

УДК 612.017.1:616.72-002

Урогениталдык реактивдик артриттеги в-лимфоциттердин антигенспецификалык пролиферативдик активдүүлүгү

А.П. Ирисов*Ош Мамлекеттик университети, Ош, Кыргыз Республикасы*

Корутунду. Бул иште реактивдик артриттеги (РеА) ар кандай клиникалык варианттарында В- лимфоциттердин антигенспецификалык пролиферативдик активдүүлүгү (ВАГПА) каралат. ВАГПАнын оң жыйынтыгы 100% РеА менен ооругандарда, 45,5% анкилозивдик спондилит (АС), 19,2% ревматоиддик артрит (РА), 14,3% остеоартрит менен ооругандарда табылган. Ал эми дени сак адамдарда эч кандай учурда табылган эмес. ВАГПАнын көрсөткүчү РеАнын II жана III даражаларында Iчи даражага салыштырмалуу жогору болгон. ВАГПА көрсөткүчүнүн деңгээли РеАнын өнөкөт өтүшүндө курч абалга караганда кыйла жогору болгон. РеАнын минималдуу деңгээлинде ОА, АС жана РА ооруларында ВАГПАнын көрсөткүчү ишенимдүү жогору болгон.

Негизги сөздөр: реактивдик артрит, антигенспецификалык пролиферативдик активдүүлүк, В- лимфоциттер.

Антигенспецифическая пролиферативная активность в-лимфоцитов при реактивных артритах урогенитальной формы

А.П. Ирисов*Ошский Государственный университет, Ош, Кыргызская Республика*

Резюме. В данной работе рассматривается значение антигенспецифической пролиферативной активности В- лимфоцитов (АГПАВЛ) при различных клинических вариантах реактивного артрита (РеА). Положительный результат АГПАВЛ обнаружен у 100% больных РеА, только у 45,5% больных анкилозирующим спондилитом (АС), лишь у 19,2% больных ревматоидным артритом (РА) и у 14,3% больных остеоартритом (ОА) соответственно, и ни в одном случае у здоровых лиц. Показатель АГПАВЛ у больных РеА с II и III степенями активности был достоверно выше по сравнению с I степенью активности. Уровень показателя АГПАВЛ у больных РеА с хроническим течением был достоверно выше по сравнению с острым течением болезни. Значение АГПАВЛ при РеА с минимальной степенью активности достоверно выше, чем у больных ОА, АС и РА.

Ключевые слова: реактивный артрит, антигенспецифическая пролиферативная активность, В-лимфоциты.

Antigen-specific proliferative activity of b-lymphocytes in reactive arthritis of the rogenital form

Адрес для переписки:

Ирисов Аскар Пайзилдаевич, 723500,
Кыргызская Республика, Ош, ул. Ленина, 331
Ошский Государственный университет
Тел.: + 996 553 360 599
E-mail: ascar78@yandex.com

Contacts:

Irisov Askar Paizildaevich, 723500,
Kyrgyz Republic, Bishkek, st. Lenin, 331
Osh State University
Phone: + 996 553 360 599
E-mail: ascar78@yandex.com

Для цитирования:

Ирисов А.П. Антигенспецифическая пролиферативная активность в-лимфоцитов при реактивных артритах урогенитальной формы. Здравоохранение Кыргызстана 2021, № 4, с. 92-97. doi.10.51350/zdravkg20211241292

Citation:

Irisov A.P. Antigen-specific proliferative activity of b-lymphocytes in reactive arthritis of the rogenital form. Health care of Kyrgyzstan 2021, No. 4, pp. 92-97. doi.10.51350/zdravkg20211241292

Irisov A.P.*Osh State University, Osh, Kyrgyz Republic*

Abstract. In this work, the significance of antigen-specific proliferative activity of B-lymphocytes (AGPABL) in various clinical variants of reactive arthritis (ReA) is considered. A positive result of AGPABL was found in 100% of ReA patients, only in 45.5% of ankylosing spondylitis (AS) patients, only in 19.2% of rheumatoid arthritis (RA) patients and in 14.3% of osteoarthritis (OA) patients, respectively, and in no case in healthy individuals. The AGPABL index in ReA patients with II and III degrees of activity was significantly higher compared to the I degree of activity. The level of the AGPABL index in patients with ReA with a chronic course was significantly higher compared to the protracted and acute course of the disease. The value of AGPABL in ReA with a minimal degree of activity is significantly higher than in patients with OA, AS and RA.

