

ДУ «Національний науковий центр «Інститут кардіології ім. акад. М.Д. Стражеска» НАМН України, Київ

Ключові слова: ревматоїдний артрит, атеросклероз, ліпіди, ліпопротеїни, метаболізм, апоА-I, апоВ, В-лімфоцити, моноцити.

РОЛЬ СУБПОПУЛЯЦІЙ В-ЛІМФОЦИТІВ ТА МОНОЦИТІВ У ФОРМУВАННІ ПРОАТЕРОГЕННИХ ПОРУШЕНЬ У ХВОРИХ НА РЕВМАТОЇДНИЙ АРТРИТ

Мета дослідження — визначення динаміки змін субпопуляцій моноцитів та В-лімфоцитів крові у хворих на ревматоїдний артрит (РА) та їх взаємозв'язок з активністю РА, проатерогенними порушеннями обміну ліпідів та ліпопротеїнів (ЛП) крові, концентрацією у крові аполіпопротеїну (апо)А-I, апоВ. **Матеріали та методи.** У всіх пацієнтів оцінювали спектр ліпідів та ЛП у крові з додатковим визначенням у плазмі крові рівня апоВ та апоА-I. Визначали субпопуляційний склад клітин (лімфоцитів та моноцитів) у периферичній крові методом проточної цитометрії за допомогою реагентів для визначення кластерів диференціації CD3, CD4, CD5, CD8, CD19, CD14, CD16 і CD45 виробництва Beckman Coulter Inc. Цитофлуориметричний аналіз виконаний на апараті NAVIOS (Beckman Coulter Inc.). **Результати.** У пацієнтів з РА традиційні показники обміну ліпідів та ЛП крові залишаються у межах нормальних значень при підвищеному рівні С-реактивного протеїну та швидкості осідання еритроцитів у крові. При цьому концентрація у крові апоА-I була на 35% нижча, ніж у контролі ($p < 0,01$). Концентрація апоВ — головного аполіпопротеїнів низької щільності та ліпопротеїнів дуже низької щільності, навпаки, на 16,5% перевищувала контрольне значення ($p < 0,01$). У результаті індекс атерогенності на 70% перевищував контрольне значення ($p < 0,01$). Підвищення активності РА поєднувалося зі зниженням кількості моноцитів класичної (CD14+hiCD16-) та патрулюючої (CD14+hiCD16+) субпопуляції при збільшенні кількості моноцитів проміжної субпопуляції. Паралельно відмічалось зниження субпопуляції В1-лімфоцитів зі збільшенням кількості лімфоцитів субпопуляції В2. **Висновки.** У хворих на РА паралельно з підвищенням активності системного запалення відмічається зростання проатерогенного потенціалу крові. Традиційні показники обміну ліпідів та ЛП крові у хворих з високою активністю РА залишаються у межах нормальних значень, що значно ускладнює діагностику доклінічних стадій атеросклерозу, визначення прогнозу, тому затримує початок лікування, знижує його ефективність. Патогенетичними механізмами проатерогенних порушень ЛП крові у хворих на РА можуть бути зміни субпопуляційного складу моноцитів та ЛП крові.

ВСТУП

Починаючи з кінця ХХ ст., прискорений розвиток атеросклерозу визнано як одну з найважливіших причин летальності в осіб з аутоімунними захворюваннями, особливо з ревматоїдним артритом (РА). Незважаючи на широке застосування в осіб з РА як традиційного лікування, так і застосування біологічних препаратів, тяжкість перебігу і летальність від супутньої кардіоваскулярної патології практично не знизилася [4].

Відповідно до даних ряду великих досліджень поширеність ішемічної хвороби серця (ІХС) в загальній популяції без наявності РА і цукрового

діабету (ЦД) 2-го типу становить 5%, у осіб з ЦД 2-го типу — 12%, з РА — 13% [1]. Після врахування віку і статі ризик кардіоваскулярної патології становив 3,1 при РА, 2,3 — при ЦД 2-го типу, тоді як ряд інших факторів, насамперед традиційних факторів атерогенезу, чинив незначний вплив на рівень ризику. У великому проспективному дослідженні розвиток кардіоваскулярних явищ відзначено у 9% пацієнтів з РА і у 4% у загальній популяції осіб без ЦД [2].

Результати ряду досліджень останніх років свідчать про те, що ризик розвитку інфаркту міокарда (ІМ) в осіб з РА порівняно із загальною популяцією становить 1,5–2,0 [8].

У нещодавно опублікованих оглядах вказується, що ризик кардіальної смерті у осіб з РА підвищений на 60%, тобто приблизно такою ж мірою, як і при ЦД [8]. За середніми даними, кардіоваскулярна летальність у пацієнтів з РА перевищує летальність у загальній популяції в 1,3–3,0 рази, і стандартизована величина ризику летальності, за даними 19 досліджень за участю майже 92 тис. пацієнтів, становила 1,6 [1]. Кардіоваскулярні явища в осіб з РА відзначаються на 10 років раніше, ніж у загальній популяції, а зростання сумарної товщини інтима/медіа (ІМТ) сонних артерій відмічали вже через 12 міс від появи симптомів РА [8].

