

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

ДУРОСОВА Полина Алексеевна

**ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ НЕОДНОРОДНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ И
ГОРМОНАЛЬНЫЙ ДИСБАЛАНС У БОЛЬНЫХ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ
ВОЛЧАНКОЙ И СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ**

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук
доцент М.В. Ильин

доктор медицинских наук
доцент Н. В. Романова

Ярославль – 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 Функциональная неоднородность нейтрофилов при системной красной волчанке и системной склеродермии.....	13
1.2 Роль кислородзависимого метаболизма нейтрофилов, активных форм азота и системного воспаления в патогенезе аутоиммунных заболеваний	22
1.3 Роль гормонального дисбаланса в патогенезе аутоиммунных заболеваний.	29
1.4 Взаимосвязь функциональной активности нейтрофилов и уровня половых гормонов	34
1.5 Возможности терапевтической коррекции нарушений функциональной активности нейтрофилов.....	37
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	40
2.1 Клиническая характеристика больных	40
2.1.1 Клиническая характеристика больных системной красной волчанкой	43
2.1.2 Клиническая характеристика больных системной склеродермией.....	45
2.2 Методы исследования	47
2.3 Статистическая обработка данных	52
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	54
3.1 Функциональная неоднородность нейтрофилов при системной красной волчанке	54
3.2 Функциональная неоднородность нейтрофилов при системной склеродермии	72
3.3 Изменение содержания эстрадиола и тестостерона в крови больных системной красной волчанкой и системной склеродермией	88
3.4 Взаимосвязь показателей кислородзависимого метаболизма нейтрофилов и гормонального спектра при СКВ и ССД.....	99
3.5 Изменение показателей функциональной активности нейтрофилов у больных СКВ и ССД в зависимости от наступления менопаузы	104

ГЛАВА 4. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ НЕОДНОРОДНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ И ГОРМОНАЛЬНЫЙ ДИСБАЛАНС ПРИ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ И СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИИ: КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ.....	108
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	123
ВЫВОДЫ	144
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	146
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	147
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	150
ПРИЛОЖЕНИЕ А	175
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	178
ПРИЛОЖЕНИЕ В	181

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

В последние десятилетия ревматические болезни привлекают к себе повышенное внимание. По обобщенным данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) ревматическими заболеваниями обусловлены 30% случаев временной нетрудоспособности и 10% общей инвалидности. Статистические данные, полученные в разных странах мира, свидетельствуют о безусловном значении ревматических болезней в состоянии здоровья населения, поскольку от 16% до 23% популяции в возрасте старше 15 лет страдают различными заболеваниями этой группы. Большое социальное значение определяется не только их распространенностью, но и развитием у значительного числа больных временной и стойкой нетрудоспособности преимущественно в молодом возрасте. Помимо ранней инвалидизации работающего населения и сокращения продолжительности жизни, значение также имеет высокая стоимость лечения таких пациентов [3].

По всем вышеперечисленным характеристикам ревматические болезни находятся среди наиболее социально значимых заболеваний, оказывающих негативное влияние не только на самого больного и его семью, но и на общество, в целом.

Несмотря на относительно небольшую, в сравнении с ревматическими заболеваниями суставов, распространенность системного поражения соединительной ткани (0,4 - 4%), она продолжает оставаться в центре внимания медицинской науки, так как до настоящего времени в лечебном арсенале ощущается дефицит средств, способных остановить прогрессирование патологического процесса, что приводит к высокой летальности в данной группе [31].

Эффективность борьбы с данными заболеваниями зависит от уточнения причин и механизма развития этих заболеваний, ранней постановки диагноза,

адекватной патогенетической терапии и ее контроля, а также успешной профилактики заболеваний. К сожалению, ни одна из этих задач в настоящее время целиком не решена [12]. Помимо этого, и системная красная волчанка (СКВ) и системная склеродермия (ССД), характеризуются выраженным клиническим полиморфизмом, что затрудняет своевременную диагностику начала этих заболеваний. Первые симптомы их часто схожи со многими распространенными внутренними болезнями. Трудности решения этих проблем связаны с неопределенностью отдельных патогенетических механизмов указанных заболеваний [12].