Key words: reactive arthritis, antigen-specific proliferative activity, B-lymphocytes.

Введение

Реактивные артриты (ReA) являются довольно часто встречающимся заболеванием. Преимущественно болеют лица молодого возраста. [1, 2, 3, 4, 5]. При этом хроническое и/или рецидивирующее течение заболевания отмечается у 15-50% больных. Признаки постоянной утраты трудоспособности возникают у 15% больных [6, 7, 8, 9, 10, 11, 12].

Для реактивных артритов характерна высокая антигенспецифическая пролиферативная активность В-лимфоцитов, которая, по-видимому, лежит в основе продукции антител к различным инфекционным агентам (чаще к хламидиям) с последующим образованием иммунных комплексов и развитием иммунокомплексной патологии при этой болезни [13, 14, 15, 16, 17].

Вследствие чего это побудило нас исследовать антигенспецифическую пролиферативную активность В-лимфоцитов при реактивных артритах.

Материал и методы

Обследовано 78 пациентов с реактивным артритом. Для сравнения и контроля обследовано 26 пациентов ревматоидным артритом (РА), 22 пациентов анкилозирующим спондилитом (АС) и 30 человек здоровые лица.

АГПАВЛ определяли способом цитофлюориметрии. Для этого лимфоциты выделяли из крови, после стабилизации гепарином, на плотности градиента 1,007 г/см³ верографин-фиколл.

Готовили градиент таким образом: одну часть 76% раствора верографина смешивали с четырьмя частями раствора фикола. После перемешивания смесь была готова к использованию. В пробирку вливали 2,5 мл раствора верографин-фиколл. Пробирку оставляли до тех пор, пока раствор не примет комнатную температуру. Из вены брали 5 мл крови.

С целью предотвращения свертывания крови добавляли антикоагулянт гепарин 20 единиц на 1,0 мл крови. Пипеткой осторожно наслаивали стабилизированную гепарином кровь в объеме 4 мл на градиент, избегая перемешивания градиента и крови. После чего центрифугировали со скоростью 1500 об/мин в течение получаса. В то время как эритроциты и гранулоциты оседают на дно пробирки, а на границе раздела градиента и крови находятся мононуклеарные клетки. По всей площади сечения пробирки на границе раздела фаз отсасывали пипеткой слой мононуклеаров. Клетки, которые прилипли к стенке пробирки, собирали кончиком пипетки. Лимфоциты переносили в чистую пробирку. Выделенные клетки 2 раза очищали от плазмы средой 199, затем центрифугировали со скоростью 1000 оборот в мин. в течение 5 минут. Надсадок оставляли, а полученные лимфоциты ресуспендировали смесью питательной среды.

Полученные лимфоциты вновь отмывали средой 199, затем снова центрифугировали со скоростью 1000 оборот в мин. в течение 5 минут, затем в 3-4 каплях среды 199 ресуспендировали, причем концентрацию клеток подвели до уровня 4-5x10⁶/мл.

Проллиферативную функцию лимфоцитов исследовали по методике, которая была описана Е.Г. Цай [18]. Определение проводилось в монослоях клеток, которые были созданы на предметных стеклах по способу А.Н. Красюка и др. [19]. Каплю из состава суспензии клеток лимфоцитов наносили на два предметных стекла (контроль и опыт), и инкубировали в камере при комнатной температуре около 3-5 мин. Затем, неприлиплившие клетки смывали средой 199. После чего на стекле оставалось сформированное пятно клеточного монослоя. Затем стекла с монослоем лимфоцитов, сразу помещали в камеры с целью культивации с питательной средой, которая состояла из среды 199 добавленная с 10% сывороткой крупного рогатого скота, L-глутамин(300 мг/

Таблица 1. Уровень АГПАВЛ в обследованных группах.

Table 1. Level of AGPAVL in the surveyed groups.