Спочатку залежність між наявністю системних ревматичних захворювань і зростанням ризику кардіоваскулярної патології пояснювали характером впливу процесу на традиційні фактори атерогенезу і застосуванням препаратів, насамперед кортикостероїдів. Однак результати ряду останніх великих клінічних досліджень свідчать, що субклінічний атеросклероз у хворих з РА часто розвивався на тлі незначно виражених традиційних факторів ризику, особливо в осіб, які тривалий час отримували антиревматичну терапію. Найбільш виражено підвищений ризик розвитку атеросклерозу при РА корелював з нетрадиційними факторами, найважливіший серед яких — хронічне запалення, що виявляється підвищенням плазмового рівня С-реактивного протеїну (СРП) [4].

Як традиційні фактори ризику серцево-судинних захворювань (ССЗ), так і високий рівень системного запалення пов'язані з підвищеним ризиком їх розвитку у пацієнтів з РА, проте залишається невизначеним питання щодо механізмів, за допомогою яких ці фактори зумовлюють розвиток серцево-судинної патології. Крім того, залишається невизначеним питання щодо виявлення хворих на РА з високим ризиком розвитку ССЗ та стратегій їх первинної та вторинної профілактики [1].

Останнім часом велика увага дослідників приділяється визначенню субпопуляцій моноцитів (МЦ) крові, що чинять різний вплив на атерогенез. Більше того, вони мають діаметрально протилежні функції, що й визначає їх роль у патогенезі атеросклерозу. Суттєве значення у розвитку проатерогенних порушень обміну ліпідів і ліпопротеїнів (ЛП) крові, як встановлено за даними останніх років, мають В-лімфоцити, що поділяються на 2 субпопуляції: клітини В1 і В2. За результатами проведених досліджень, клітини В1 є атерозахисними, головним чином завдяки продукції природних антитіл IgM, які зв'язують окиснені ліпопротеїни низької щільності (ЛПНЩ) та апоптотичні клітини, в той час як В2-лімфоцити вважаються проатерогенними [16, 17].

Наведені дані свідчать про те, що РА та інші системні ревматичні захворювання нерозривно пов'язані з розвитком атеросклерозу та ІХС з вираженими клінічними проявами. При цьому значимість класичних факторів кардіоваскулярного ризику, як і клінічний перебіг ІХС, мають суттєві відмінності від традиційних, насамперед у характері порушень обміну ліпідів, спектра ЛП крові, у вираженості системного запалення та його якісних особливостей. Однак ці питання залишаються на даний час недо-

статньо вивченими і дискусійними, що послужило підставою для проведення даного дослідження.

МЕТА РОБОТИ

Визначити динаміку змін субпопуляцій МЦ та В-лімфоцитів крові у хворих на РА та їх взаємозв'язок з активністю РА, проатерогенними порушеннями обміну ліпідів та ЛП крові, вмістом у крові аполіпопротеїну (апо)А-1, апоВ.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проведене за участю 50 хворих з РА, які поступили у відділення некоронарних хвороб серця та ревматології ДУ «ННЦ «Інститут кардіології ім. акад. М.Д. Стражеска» НАМН України. Усі хворі отримували стандартну рекомендовану терапію. В аналіз не включали хворих з тяжкою серцевою недостатністю, хронічними захворюваннями нирок і печінки. Клінічна характеристика хворих представлена в табл. 1.

Таблиця 1

Клініко-анамнестична характеристика хворих на РА

Показники	Група (n=50)
Вік, років	48,31
Жіноча стать, n (%)	50 (100,0)
Серопозитивність за РФ та/або АЦЦП, n (%)	45 (90,0)
DAS28, бали	4,81
Тривалість хвороби, років	8,03
Медикаментозна терапія, n (%):	45 (90,0)
Метотрексат (15–25 мг/тиж), n (%)	34 (75,5)
Лефлуномід (20 мг/добу), n (%)	11 (24,4)
Біологічна терапія, n (%)	27 (60,0)
Глюкокортикоїди (еквівалент 5–10 мг/добу за преднізолоном), n (%)	35 (77,7)
Гіпертонічна хвороба, n (%)	5 (10,0)
Паління, n (%)	1 (2,0)
Цукровий діабет, n (%)	1 (2,0)

РФ — ревматоїдний фактор; АЦЦП — антитіла до циклічного цитрулінового пептиду

При потраплянні в стаціонар всім хворим проводилися загальноклінічне та біохімічне дослідження крові, клінічне обстеження.

Визначення вмісту апоВ та апоА-I проводили на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі «Cormay Plus» із застосуванням стандартних наборів фірми «Cormay» (Польща). Визначали субпопуляційний склад клітин (лімфоцитів і МЦ) периферичної крові методом проточної цитометрії за допомогою реагентів для визначення кластерів диференціювання CD3, CD4, CD8, CD16/56, CD19, CD25, CD28, CD127 виробництва Beckman Coulter Inc., а також CD14, CD16 та CD45 виробництва BD Bioscience. У об'ємі 100 мкл периферичної крові, взятої з K₂EDTA в якості антикоагулянта, інкубувалися протягом 15–20 хв із сумішшю FITC — кон'югованих моноклональних антитіл до CD3 та PE — кон'югованих моноклональних антитіл до CD19, або з сумішшю FITC — кон'югованих моноклональних антитіл до CD3 та PE — кон'югованих моноклональних антитіл до CD16+, CD56, або з сумішшю FITC — кон'югованих моноклональних антитіл до CD4, PE — кон'югованих моноклональних

антитіл до CD8 та PC5 — кон'югованих моноклональних антитіл до CD3 (Beckman Coulter Inc.) в захищеному від світла місці. Після інкубації проводився лізис еритроцитів за допомогою лізуючого розчину OptiLyse, відмивання та ресуспендування клітин у фосфатно-сольовому буфері (PBC).