Исследования последних лет демонстрируют большой прогресс в понимании молекулярно-клеточных механизмов развития СКВ и ССД. Установлено, что основой развития ревматических болезней является аутоиммунная воспалительная реакция. При этом в результате воспалительного процесса не элиминируются этиологические повреждающие факторы, которые, в большинстве случаев, остаются неизвестными. Кроме того, персистенция повреждающего агента часто сопутствует нарушению механизмов, ограничивающих интенсивность воспалительных реакций. Что приводит к усилению и хронизации воспаления, и как следствие к дальнейшему поражению тканей, нарушению функций органов и систем организма [55].

В процессе воспаления принимают участие макрофаги, нейтрофилы, лимфоциты, моноциты, тромбоциты и эндотелий сосудов. В регуляции сосудистых и клеточных реакций принимает участие большое число биологически активных веществ. Известно, что главными клетками, принимающими участие в развитие аутоиммунного воспаления, являются лимфоциты. Однако в последнее время появилось много работ, доказывающих значительную роль нейтрофилов (Нф) в патогенезе СКВ и ССД [33].

Нейтрофилы составляют основную массу всех лейкоцитов, обладают выраженной способностью к фагоцитозу, будучи продуцентами активных форм кислорода (АФК), синтезу веществ с бактерицидным действием (лизоцима, интерферона, миелопероксидазы, лактоферрина), а также медиаторов воспаления

(лейкотриенов). Таким образом, данные клетки являются перспективным объектом для изучения их роли в патогенезе ревматических заболеваний.

В проведенных ранее исследованиях установлено, что при активном воспалении гиперпродукция АФК нейтрофилами сопряжена с увеличением интенсивности их апоптоза, что является одним из механизмов, способствующих ограничению воспалительного процесса [56]. В тоже время имеются доказательства неоднородности нейтрофилов в зависимости от их функциональной активности (ФА).

Оказалось, что нейтрофилы одного класс: нейтрофилы-киллеры (Нк), потенциальные фагоциты, контактируют с субстратом и интенсивно генерируют АФК, вследствие чего инактивируются. Нейтрофилы другого класса: нейтрофилы-кейджеры (Нс) в меньшей мере продуцируют АФК и исключительно с целью самозащиты, не контактируют с субстратом, не инактивируются и, вероятно, выполняют в фагоцитозе вспомогательные функции, например, контролируют действие вазоактивных медиаторов и компонентов комплемента. Можно предположить, что активация нейтрофильных гранулоцитов имеет особенности, обусловленные присутствием среди них клеток двух классов [19].

Помимо клеточного иммунитета при развитии системных заболеваний соединительной ткани определяются нарушения гормонального статуса пациентов. СКВ и ССД – это заболевания поражающие в большинстве случаев женщин. Установлено, что гормоны репродукции обладают способностью стимулировать нейтрофильный фагоцитоз и повышают окислительный потенциал как интактных, так и активированных нейтрофилов [65].

Таким образом, исследование феномена функциональной неоднородности нейтрофилов, а также выявление взаимосвязей между функциональной активностью нейтрофилов и концентрацией половых гормонов у больных системной красной волчанкой и системной склеродермией, представляется актуальной проблемой.

Цель исследования

Установить клинико-патогенетическое значение феномена функциональной неоднородности нейтрофилов и гормонального дисбаланса у больных системной красной волчанкой и системной склеродермией.

Задачи исследования

1. Исследовать состояние кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у больных системной красной волчанкой и системной склеродермией в зависимости от уровня биоцидности клеток, указывающей на их функциональную неоднородность.

2. Выявить особенности функционирования нейтрофилов, обладающих низким, средним и высоким уровнем кислородзависимого метаболизма, при системной красной волчанке и системной склеродермии.

3. Исследовать изменение концентрации половых гормонов в группах больных системной красной волчанкой и системной склеродермией с различной функциональной активностью клеток и установить наличие взаимосвязи между концентрацией эстрадиола, тестостерона, коэффициентом эстрогении и интенсивностью кислородзависимых реакций.

4. Установить клинико-патогенетическое значение феномена функциональной неоднородности нейтрофилов у больных системной красной волчанкой и системной склеродермией.

5. Определить клинические и лабораторные факторы, обладающие наибольшим влиянием на активацию нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с системной красной волчанкой и системной склеродермией.

Научная новизна

1. Впервые продемонстрировано наличие феномена функциональной неоднородности нейтрофилов у больных системной красной волчанкой и системной склеродермией.