Обследованные группы	N	M±m в усл.ед	Частота положительных результатов		t, p
			абс.	%	
Здоровые	30	117,7±5,3	0	0	t ₁ =3,1; p ₁ <0,001 t ₂ =2,2; p ₂ <0,05 t ₃ =2,6; p ₃ <0,01
Пациенты с ОА	28	123,2±3,4	4	14,3	
Пациенты с РеА	78	141,1±4,7***	78	100	
Пациенты с АС	22	128,4±4,1	10	45,5	
Пациенты с РА	26	124,5±4,3	5	19,2	

Примечание: 1. * достоверно по сравнению со здоровыми лицами (* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$); 2. p_1 – разница между показателями АГПАВЛ у пациентов РеА и ОА; p_2 – разница между показателями АГПАВЛ РеА и АС; p_3 – разница между показателями АГПАВЛ РеА и РА.

мл) и антибиотика гентамицина (0,08 мг/мл). После чего в обе культуры лимфоцитов (контроль и опыт) вносили В-клеточный митоген - ЛПС 5 мпд/мл. Затем камеру с контрольными лимфоцитами помещали в холодильник при $t^{\circ} 4^{\circ}\text{C}$, а опытной культурой - при $t^{\circ} 37^{\circ}\text{C}$ в термостат. В течение 2 часов производили инкубацию в камерах. Затем стекла ополаскивали в среде 199, фиксировали в течение 15 мин 70% раствором этанола. Затем мазки окрашивали 0,001% акридиновым оранжевым (АО) по R.Rigler [20], исключая этап ацетилирования белков.

Собранные с интерфазы клетки лимфоциты, один раз отмывали средой 199, путем центрифугирования со скоростью 1000 оборот в мин. в течение 5 минут. Надсадок откладывали, а мононуклеары ресуспендировали 1,0 мл среды 199. По 0,5 мл суспензии лимфоцитов вносили в две пробирки (контроль и опыт) с питательной средой, состав которой описан выше. В контрольную пробирку добавляли 1 каплю физ. раствора, а в опыт пробирку 1 каплю разведенного хламидийного антигена. Затем опытный и контрольный образцы помещали при $t^{\circ} 37^{\circ}\text{C}$ в термостат. В течение 18 часов пробы инкубировали в герметически закупоренных пробирках.

Далее определяли параметр А.

Сравнивая уровни параметра А в опыте и контроле, выводили показатель (АГПАВЛ) по формуле: АГПАВЛ = (А опыт: А контроль) \times 100 усл. ед.

Результаты

Как видно из таблицы 1, показатель АГПАВЛ у пациентов РеА был достоверно выше не только по сравнению со здоровыми ($p < 0,01$) и ОА ($p < 0,05$), но был значительно выше, чем АС ($p < 0,05$) и РА ($p < 0,01$).

Позитивное значение АГПАВЛ обнаружен у 100% пациентов РеА, только у 45,5% АС, лишь у 19,2% РА и у 14,3% ОА соответственно и ни в одном случае у здоровых лиц.

Следовательно, у пациентов РеА частота позитивного значения АГПАВЛ было гораздо выше, чем у ОА, АС и РА.

Также стоит отметить то, что у пациентов РеА частота обнаружения позитивного значения АГПАВЛ выше, чем встречаемость клинико-лабораторных показателей, как олигоартрит (на 25,6%), несимметричный артрит (на 9,0%), артрит I плюснефалангового сустава стопы (на 47,3%), энтезопатии (на 37,2%), уретрит (на 32,1%), наличие HLA-B27 (на 34,6%), хламидий в соскобе из уретры (на 25,7%) и сывороточных антител к хламидиям (на 37,2%).

Как видно из таблицы 2, показатель АГПАВЛ у пациентов РеА с II и III степенями активности был достоверно выше ($p < 0,05$) по сравнению с I степенью активности.

Как видно из таблицы 3, показатель АГПАВЛ у пациентов РеА с хроническим течением был достоверно выше ($p < 0,05$ и $p < 0,01$) по сравнению с острым течением болезни.

Как видно из таблицы 4, показатель АГПАВЛ при РеА с минимальной степенью активности достоверно выше ($p < 0,05$), чем ОА, АС и РА.

