedside / D. Y. Yap, K. N. Lai // *Nephrology (Carlton)*. — 2013. — Vol. 18, № 4. — P. 243—255.
247. Zandieh, T. Expression of Fas Antigen (CD95) on Human Leukemic Cells and Assessment of Apoptosis on Fas+ and Fas- Samples by Flowcytometry Method / T. Zandieh, A. Safari Fard, M. Aghaipur // *Iran J. Allergy Asthma Immunol.* — 2003. — Vol. 2, № 4. — P. 198—207.