2. Впервые исследовано изменение показателей биоцидности нейтрофилов в группах с высокой, средней и низкой функциональной активностью клеток в зависимости от возраста пациентов, формы и длительности заболевания, активности и характера течения патологического процесса при СКВ и ССД.

3. Впервые на основании комплексного исследования установлена взаимосвязь между показателями экспрессии факторов окислительного стресса нейтрофилов и концентрацией половых гормонов у больных СКВ и ССД.

4. Впервые установлено клинико-патогенетическое значение феномена функциональной неоднородности нейтрофилов при СКВ и ССД.

Теоретическая и практическая значимость работы

1. Полученные результаты позволяют уточнить механизмы развития системной красной волчанки и системной склеродермии в связи с наличием феномена функциональной неоднородности нейтрофилов.

2. Дифференцированное определение показателей биоцидности нейтрофилов является эффективным лабораторным методом оценки характера течения и активности заболевания.

3. Исследование показателей окислительного стресса нейтрофильных гранулоцитов в группах с высокой, средней и низкой функциональной активностью клеток позволяет оценить эффективность терапии больных СКВ и ССД.

Соответствие паспорту научной специальности

Основные научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология, а именно области исследований «Фундаментальные исследования, посвященные изучению строения, функционирования иммунной системы и механизмов иммунной защиты. Изучение патогенеза иммунозависимых заболеваний (иммунодефицитных состояний, аллергической и аутоиммунной патологии).

Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики аллергических и иммунопатологических процессов».

Внедрение результатов в практику

Методы исследования показателей кислородзависимого метаболизма нейтрофилов и продукции метаболитов оксида азота внедрены в работу ревматологического отделения ГБУЗ ЯО «Областная клиническая больница», Межкафедральной иммунологической лаборатории ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, что позволило усовершенствовать и расширить методы диагностики ревматических заболеваний. Исследование параметров биоцидности нейтрофилов применяется для оценки эффективности проводимого лечения в стационаре. Результаты работы включены в лекционный материал и программу практических занятий для обучающихся кафедры терапии Института последипломного образования и кафедры микробиологии с вирусологией и иммунологией ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России.

Основные положения, выносимые на защиту

1. При системной красной волчанке и системной склеродермии наблюдается феномен функциональной неоднородности нейтрофилов.
2. Существует взаимосвязь между показателями функциональной активности нейтрофилов и уровнем половых гормонов в сыворотке крови у пациентов с СКВ и ССД.
3. Функциональная неоднородность нейтрофилов у больных с СКВ и ССД коррелирует с клинико-патогенетической картиной заболевания.

Степень достоверности и апробация результатов

Научные положения, описанные данные, выводы и рекомендации, сформулированные в работе, базируются на обследовании 50 больных СКВ и 28 больных ССД, контрольную группу составили 25 относительно здоровых донора. Дизайн исследования включал клиническую оценку исследуемых, а также современные лабораторные исследования. Исследование проводилось с

использованием хемилюминесцентного метода с добавлением люминола и люцигенина, иммуноферментного анализа. В работе проанализированы 20 специфических иммунологических параметра, которые определялись на базе лаборатории ГБУЗ ЯО «Областная клиническая больница», где автор был соисполнителем. Полученные данные были статистически обработаны в лицензионной программе «Statistica 10.0» (StatSoft Inc.) с использованием параметрических и непараметрических методов оценки результатов. Учитывая вышесказанное, можно считать, что полученные научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, являются достаточно обоснованными и достоверными.

Диссертационная работа прошла апробацию на заседании Проблемной комиссии по ревматологии, кардиологии и внутренним болезням ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, совместном заседании кафедр ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России по терапевтическим дисциплинам (кафедра терапии Института последипломного образования, кафедра микробиологии с вирусологией и иммунологией, кафедра пропедевтики внутренних болезней, кафедра госпитальной терапии с профпатологией, кафедра терапии педиатрического факультета, кафедра поликлинической терапии и клинической лабораторной диагностики с курсом ОВП ИПДО, кафедра клинической фармакологии с курсом ИПДО). Основные положения и выводы диссертации были представлены автором на Международной научно-практической конференции «Проблемы современной медицины: актуальные вопросы» (6 ноября 2014 г., г. Красноярск); IX Национальном Конгрессе Терапевтов (12-14 ноября 2014 г., г. Москва); VII Международной научно-практической конференции «Научные перспективы XXI века. Достижения и перспективы нового столетия» (12-13 декабря 2014 г., г. Новосибирск); IV Международной научно-практической конференции «Современная биология: актуальные вопросы» (27-30 декабря 2014 г., г. Санкт-Петербург); III Международной научно-практической конференция «Проблемы медицины в современных условиях» (11 июня 2016 г., г. Казань); III Международной научно-практической конференции «О некоторых вопросах и