Кроме того, позитивный результат показателя АГПАВЛ обнаружен у всех пациентов РеА с минимальной степенью активности (100%), что значительно выше, чем у ОА, АС и РА.

Таким образом, можно отметить следующее.

Значение АГПАВЛ у пациентов РеА было достоверно выше, чем у здоровых и больных ОА, АС и РА. Высокий показатель АГПАВЛ обнаружен у 100% пациентов РеА, в менее половине случаев (45,

Таблица 2. Показатель АГПАВЛ у пациентов РеА в зависимости от степени активности болезни (M±m).

Table 2. AGPAVL score in ReA patients depending on the degree of disease activity (M ± m).

Степень активности болезни	Значение АГПАВЛ в усл.ед.	t; p
I степень (n=33)	134,7±3,6	t=2,1; p<0,05
II и III степени (n=45)	145,9±3,9	

Примечание: t, p – разница между группами пациентов РеА I степенью активности с II и III степенями активности.

Таблица 3. Показатель АГПАВЛ у пациентов РеА в зависимости от варианта течения болезни (M±m).

Table 3. AGPAVL score in ReA patients depending on disease course variant (M ± m).

Вариант течения РеА	Значение АГПАВЛ в усл.ед.	t; p
Хроническое течение (n=57)	148,2±3,1	t=2,6; p<0,01
Острое течение (n=21)	133,1±3,8	

Примечание: t, p – разница между группами пациентов РеА хронического течения с острым течением.

Таблица 4. Частота позитивного результата показателя АГПАВЛ при минимальной степени активности РеА (в сравнении со здоровыми лицами и больными ОА).

Table 4. Frequency of positive result of AGPAVL score with minimum degree of ReA activity (compared to healthy individuals and OA patients).

Обследованные группы	n	M±m в усл.ед	Частота положительных результатов		t, p
			абс.	%	
Здоровые лица	30	117,7±5,3	0	0	t ₁ =2,7; p ₁ <0,01 t ₂ =2,3; p ₂ >0,05 t ₃ =2,1; p ₃ >0,05 t ₄ =2,2; p ₄ >0,05
Пациенты с ОА	28	123,2±3,4	4	14,3	
Пациенты с АС	22	128,4±4,1	10	45,5	
Пациенты с РА	26	124,5±4,3	5	19,2	
Минимальная степень активности РеА	33	134,7±3,6	33	100	

Примечание: p₁ – разница между показателями АГПАВЛ у пациентов РеА и здоровыми лицами; p₂ – разница между показателями АГПАВЛ у пациентов РеА и ОА; p₃ – разница между показателями АГПАВЛ у пациентов РеА и АС; p₄ – разница между показателями АГПАВЛ у пациентов РеА и РА.

5%) у АС, менее 1/5 случаев (в 19,2% и 14,3% случаев соответственно) у РА и ОА.

Обсуждение

Таким образом вышеуказанные данные подтверждают о высокой диагностической ценности значения АГПАВЛ при РеА, что может иметь важное значение в клинической практике.

Показатель уровня АГПАВЛ при РеА зависел от активности болезни: чем выше степень активности заболевания, тем больше было значение этого пока-

зателя. То есть, определение показателя может быть использовано как для диагностики РеА, так и для выявления степени активности заболевания.

У пациентов РеА с хроническим течением показатель АГПАВЛ был более выраженным, чем при остром течении болезни. Что лишний раз свидетельствует о более выраженной степени аутоиммунных изменений при хроническом течении РеА по сравнению с острым течением заболевания.

Показатель АГПАВЛ при минимальной степени активности РеА было гораздо выше, чем у здоровых и больных ОА, а позитивный результат данного по-

казателя обнаружен у всех больных РеА с минимальной степенью активности.

При минимальной степени активности РеА частота обнаружения позитивного результата АГПАВЛ выше, чем встречаемость классических диагностических клинико-лабораторных показателей РеА.

Клиническое значение АГПАВЛ при РеА заключается в том, что данный феномен может быть использован в диагностике РеА, в дифференциальной диагностике I степени РеА с II и III степенями активности, хронического течения с острым течением болезни.