Субпопуляційний склад МЦ периферичної крові досліджували методом проточної цитометрії за допомогою реагентів для визначення кластерів диференціації CD14, CD16 та CD45 виробництва «BD Bioscience». У об'ємі 100 мкл периферичної крові з K_3 ЕДТА в якості антикоагулянта інкубували протягом 15–20 хв з сумішшю FITC — кон'югованих моноклональних антитіл до CD14, PE — кон'югованих моноклональних антитіл до CD16 та APC — кон'югованих моноклональних антитіл до CD45 в захищеному від світла місці. Після інкубації проводили лізис еритроцитів за допомогою лізуючого розчину OptiLyse, відмивали і ресуспендували клітини крові в фосфатно-сольовому буфері (PBC). Після інкубації проводили лізис еритроцитів за допомогою лізуючого розчину OptiLyse з подальшим додаванням 500 мкл PBC. Досліджували моноцити CD14⁺, які за рівнем експресії CD14 та CD16 розділяли на три субпопуляції: CD14⁺CD16⁻, CD14⁺CD16⁺ та CD14^{dim}CD16⁺⁺. Для оцінки ступеня активації МЦ оцінювали індекс їх активації за даними співвідношення інтенсивності світіння CD16 до абсолютної кількості клітин.

Для підрахунку кількості МЦ в мкл до суспензії клітин додавали 100 мкл флуоросфер FlowCount виробництва «Beckman Coulter Inc.», США.

Цитофлуориметричний аналіз виконували на проточному цитометрі NAVIOS (Beckman Coulter Inc.).

Для визначення субпопуляцій В-лімфоцитів 100 мкл периферичної крові інкубували протягом 15–20 хв із сумішшю FITC — кон'югованих моноклональних антитіл до CD19, PE — кон'югованих моноклональних антитіл до CD5, PC7 — кон'югованих моноклональних антитіл до CD45 в захищеному від світла місці. Далі проводили лізис еритроцитів за допомогою 500 мкл лізуючого розчину OptiLyse протягом 10 хв з наступним додаванням 500 мкл фосфатно-сольового буферу. Для підрахунку кількості клітин в мкл до суспензії клітин додавали 100 мкл флуоросфер FlowCount. Обчислення результатів виконували на апараті NAVIOS (Beckman Coulter Inc.). Розглядали субпопуляції В1-лімфоцитів з фенотипом CD45⁺ 19⁺ 5⁺ та В2-лімфоцитів з фенотипом CD45⁺ 19⁺ 5⁻.

В якості групи контролю були 15 практично здорових осіб без ознак РА.

Статистичний аналіз проводився за допомогою електронних таблиць «Microsoft Excel 2016» та статистичної програми STATISTICA (компанія StatSoft Inc, версія 7.0.61.0)

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У всіх хворих на РА встановлено наявність вираженого системного запалення. Це проявлялося підвищенням більше ніж у 10 разів вмістом СРП в плазмі крові (від $1,25 \pm 0,1$ до $14,38 \pm 1,49$ мг/л, $p < 0,001$)

та поєднувалося зі зростанням швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ) до $19,3 \pm 1,5$ мм/год.

Вміст загального ХС в крові у хворих становив ($5,36 \pm 0,21$) ммоль/л і вірогідно не відрізнявся від нормального значення ($5,01 \pm 0,22$) ммоль/л, яке визначено у практично здорових досліджених. Вміст у плазмі крові ХС ЛПНЩ був рівним ($3,41 \pm 0,16$) ммоль/л і статистично не відрізнявся від групи контролю. Концентрація ТГ в крові у досліджених пацієнтів дорівнювала ($1,11 \pm 0,10$) ммоль/л і також достовірно не відрізнялася від групи контролю. Аналогічним чином вміст ХС ЛПДНЩ в крові відповідав нормі і становив ($0,50 \pm 0,03$) ммоль/л. Вміст ХС ЛПВЩ становив ($1,45 \pm 0,11$) ммоль/л, що практично не відрізнялося від групи контролю ($1,36 \pm 0,07$) ммоль/л. Проте незважаючи на відсутність традиційних факторів атерогенезу, якісні зміни ЛП, що відображають проатерогенний потенціал крові, перш за все — вміст у ній апо-білків, у хворих з РА мали достовірний і виражений характер. Так, концентрація в крові апоА-I — основного білка ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ), який визначає їх функціональні властивості, становила ($88,7 \pm 2,94$) мг/дл і була на 35% нижчою ($p < 0,01$), ніж у практично здорових досліджених контрольної групи — ($136,2 \pm 7,52$) мг/дл. Навпаки, концентрація апоВ — головного апо-білка ЛПНЩ і ліпопротеїнів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) — становила ($107,23 \pm 4,54$) мг/дл і перевищувала на 16,5% значення, яке встановлене в осіб контрольної групи ($92,02 \pm 2,52$) мг/дл ($p < 0,05$). У результаті індексу атерогенності (ІА), який визначався як відношення концентрації апоВ до апоА-I, становив ($1,21 \pm 0,09$) ум. од. і на 70% перевищив нормальне значення ($0,71 \pm 0,19$) ум. од. ($p < 0,001$).