проблемах современной медицины», (11 июля 2016 г., г. Челябинск); IV Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы и достижения в медицине», (11 апреля 2017 г., г. Самара); I Терапевтическом форуме "Мультидисциплинарный больной", I Всероссийской конференции молодых терапевтов», (16-17 мая 2017 г., г. Москва); XVI Всероссийском научном форуме «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге», (5-8 июня 2017 г., г. Санкт-Петербург).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 20 работ, из них 10 оригинальных статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для публикации материалов исследований, представляемых на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автором самостоятельно проведен аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме, составлена программа исследования, разработана методологическая основа, проведено обследование пациентов (личное участие 100%).

Математико-статистическая обработка проводилась с участием автора (личное участие - 85%). Анализ, интерпретация, изложение полученных данных, формулирование выводов и практических рекомендаций выполнены автором (доля личного участия - 100%).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 182 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, двух глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций и указателя литературы. Диссертация иллюстрирована 52 таблицами и 11 рисунками. Библиографический указатель содержит 208 источников, в том числе 56 отечественных и 152 иностранных.

Работа выполнена на кафедрах терапии Института последипломного образования (зав. кафедрой – доктор медицинских наук, доцент М.В. Ильин), кожных и венерических болезней (зав. кафедрой – доктор медицинских наук, доцент Н.В. Романова), микробиологии с вирусологией и иммунологией (зав. кафедрой - Почетный работник высшего профессионального образования РФ, доктор медицинских наук, профессор В.А. Романов) ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России (ректор – Заслуженный работник высшей школы РФ, доктор медицинских наук, профессор А.В. Павлов), на базе экстренной лаборатории, ревматологического отделения и отделения функциональной диагностики ГБУЗ ЯО «Областная клиническая больница» (главный врач – Корнилов А.А.).

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Функциональная неоднородность нейтрофилов при системной красной волчанке и системной склеродермии

Диффузные болезни соединительной ткани, к которым относятся системная красная волчанка и системная склеродермия, принадлежат к гетерогенной группе заболеваний с точно неустановленными причинами [62], характеризующейся генерализованным воспалением различных органов и систем, сочетающимся с развитием аутоиммунных и иммунокомплексных процессов и избыточным фиброзированием. Причиной объединения СКВ и ССД в одну группу является наличие общих групповых и характерных для каждого заболевания иммунологических маркеров, близкие принципы противовоспалительного и иммуносупрессивного лечения. Наличие overlap-синдромов ССД, так же позволяет рассматривать СКВ и ССД, как заболевания с похожим патогенезом. В тоже время их клиническая картина, общие закономерности развития и висцеральная патология до конца не изучены [5].

В развитие СКВ и ССД вносят вклад клетки как адаптивного, так и врожденного иммунитета. Со стороны адаптивной ветви преимущественно действуют два типа клеток: В-лимфоциты и Т-лимфоциты, - оба необходимы для развития СКВ. В-клетки участвуют в патогенезе СКВ, продуцируя аутоантитела (анти-ДНК и анти-нуклеосомные), а также цитокины. Т-клетки запускают активацию В-клеток. Важную роль в патогенезе СКВ играют субпопуляции Т-клеток, включая Т-хелперы 1 типа, Т-хелперы 17 и CD3⁺ CD4⁺ - CD8⁻ - «двойные негативные» Т-хелперы. Роль врожденного иммунитета также существенна. На ранних стадиях заболевания дендритные и прочие миелоидные клетки, в том числе и нейтрофилы, продуцируют медиаторы, например, активирующий фактор В-клеток; эти явления приводят к активации адаптивной иммунной системы. Системная активация иммунитета приводит к генерации эффекторных Т-клеток и

аутоантител, впоследствии действующих против собственных тканей и органов [144, 139, 145].