Другое клиническое значение показателя АГПАВЛ при РеА заключается в возможности использования этого показателя в диагностике РеА с минимальной степенью активности и в качестве показателя для начала противовоспалительной и иммуносупрессивной терапии при этой форме болезни.

Заключение

У пациентов РеА частота позитивного результата АГПАВЛ было гораздо выше, чем у больных ОА, АС и РА.

Показатель АГПАВЛ у пациентов РеА с II и III степенями активности был достоверно выше ($p < 0,05$) по сравнению с I степенью активности.

Показатель АГПАВЛ у пациентов РеА с хроническим течением был достоверно выше ($p < 0,05$) по сравнению с острым течением болезни.

Позитивный результат показателя АГПАВЛ обнаружен у всех пациентов РеА с минимальной степенью активности (100%), что значительно выше, чем у больных ОА, АС и РА.

Жазуучулар ар кандай кызыкчылыктардын чыр жоктугун жарыялайт.

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов. The authors declare no conflicts of interest.

Список литературы

1. Агабабова Э.Р. Реактивные артриты. Некоторые вопросы теории и практики. // Тер. архив-1991- №5. -С.8-11.
2. Зур Н.В. Современные методы лабораторной диагностики урогенитальной хламидийной инфекции. Мионов А.Ю. // Человек и его здоровье. 2010. - № 2. - С. 33-42.
3. Кошкин С.В. Урогенитальный хламидиоз: клинико-иммунологическая характеристика, иммуногенетические маркеры, вопросы прогноза и лечения. Кошкин С.В. // Автореф. дис. д-ра мед. наук. М., 2010. -48 с.
4. Пашко Ю.П. Гематогенный путь распространения *C. trachomatis* у пациентов с урогенитальным хламидиозом. // Автореф. дис. канд. мед. наук. М., 2010. - 23 с.
5. Ревматические заболевания: практ. руководство: в 3 т. / под ред. Д. Х. Клиппела [и др.]; пер. с англ. под ред. Е. Л. Насонова, В. А. Насоновой, Ю. А. Олюнина. // М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. — Т. 2: Заболевания костей и суставов. — 2014.
6. Carlin E. Sexually acquired reactive arthritis. Flew S. //Clin Med (Lond) 2016 Apr; 16(2):193-6.
7. Bojović J. Reiter's syndrome-disease of young men- analysis of 312 patients. Strelčić N., Pavlica L. //Med. Pregl. 2014 Jul-Aug; 67(7-8):222-30.
8. Cheeti A. Reactive Arthritis (Reiter Syndrome). Ramphul K. //Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2018.
9. Colin Tidy. Reactive arthritis. John Cox. //24 Feb 2015.
10. Firestern. Textbook of Rheumatology (Tenth Edition) 2017. G. Kelley and Firestein. // G. Firestein, R. Budd, S.E. Gabriel [et al.]. - Elsevier, 2017. - P.2288.
11. Cargnelutti E. Reactive Arthritis: from clinical features to pathogenesis. Di Genaro M.S. //Int J Clin Med. 2013; 4:20-30.
12. Carlin E.M. 2014 European Guideline on the management of sexually acquired reactive arthritis / E.M. Carlin, J.M. Ziza, A. Keat, M. Janier // International Journal of STD & AIDS. - 2014. - Vol. 25, № 13. - P.902-912.
13. Якубович А.И. Урогенитальный хламидиоз: монография. Корепанов А.Р. // Иркутск: Ризл, 2007. - 108 с.
14. Шубин С.В. Хламидийная инфекция при ревматических заболеваниях. Урумова М.М., Агабабова Э.Р. и соавт. // Научно-практическая ревматология. 2008. - №1. - С. 17-24.
15. Хворик Д.Ф. Урогенитальный хламидиоз: патогенез, клиника, диагностика, лечение. Хворик Д.Ф. // Автореф. дис. д-ра мед. наук. Минск, 2009. - 42 с.
16. Насонов Е. Л. Реактивные артриты. // Е.Л.Насонов // Клинические рекомендации. Ревматология // под ред. Е.Л. Насонова. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006-С. 86-91.
17. Мамасаидов А.Т. Показатели спонтанной пролиферации В-лимфоцитов в диагностике неврологических проявлений ревматоидного артрита. Мурзалиев А.М., Токтомушев Ч.Т., Юсупов Ф.А. //Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2009. - Т. 109, №9. - с. 63-66.
18. Цай Е.Г. Определение Функциональной активности лимфоцитов периферической крови при ревматоидном артрите. Цай Е.Г. // Дисс. канд. мед. наук. - 14.00.36. - Фрунзе. - 1988. - С. 132.
19. Красюк А.Н. Способ определения клеточного иммунитета. Панченко Н.А., Дедорович В.И. //Откр.изобр. - 1985. - Бюлл. № 31. - А.С. СССР № 1174033.
20. Rigler R. Microfluorometric characterization an interacellular nucleis acids and nucleoproteins by acridine orange. // Actaphysiol. Seand. - 1966. - Vol. 67, Suppl. - P. 267-268.