У пацієнтів з РА частка МЦ, що мають класичний фенотип CD14⁺CD16⁻, становила $85,2 \pm 7,7\%$ і була на 6,5% більшою, ніж у групі контролю ($p > 0,05$). Відмічалось зростання в периферичній крові субпопуляції МЦ, що продукують прозапальні цитокіни, — частка проміжних МЦ (CD14⁺CD16⁺) до $6,98 \pm 0,41\%$, що на 41% перевищувало контрольне значення ($p < 0,05$). У той же час відмічалось зменшення вмісту у крові некласичної субпопуляції МЦ (CD14^{dim}CD16⁺⁺), майже на 47% порівняно з контрольним показником ($p < 0,05$).

Кількість лімфоцитів В1 субпопуляції у хворих на РА становила $1,41 \pm 0,1\%$ ($23,4 \pm 2,7$ клітин/мкл), кількість лімфоцитів В2 субпопуляції становила $4,78 \pm 0,2\%$ ($80,35$ клітин/мкл).

У пацієнтів з РА клінічна вираженість захворювання поєднується із збільшенням вираженості ознак системного запалення. Так, ШОЕ у пацієнтів з РА 3-ї підгрупи (DAS28 III) більше ніж на 171% перевищувала аналогічний показник у пацієнтів 1-ї підгрупи (DAS28 I) ($p < 0,05$). Вміст СРП у пацієнтів 3-ї підгрупи на 65% перевищував аналогічний показник у пацієнтів 2-ї підгрупи (DAS28 II) ($p < 0,05$) та у 4 рази — у пацієнтів 1-ї підгрупи (DAS28 I) ($p < 0,001$).

Кількість МЦ класичної субпопуляції (CD14⁺CD16⁻) у відсотках мала тенденцію до зни-

Таблиця 2

Розподіл на підгрупи залежно від активності РА за шкалою DAS28

№	Показник	Середнє значення		
		DAS28 I (n=15)	DAS28 II (n=15)	DAS28 III (n=20)
1.	ШОЕ, мм/год	10,00±0,09	12,1±0,1	27,1±0,2
2.	СРП, мг/л	5,1±0,3	8,4±0,4	27,1±1,2
3.	ХС, ммоль/л	6,8±0,4	5,4±0,3	5,1±0,3
4.	ТГ, ммоль/л	1,10±0,09	1,00±0,08	1,1±0,1
5.	ХС ЛПВЩ, ммоль/л	1,64±0,11	1,4±0,1	1,3±0,1
6.	МЦ (CD14 ⁺ hiCD16 ⁻), %	87,0±6,5	85,1±7,3	84,6±6,9
7.	МЦ (CD14 ⁺ hiCD16 ⁺), %	5,0±0,4	7,2±0,5	7,9±0,4
8.	МЦ (CD14 ^{dim} CD16 ⁺), %	8,0±0,5	7,7±0,4	7,5±0,6
9.	МЦ (CD14 ⁺ hiCD16 ⁻), мкл	688,5±37,4	608,3±28,4	454,2±23,7
10.	МЦ (CD14 ⁺ hiCD16 ⁺), мкл	56,7±3,7	69,3±4,1	65,3±3,1
11.	МЦ (CD14 ^{dim} CD16 ⁺), мкл	46,7±3,8	42,0±2,6	44,2±2,5
12.	B1, %	2,5±0,1	1,10±0,07	1,7±0,1
13.	B2, %	2,1±0,1	5,1±0,2	4,4±0,2
14.	B1, мкл	56,1±3,2	22,4±1,5	24,6±1,7
15.	B2, мкл	48,5±2,6	90,3±4,2	98,1±4,8
16.	апоА-1, мг/дл	96,4±6,1	90,3±5,7	78,1±4,2
17.	апоВ, мг/дл	100,3±8,9	106,2±6,8	115,1±8,8

ження зі зростанням активності РА. Більш виражено ці зміни відображалися в абсолютних значеннях — кількості клітин у мкл. Так у пацієнтів 3-ї підгрупи кількість МЦ класичної субпопуляції на 34% була меншою, ніж у пацієнтів 1-ї підгрупи, і на 25% порівняно з аналогічним показником у пацієнтів 2-ї підгрупи ($p<0,05$). У той же час кількість МЦ проміжної субпопуляції збільшувалася паралельно із підвищенням активності РА. Кількість цих МЦ у пацієнтів 2-ї підгрупи на 44% перевищувала аналогічний показник у хворих 1-ї підгрупи, а 3-ї підгрупи — на 58% ($p<0,05$). Аналогічним чином, але меншою мірою відмічалось зростання МЦ субпопуляції (CD14⁺hiCD16⁺), визначене в абсолютних значеннях. У той же час кількість МЦ патрулюючої субпопуляції прогресивно зменшувалася паралельно з підвищенням активності РА на рівні тенденції.

Кількість лімфоцитів В1 субпопуляції прогресивно зменшувалася у пацієнтів зі збільшенням вираженості основного захворювання. Найбільше таке зниження відмічалось у пацієнтів 2-ї підгрупи (DAS28 II). Кількість В1 лімфоцитів у них більше ніж у 2 рази була меншою як у відсотках, так і в абсолютних значеннях, ніж у пацієнтів 1-ї підгрупи ($p<0,05$). У той же час відмічалось збільшення кількості у них В2-лімфоцитів більше ніж у 2 рази ($p<0,05$).