При ССД активацию CD4⁺ Т-лимфоцитов и макрофагов рассматривают как один из первых маркеров начала иммунного ответа, способствующего процессу фиброзирования и выработки антител. При этом взаимодействие клеток иммунной системы происходит за счет продукции ими биологически активных веществ (цитокины, интерлейкины). Изучаются механизмы влияния некоторых цитокинов, таких как интерлейкины ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6 и ИЛ-8, и молекулы CD40 - CD154 на развитие и прогрессирование склероза. Имеются сведения о новом провоспалительном цитокине ИЛ-17, обладающим плеiotропным действием на кератиноциты, фибробласты, нейтрофилы и Т-клетки памяти, эндотелиальные клетки, вырабатываемый субпопуляцией Т-лимфоцитов (Т-хелперы 17). Приводят данные о роли других интерлейкинов (ИЛ-13, -15, -17, -18, -22) и факторах роста в патогенезе склеродермии. Некоторые из них могут служить индикаторами тяжести течения болезни и/или фиброза кожи, и/или системного воспалительного, и/или аутоиммунного процессов [44, 145].

За последнее десятилетие накоплено большое количество данных, свидетельствующих о важной роли нейтрофильных гранулоцитов в развитие аутоиммунных заболеваний [37]. Происходит изменение понимания функций нейтрофилов в воспалительном процессе и формирование абсолютно нового представления как о развитии воспаления, так и о нейтрофилах - клетках с многофункциональными возможностями. Установлено, что нейтрофилы с различной рецепторной оснащённостью отличаются по своим биологическим свойствам. Они способны перестраивать хроматин и секретировать про- и противовоспалительные цитокины; реализовывать содержимое гранулярного аппарата; продуцировать активные формы кислорода и осуществлять микробицидные эффекты; образовывать нейтрофильные внеклеточные ловушки [34].

Функциональная активность нейтрофилов напрямую определяется продукцией ими активных форм кислорода, а также кислороднезависимым

метаболизмом. Кислородзависимый механизм не является системой жизнеобеспечения нейтрофила, при помощи окислительного стресса нейтрофил решает чисто эффекторные задачи.

В результате респираторного взрыва высвобождается значительное количество активных метаболитов кислорода, включая супероксид анион (O^{2-}), пероксид водорода (H_2O_2), гипохлорит, гидроксильный радикал ($OH^\cdot$). Уменьшение заряда молекулы на один электрон под воздействием никотинаденин-динуклеотид-фосфат (НАДФ) оксидазы приводит к образованию O^{2-} . НАДФ-оксидаза находится в фаголизосоме в активированном состоянии и преобразует O_2 в супероксид (O^{2-}). Потребление O^{2-} является первым этапом в серии реакций, которые приводят к образованию токсических продуктов кислорода [17].

АФК продуцируются в результате респираторного взрыва, который инициируется в результате активации НАДФ-оксидазы [17]. Поддержание оптимального уровня продукции АФК нейтрофилами важно для нормального функционирования всех систем организма, что обеспечивается скоординированным взаимодействием компонентов внутриклеточных сигнальных систем. В норме нейтрофилы находятся в состоянии покоя, а при стимуляции обнаруживают цитотоксическую активность, опосредованную протеолитическими ферментами гранул и АФК.

Различные провоспалительные цитокины, такие как ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α , ИНФ- γ , образующиеся в очаге воспаления, активируют нейтрофилы и замедляют процесс запуска апоптоза клетки [135, 138].

В регуляции деятельности нейтрофилов существуют иерархические отношения на уровне сигналов [198], рецепторов, внутриклеточных сигнальных путей и функциональных ответов. Примером четкой упорядоченности регуляции в полиморфно-ядерных лейкоцитах является подавление адгезией через опосредованный интегрином сигнальный путь активации НАДФ-оксидазы [208]. Показано, что увеличение количества АФК у больных СКВ оказывает влияние на эндотелиальную дисфункцию поражения кровеносных сосудов [13]. При

исследовании функционального статуса изучаемых клеток при СКВ установлено значительное усиление процессов кислородзависимого метаболизма [135].

Интенсификация всех основных клеточных функций, связанных с развитием окислительного стресса, сопровождается изменением продукции свободных радикалов кислорода, оксида азота, синтезом низкомолекулярных медиаторов воспаления и цитокинов. АФК выступают в роли вторичных передающих звеньев, активирующих нуклеарный фактор (NFkB), который регулирует гены ответственные за воспалительный ответ. Гиперпродукция свободных радикалов репрограммирует лейкоциты путем активации NFkB, вызывая циклооксигеназную экспрессию, ослабляющую нитрооксидкаспазную активность и приводящую к подавлению апоптоза нейтрофилов [63].