References

1. Agababova E.R. Reactive arthritis. Some questions of theory and practice. // Ter. archive-1991- No. 5. - p.8-11.

2. Zur N.V. Modern methods of laboratory diagnostics of urogenital chlamydia infection. Mironov A.Yu. // *Man and his health*. 2010. - No. 2. - p. 33-42.
3. Koshkin S.V. Urogenital chlamydia: clinical and immunological characteristics, immunogenetic markers, prognosis and treatment issues. Koshkin S.V. // *Autoref. dis. doctor of medical Sciences*. M, 2010. -48 p.
4. Pashko Yu.P. Hematogenic pathway of *C. trachomatis* in patients with urogenital chlamydia. // *Abstract of the dissertation of the Candidate of Medical Sciences*. M., 2010. - 23 p.
5. Rheumatic diseases: practice. manual: in 3 volumes / edited by D. H. Klippel [et al.]; translated from English. edited by E. L. Nasonov, V. A. Nasonova, Yu. A. Olyunin. // M.: GEOTAR-Media, 2014. - Vol. 2: Diseases of bones and joints. — 2014.
13. Yakubovich A.I. Urogenital chlamydia: monograph. Korepanov A.R. // Irkutsk: Riel, 2007. - 108 p.
14. Shubin S.V. Chlamydia infection in rheumatic diseases. Urumova M.M., Agababova E.R. et al. // *Scientific and practical rheumatology*. 2008. - No. 1. - pp. 17-24.
15. Khvorik D.F. Urogenital chlamydia: pathogenesis, clinic, diagnosis, treatment. Khvorik D.F. // *Autoref. dis. doctor of medical sciences*. Minsk, 2009. - 42 p.
16. Nasonov E.L. Reactive arthritis. // E.L.Nasonov // *Clinical recommendations. Rheumatology* // edited by E.L. Nasonov. - M.: GEOTAR-Media, 2006 -p. 86-91.
17. Mamasaidov A.T. Indicators of spontaneous proliferation of B-lymphocytes in the diagnosis of neurological manifestations of rheumatoid arthritis. Murzaliev A.M., Toktomushev Ch.T., Yusupov F.A. // *Journal of Neurology and Psychiatry named after S.S. Korsakov*. - 2009. - Vol. 109, No. 9. - pp. 63-66.
18. Tsai E.G. Determination of the functional activity of peripheral blood lymphocytes in rheumatoid arthritis. Tsai E.G. // *Diss. candidate of Medical Sciences*. - 14.00.36. - Frunze. - 1988. - p. 132.
19. Krasnyuk A.N. Method for determining cellular immunity. Panchenko N.A., Fedorovich V.I. // *Otkr.izobr.* - 1985. - Byull. No. 31. - A.S. USSR No. 1174033.

Авторы:

Ирисов Аскар Пайзилдаевич, ассистент-преподаватель Ошского государственного университета, кафедры «Клинические дисциплины 1», Ош, Кыргызская Республика.

Authors:

Irisov Askar Paizildaevich, assistant lecturer, Osh State University, Department of Clinical Disciplines 1, Osh, Kyrgyz Republic.

Поступила в редакцию 17.12.2021
Принята к печати 12.01.2022

Received 17.12.2021
Accepted 12.01.2022