Вміст холестерину (ХС) у крові пацієнтів на РА прогресивно знижувався паралельно зростанню активності системної запальної реакції. Так, якщо у пацієнтів 1-ї підгрупи цей показник становив 6,8±0,4 ммоль/л, то у пацієнтів 2-ї підгрупи він був на 20% менше (5,4±0,3 ммоль/л), а 3-ї — на 25% ($p<0,05$). Вміст тригліцеридів у пацієнтів усіх підгруп був в межах нормальних значень, а ХС ЛПВЩ прогресивно знижувався, і у хворих 3-ї підгрупи був на 30% меншим, ніж у пацієнтів 1-ї підгрупи, проте в межах референтних значень. Разом з тим аналіз змін вмісту у крові апо-білків свідчив про зростання атерогенного потенціалу крові у хворих із підвищенням активності системного за-

палення та активності РА. Вміст апоА-I у хворих усіх підгруп вірогідно перевищував контрольне значення. Відмічалось прогресивне і достовірне зменшення вмісту апоА-I паралельно зростанню активності РА, і у хворих 3-ї підгрупи цей показник був на 43% меншим, ніж в нормі, та на 19% порівняно з аналогічним показником у хворих 1-ї підгрупи ($p<0,05$). Концентрація апоВ у крові пацієнтів в усіх підгрупах перевищувала нормальне значення, найвищий показник відмічався у хворих з найвищою активністю РА і на 25% перевищував контрольне значення ($p<0,05$) та був на 15% більше, ніж у пацієнтів 1-ї підгрупи. У результаті індекс атерогенності (ІА), який визначався як відношення концентрації апоВ до апоА-I, становив (1,04±0,06) ум. од. у хворих 1-ї підгрупи, (1,18±0,07) ум.од. у пацієнтів 2-ї підгрупи, (1,47±0,08) ум. од. у пацієнтів 3-ї підгрупи, що на 46; 66 та 107% відповідно перевищувало референтне значення (0,71±0,19) ум. од. ($p<0,001$).

ОБГОВОРЕННЯ

Дані численних клінічних та експериментальних досліджень свідчать про те, що РА та інші системні ревматичні захворювання нерозривно пов'язані з розвитком атеросклерозу та ІХС з вираженими клінічними проявами. Проте значимість класичних факторів кардіоваскулярного ризику має суттєві відмінності від традиційних, насамперед у характері порушень обміну ліпідів, спектра ЛП крові, у вираженості системного запалення та його якісних особливостей. Отримані в даному дослідженні результати підтверджують дані літератури. Так, отримані дані свідчать про те, що у хворих на РА із підвищенням активності захворювання та інтенсивності системного запалення рівні загального ХС, тригліцеридів та ХС ЛПВЩ знижуються і залишаються в межах нормальних значень.

Очевидна розбіжність між вираженістю традиційних факторів атерогенезу і характером судинного ураження виявлено у порівняльному дослідженні за участю 84 пацієнтів з РА без клініки кардіоваскулярної патології та у 48 осіб з ЦД 2-го типу. Встановлено, що всі маркери доклінічного атеросклерозу типу порушення функції ендотелію, зростання ІМТ сонних артерій, жорсткості артеріальної стінки і структури атеросклеротичних бляшок були більш виражені при РА, ніж у осіб з ЦД 2-го типу, незважаючи на достовірно менш виражені порушення метаболічного профілю, але при значно більш високій інтенсивності запалення [14].

При проведенні аутопсії в осіб з РА відзначені істотні відмінності у характері ушкодження коронарних артерій порівняно з тим, який відмічається в осіб з типовим перебігом ІХС. Так, наявність РА часто поєднувалася із багатосудинним ураженням серця, вираженість стенозуючого ураження у більшості випадків була помірною, а у гістологічних проявах атеросклерозу переважали зміни у вигляді нестабільних бляшок з високим вмістом ліпідів і рівнем запалення, хоча показники обміну ліпідів та ЛП крові у них залишалися в межах нормальних значень [7, 9].

Незважаючи на практично нормальні рівні загального ХС, тригліцеридів, ЛПВЩ, особливо у пацієнтів 3-ї групи з найвищими ознаками системного запалення, вміст у них в крові апоВ білка як основного апо-білка проатерогенних ЛПНЩ та ЛПДНЩ був значно підвищеним. У той же час, незважаючи на нормальний вміст ХС ЛПВЩ у хворих на РА, концентрація апоА-I — основного білка ЛПВЩ, що визначає їх функціональні властивості, майже у 2 рази була нижчою у пацієнтів з найвищим показником інтенсивності системного запалення порівняно з нормою. У результаті індекс атерогенності (ІА), який визначався як відношення концентрації апоВ до апоА-I, на 70% перевищив нормальне значення, що свідчило про значне зростання атерогенного потенціалу і наявність у крові проатерогенних ЛП у хворих на РА.

У ряді проведених останнім часом досліджень показано, що аналогічні зміни показників проатерогенного статусу не специфічні для системних ревматичних захворювань, а є наслідком запалення високої градациї. Показано, що хронічне запалення в осіб з РА поєднується зі зменшенням плазмового змісту загального ХС, ХС ЛПНЩ і ЛПВЩ. Запалення супроводжується появою аномальних прозапальних ЛПВЩ і окиснених ЛПНЩ [2].