Известно, что нейтрофилы представляют собой неоднородное подмножество лейкоцитов, а циркулирующие нейтрофилы могут демонстрировать существенные различия в своих параметрах, таких как фагоцитоз, синтез белка и окислительный метаболизм. Новые данные подтвердили, что нейтрофилы обладают значительной пластичностью и могут формировать различные фенотипы и/или подмножества в ответ на широкий спектр физиологических (возраст) и патологических (воспаление и инфекция) условий [42]. Накоплено большое количество данных о различиях в строении и функциональных характеристиках нейтрофильных гранулоцитов, что позволяет на основании разных базовых признаков разделить их на субпопуляции. Морфологические и биохимические особенности нейтрофилов определяют различия в их поведении [22].

По мнению Москалева А.В. и соавторов «среди многообразия функций нейтрофилов можно выделить две основные группы нейтрофилов. Первая – обладающие регуляторными эффектами (провоспалительные – инициирующие воспалительную реакцию, обладающие позитивным микробицидным потенциалом и «агрессивные» с негативным цитотоксическим материалом). Вторая – с супрессорными функциями, противовоспалительные (регулирующие регрессию воспаления; про- и противоопухолевые)». При изучении особенностей

фенотипа нейтрофилов и их функциональных свойств продемонстрировано существование несколько их субпопуляций, обладающих различными возможностями. Нейтрофилы, получающие комплексные цитокиновые влияния, во время развития воспалительного ответа проходят различные стадии активации и дифференцировки, экспрессируя при этом антигены II класса главного комплекса гистосовместимости, кластер дифференцировки (CD80), костимулирующие молекулы (CD86), молекулы межклеточной адгезии (ICAM-1), антиген, ассоциированный с функцией лимфоцитов (LFA-1) [34].

Таким образом, осуществляющие одинаковые функции и морфологически неразличимые клетки одной популяции, могут отличаться друг от друга по степени выраженности неспецифической активности, то есть быть функционально неравнозначными.

Известны разные субпопуляции лимфоцитов (киллеры, хелперы и супрессоры), ответственные за клеточный и гуморальный иммунитет. Наличие функциональной неоднородности предполагалось и относительно нейтрофилов, но лишь недавно они были разделены на классы потенциальных фагоцитов H4к0 - "камикадзе" (убей и погибни), и H4с0 - "самураев" (защити себя сам), основываясь на способности генерировать АФК, взаимодействовать с субстратом и инактивироваться в результате этих событий. По мнению И. Г. Герасимова и соавторов: «H4к0 активно продуцируют АФК, тогда как H4с0, очевидно, поглощают инородные частицы с целью доставки их в компетентные органы, менее активно продуцируют АФК. Учитывая эти свойства, H4с0 представляют субпопуляцию нейтрофилов-кейджеров (англ. «sage» - сажать в клетку), тогда как киллерные функции остаются за субпопуляцией H4к0» [19].

В настоящее время собрано достаточно экспериментальных данных, анализ которых указывает на неоднородность нейтрофилов по выполняемым ими функциям, что позволяет связать те или иные ее проявления с нейтрофилами-киллерами или нейтрофилами-кейджерами [20].

Установлено, что нейтрофилы примерно в равном соотношении распределены по циркулирующему и маргинальному пулам. Клетки первого

свободно перемещаются по кровеносной системе, в то время как второго – расположены пристеночно, на эндотелии сосудов. Вследствии активации, например, компонентами комплемента часть циркулирующих нейтрофилов может мигрировать в маргинальный пул, усиливая синтез АФК [60]. Клетки маргинального пула, также как и клетки циркулирующего пула могут быть потенциальными фагоцитами, контакт которых с патогеном является обязательным условием реализации функции фагоцитоза. Этим требованиям отвечают Н4к0, поскольку Н4с0 в условиях близких к физиологическим не взаимодействуют с субстратом, а АФК нарабатывают, по-видимому, с целью самозащиты [117].