Результати цілого ряду експериментальних і клінічних досліджень свідчать про те, що нативні ЛП крові не чинять атерогенної дії, незалежно від їх концентрації. Тільки при модифікації, головним чином перекисної природи, ЛП стають чужорідними для організму і захоплюються макрофагами через скавенджер-рецептори з утворенням пінистих клітин. Загальновизнано, що цей процес є ключовим у патогенезі атеросклерозу і він не пов'язаний прямою залежністю з плазмовим вмістом ХС або ЛПНЩ. Хоча наявність гіперхолестеринемії відображає підвищений ризик розвитку атеросклерозу, він визначається не підвищенням рівня ХС, а здатністю ЛПНЩ ініціювати аутоокиснення з виникненням проатерогенної форми.

У пацієнтів з РА практично немає можливості достовірно прогнозувати ризик розвитку кардіоваскулярних фіналів, і навіть бальна Фремінгемська оцінка традиційних факторів ризику не дає такої можливості. У той же час встановлено, що концентрація окиснених ЛПНЩ у осіб з РА й ангіографічно доведеним ураженням коронарних артерій підвищена в 2 рази, і її прогностична значимість істотно преважує над значимістю інтегральної оцінки факторів ризику [17].

Підтвердженням ролі системного запалення в атерогенній модифікації ЛП крові є збільшення проміжної субпопуляції МЦ (CD14+hiCD16+) у пацієнтів паралельно зі зростанням концентрації СРП у плазмі крові [13, 15]. Для цих МЦ характерні помірна фагоцитарна активність, обмежена здатність до респіраторного вибуху та синтезу хемокінів при одночасному активному синтезі прозапальних цитокінів (фактор некрозу пухлин- α (TNF α), інтерлейкін (IL)-1 β , IL-6), що не характерно для інших субпопуляцій [6, 11]. Завдяки цим особливостям про-

міжна субпопуляція МЦ здатна підтримувати активну системну запальну реакцію та брати участь в ураженні тканин, стимулюючи локальне запалення, а також через активацію перекисного окиснення ліпідів у атерогенній модифікації ЛП крові [5, 10].

У ряді експериментальних і клінічних досліджень встановлено, що як гостре запалення високої градациї, ініційоване високими дозами цитокінів, так і хронічне запалення при РА є самостійними незалежними факторами розвитку кардіоваскулярної патології, при тому що поєднуються із незаконними змінами плазмового рівня ХС і ХС ЛПНЩ. У дослідженні, проведеному за участю пацієнтів з контрольованим РА і незначно вираженими традиційними факторами ризику, виявлена виражена залежність між вмістом у крові маркерів запалення типу IL-6 і ФНП- α і кровотікзалежною дилатацією як показником функції ендотелію магістральних артерій, вираженістю реактивної гіперемії — маркером функції ендотелію мікросудин, а також зі швидкістю проведення пульсової хвилі — індексом жорсткості судинної стінки. Ці дані підтримують гіпотезу, відповідно до якої системне запалення є чинником, що лежить в основі розвитку судинної дисфункції як у великих судинах, так і в мікроциркуляторному руслі [12].

У ряді клінічних досліджень показано, що у пацієнтів з високою активністю системного запалення як при анкілозуючому спондиліті, так і при РА паралельно з підвищенням плазмового рівня модифікованих ЛПНЩ і ЛПДНЩ зменшується вміст нативних і зростає кількість дисфункціональних ЛПВЩ в результаті заміщення у їх складі протизапального апоА-I на апоА-II і амілоїдний білок А сироватки крові (SAA), які чинять прозапальну дію і блокують основну антиатерогенну дію ЛПВЩ, що полягає у забезпеченні відтоку ХС з клітин.

Зворотний транспорт ХС із тканин відбувається за рахунок захоплення вільного ХС з поверхні клітин дискоїдальними насцентними ЛПВЩ. ХС може спонтанно дифундувати з поверхні клітин на ЛПВЩ або захоплюватися ними після взаємодії апоА-I зі специфічним клітинним рецептором ЛПВЩ, що сприяє посиленому переміщенню ХС на клітинну мембрану. Основні білки зворотного транспорту ХС — АТФ-зв'язані касетні транспортери А1 та G1, необхідні для ефективною мобілізації ХС з макрофагів та попередження їх трансформації у пінисті клітини. Активатором цих транспортерів є білок апоА-I у складі ЛПВЩ. Відмічено, що при активації системного запалення та підвищеній продукції прозапальних цитокінів відбувається заміщення білка апоА-I в ЛПВЩ на апоА-II. Дані білки виявляють діаметрально протилежні функціональні властивості, і заміщення апоА-I на апоА-II в ЛПВЩ принципово змінює їх функцію, починаючи із захоплення відтікаючого з клітин вільного ХС, активації лецитинхолестеринацилтрансферази (ЛХАТ) та білка, що транспортує ефіри ХС (БТЕХ) в ЛПВЩ і закінчуючи специфічним захопленням ефірів ХС гепатоцитами. Відомо, що гіперекспресія апоА-I попереджає розвиток аліментарного атеросклерозу в експери-

менті, і вираженість цього антиатерогенного ефекту зменшується при гіперекспресії апоА-II [2, 3].

Крім того, за результатами досліджень останніх років, встановлено, що в умовах системного запалення зростає продукція антитіл до апоА-I ЛПВЩ, що пригнічує антиатерогенні властивості ЛПВЩ у хворих на РА. В-лімфоцити поділяються на 2 основні субпопуляції: клітини В1 та В2. Лімфоцити В1 є антиатерогенними та атеропротекторними, головним чином за рахунок продукції природних антитіл IgM, які зв'язують окиснені ЛПНЩ та ЛПДНЩ. В умовах активації системного запалення під впливом прозапальних цитокінів превалює субпопуляція В2-лімфоцитів в крові у хворих на системні ревматичні захворювання. Однією з проатерогенних функцій цих лімфоцитів є продукція антитіл до апоА-I, що пригнічує здатність ЛПВЩ до захоплення ХС з клітин периферичних тканин та макрофагів [16, 17].

Ці дані підтверджені результатами дослідження. У хворих на РА паралельно зі зростанням інтенсивності системного запалення відмічалася зменшення вмісту білка апоА-I. Зменшувалася кількість лімфоцитів В1-субпопуляції, що чинять антиатерогенну дію. Крім того, збільшувався вміст В2-субпопуляції лімфоцитів, що здатні продукувати антитіла до апоА-I білка.

ВИСНОВКИ

1. У хворих на РА паралельно зі зростанням активності системного запалення відмічається підвищення проатерогенного потенціалу крові.

2. Традиційні показники обміну ліпідів та ЛП крові у хворих з високою активністю РА залишаються в межах нормальних значень, що значно ускладнює діагностику доклінічних стадій атеросклерозу, визначення прогнозу і тому затримує початок лікування, знижує його ефективність.

3. Патогенетичними механізмами проатерогенних порушень ЛП крові у хворих на РА можуть бути зміни субпопуляційного складу МЦ та ЛП крові.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Charles-Schoeman C. (2012) Cardiovascular disease and rheumatoid arthritis: an update. *Curr. Rheumatol. Rep.* Vol. 14(5): 455–462.
2. Charles-Schoeman C., Lee Y.Y., Grijalva V. et al. (2012) Cholesterol efflux by high density lipoproteins is impaired in patients with active rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* Vol. 71: 1157–1162.
3. Demina E.P., Miroshnikova V.V., Shvartsman A.L. (2016) The role of ABC transporters A1 and G1 – key proteins of reverse cholesterol transport – in the development of atherosclerosis. *Molecular biology.* Vol. 50(2): 223–230.
4. Ferguson L.D., Siebert S., McInnes I.B. et al. (2019) Cardiometabolic comorbidities in RA and PsA: lessons learned and future directions. *Nat. Rev. Rheumatol.* Vol. 15(8): 461–474.
5. Frangogiannis N.G. (2012) Regulation of the inflammatory response in cardiac repair. *Circ. Res.* Vol. 110: 159–173.
6. Hilgendorf I., Gerhardt L.M.S., Tan T.C. et al. (2014) Ly-6C^{hi} monocytes depend on Nr4a1 to balance both inflammatory and reparative phases in the infarcted myocardium. *Circ. Res.* Vol. 114: 1611–1622.
7. Kaneva A.M., Potolitsyna N.N., Bojko E.R. et al. (2015) The Apolipoprotein B/Apolipoprotein A-I Ratio as a Potential Marker of Plasma Atherogenicity. *Dis. Markers.* Vol. 5: 591–595.

8. Mahmoudi M., Aslani S., Fadaei R. et al. (2017) New Insights to the Mechanisms Underlying Atherosclerosis in Rheumatoid Arthritis. *Int. J. Rheum. Dis.* Vol. 20(3): 287–297.

9. Metsios G.S., Stavropoulos-Kalinoglou A., Panoulas V.F. et al. (2009) Association of physical inactivity with increased cardiovascular risk in patients with rheumatoid arthritis. *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.* Vol. 16: 188–194.

10. Nahrendorf M., Swirski F.K., Aikawa E. et al. (2007) The healing myocardium sequentially mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions. *J. Exp. Med.* Vol. 204: 3037–3047.

11. Prabhu S.D. (2014) It takes two to tango: monocyte and macrophage duality in the infarcted heart. *Circ. Res.* Vol. 114: 1558–1560.

12. Sinnathurai P., Buchbinder R., Hill C. et al. (2018) Comorbidity in psoriatic arthritis and rheumatoid arthritis. *Intern. Med. J.* Vol. 48(11): 1360–1368.

13. Shantsila E., Lip G.Y.H. (2009) Monocytes in Acute Coronary Syndromes//*Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* Vol. 29: 1433–1438.

14. Stamatiopoulos K.S., Kitas G.D., Papamichael C.M. et al. (2009) Atherosclerosis in rheumatoid arthritis versus diabetes: a comparative study. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* Vol. 29: 1702–1708.

15. Swirski F.K., Robbins C.S. (2013) Neutrophils usher monocytes into sites of inflammation. *Circ. Res.* Vol. 112: 744–745.

16. Tsiantoulas D., Sage A.P., Mallat Z. et al. (2015) Targeting B cells in atherosclerosis: closing the gap from bench to bedside. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* Vol. 35(2): 296–302.

17. Vuilleumier N., Bas S., Pagano S. et al. (2010) Anti-apolipoprotein A-1 IgG predicts major cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis a. Rheumatism.* Vol. 62: 2640–2650.

РОЛЬ СУБПОПУЛЯЦІЙ В-ЛИМФОЦИТІВ І МОНОЦИТІВ В ФОРМУВАННІ ПРОАТЕРОГЕННИХ НАРУШЕНЬ У БОЛЬНИХ С РЕВМАТОЙДНИМ АРТРИТОМ

Е.А. Гармиш, В.Г. Левченко

ГУ ННЦ «Інститут кардіології
ім. акад. Н.Д. Стражеско» НАМН України

Резюме. Цель исследования — определение динамики изменений субпопуляций моноцитов и В-лимфоцитов крови у больных с ревматоидным артритом (РА) и их взаимосвязь с активностью РА, проатерогенными нарушениями обмена липидов и липопротеинов (ЛП) крови, содержанием в крови аполипопротеинов (апо) А-I, апоВ. **Материалы и методы.** У всех пациентов оценивали спектр липидов и ЛП в крови с дополнительным определением плазменного уровня апоВ и апоА-I. Определяли субпопуляционный состав клеток (лимфоцитов и моноцитов) периферической крови методом проточной цитометрии с помощью реагентов для определения кластеров дифференциации CD3, CD4, CD5, CD8, CD19, CD14, CD16 и CD45 производства Beckman Coulter Inc. Цитофлуориметрический анализ был выполнен на аппарате NAVIOS (Beckman Coulter Inc.). **Результаты.** У пациентов с РА традиционные показатели обмена липидов и ЛП крови остаются в пределах нормальных значений при повышенном содержании у них С-реактивного протеина и скорости оседания эритроцитов (СОЭ) в крови. При этом концентра-

ция в крови апоА-I была на 35% ниже, чем в контроле ($p < 0,01$). Концентрация апоВ — главного апо-белка ЛПНП и ЛПОНП, напротив, на 16,5% превышала контрольное значение ($p < 0,05$). В результате индекс атерогенности на 70% превышал нормальное значение ($p < 0,001$). Повышение активности РА сочеталось со снижением количества моноцитов классической (CD14+hiCD16-) и патрулирующей (CD14+hiCD16+) субпопуляций при увеличении количества моноцитов промежуточной субпопуляции. Параллельно отмечалось снижение субпопуляции В1-лимфоцитов с увеличением количества лимфоцитов субпопуляции В2. **Выводы.** У больных с РА параллельно с повышением активности системного воспаления отмечается возрастание проатерогенного потенциала крови. Традиционные показатели обмена липидов и ЛП крови у больных с высокой активностью РА остаются в пределах нормальных значений, что существенно осложняет диагностику доклинических стадий атеросклероза, определение прогноза, поэтому задерживает начало лечения, снижает его эффективность. Патогенетическими механизмами проатерогенных нарушений ЛП крови у больных с РА могут быть изменения субпопуляционного состава МЦ и ЛП крови.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, атеросклероз, липиды, липопротеины, метаболизм, апоА-I, апоВ, В-лимфоциты, моноциты.

THE ROLE OF B-LYMPHOCYTE AND MONOCYTE SUBPOPULATIONS IN THE FORMATION OF PROATHEROGENIC DISORDERS IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

O.O. Garmish, V.G. Levchenko

National Scientific Center «M.D. Strazheska Institute of Cardiology»

Abstract. The aim of the study was to determine the dynamics of changes in subpopulations of blood monocytes and B-lymphocytes in patients with rheumatoid arthritis (RA) and their relationship with RA activity, proatherogenic disorders of lipid and LP metabolism, the content of apo-AI and apo-B in

the blood. **Materials and methods.** In all patients, the spectrum of lipids and lipoproteins in the blood was assessed with additional determination of the apoB and apoA-1 plasma levels. The cells subpopulation composition (lymphocytes and monocytes) of peripheral blood was determined by flow cytometry using reagents for determining differentiation clusters CD3, CD4, CD5, CD8, CD19, CD14, CD16, and CD45 manufactured by Beckman Coulter Inc. Cytofluorometric analysis was performed on a NAVIOS apparatus (Beckman Coulter Inc.). **Results.** In patients with RA, traditional indicators of blood lipid and LP metabolism remain within the normal range with an increased content of C-reactive protein and ESR in their blood. At the same time, the concentration of apoA-1 in the blood was 35% lower than in the control group ($p < 0.01$). The concentration of apoB — the main apo-protein of LDL and VLDL, on the contrary, was 16.5% higher than the control value ($p < 0.05$). As a result, the atherogenic index was 70% higher than the normal value ($p < 0.001$). The increase in RA activity was associated with a decrease in the number of the classical (CD14 + hiCD16-) and patrolling (CD14 + hiCD16+) monocytes subpopulations with an increase in the monocytes count of the intermediate subpopulation. In parallel, a decrease in the B1 lymphocytes subpopulation of with a decrease in the number of of the B2 lymphocytes subpopulation was noted. **Conclusions.** In patients with RA, in parallel with an increase in the activity of systemic inflammation, an increase in the proatherogenic potential of the blood is noted. The traditional indicators of lipid and LP metabolism in patients with high RA activity remains within the normal range, which significantly complicates the diagnosis of preclinical stages of atherosclerosis, determining the prognosis, and therefore delays the treatment start and reduces its effectiveness. The pathogenetic mechanisms of proatherogenic disorders of blood LP in patients with RA may be changes in the subpopulation composition of blood MC and LP.

Key words: rheumatoid arthritis, atherosclerosis, lipids, lipoproteins, metabolism, apoA-I, apoB, B-lymphocytes, monocytes.