В то время как переход нейтрофила из циркулирующего в маргинальный пул помогает подготовиться к физиологическому иммунному ответу, нарушение миграции может приводить к формированию патологического пула нейтрофилов, с нарушенными функциями фагоцитоза и апоптоза [117, 135]. При этом нейтрофилы, которые уже прошли через эндотелиальный барьер могут подвергаться обратной миграции. Это приводит к образованию подмножества клеток, характеризующихся высокой экспрессией молекул межклеточной адгезии-1. Эта группа нейтрофилов также демонстрирует низкую склонность к повторному передвижению через эндотелиальный барьер и повышенную способность генерировать активные формы кислорода, а также меньшую подверженность апоптозу [135, 126]. Интересно, что небольшие, но значительно повышенные уровни нейтрофилов с фенотипом ICAM-1 были обнаружены у больных с хроническими воспалительными заболеваниями, ревматоидным артритом, атеросклерозом [126, 161].

При достижении своей зрелости нейтрофилы приобретают способность опсонизировать компоненты системы комплемента и прикрепляться к субстрату. Выходя в кровь, нейтрофилы утрачивают факторы микроокружения, препятствующие связыванию клеток с компонентами комплемента. В то же время в крови присутствуют факторы, изменяющие способность нейтрофилов контактировать с субстратом в разной мере в норме и при патологии [19].

По всей вероятности, функциональная неоднородность нейтрофилов опосредуется через разный уровень экспрессии одинаковых рецепторов или наличием у Н4к0 и Н4с0 разных рецепторов. Кроме рецепторов к компонентам комплемента функциональная активность нейтрофилов определяется и другими рецепторами, количество которых меняется при патологии и взаимосвязано со способностью клеток контактировать и фагоцитировать.

Понятие функциональной неоднородности нейтрофилов подтверждается различным механизмом запуска апоптоза у разных групп нейтрофилов: нейтрофильные гранулоциты подвергаются апоптозу вследствие лишения их контакта с субстратом. Ввиду того, что этим требованиям отвечают только Н4к0, но не Н4с0 которые не имеют способности крепиться к поверхности чужеродного агента, можно предположить, что из нейтрофилов обычно лишь Н4к0 погибают путем апоптоза. Следовательно, Н4к0 могут быть теми нейтрофилами, которые только и способны в обычных условиях к апоптозу [20].

По-видимому, в стимулированный апоптоз вовлекаются все наличные в нормальных условиях Н4к0. Возрастание количества нейтрофилов, гибнущих при стимулированном апоптозе, свидетельствует о том, что индукторы либо индуцируют апоптоз Н4с0, либо приводят к увеличению доли Н4к0 за счет их миграции из маргинального пула в циркулирующий или за счет избирательной или преимущественной гибели Н4с0. Не исключено, что помимо Н4к0 и Н4с0 в организме могут иметь место и другие, функционально различные нейтрофилы, а внутри каждой из субпопуляций, очевидно, имеется функциональная неравнозначность [19].

В настоящее время имеются доказательства существования различных подмножеств нейтрофилов, экспрессирующих на своей поверхности специфические молекулярные маркеры, хотя подробности их функционального потенциала до сих пор не выяснены [194]. Так, например, выделен особый гликопротеин ольфактомедин 4 (OLFM4), который первоначально был идентифицирован как супрессор опухолей [59], а недавно был выявлен в нейтрофильных гранулах приблизительно 25 процентов всех нейтрофилов

человека [118], где он ингибирует активацию гранулированных протеаз, в том числе катепсина С, эластазы, катепсина G и протеиназы 3 (PR3). Это означает, что экспрессия OLFM4 может негативно влиять на бактерицидную способность нейтрофилов данного подмножества [194].

Другой молекулой, локализующейся на поверхности нейтрофила и определяющей его принадлежность к одному из подмножеств, является гликопротеин CD177 [102]. CD177-позитивные подмножества нейтрофилов могут поддерживать повышенную инфильтрацию тканей нейтрофилами. Установлено, что доля CD177-экспрессирующих нейтрофилов увеличивается при аутоиммунных заболеваниях, например, при гранулематозе Вегенера [105].

Установлено, что изменения фенотипа нейтрофилов происходят в зависимости от пола [8], а также на протяжении всей жизни. Эти данные опираются на растущее число доказательств, описывающих динамические изменения в иммунной системе, происходящие в течение всей жизни хозяина, начиная с рождения и до смерти.

Воздействие старения было изучено на многочисленных моделях экспериментальных заболеваний, которые в совокупности показывают общее увеличение воспаления, повреждения органов и повышенную смертность [149]. Эти события часто связаны с повышенной инфильтрацией тканей нейтрофилами. Предполагают, что увеличение количества нейтрофилов напрямую связано с дисфункцией эндотелия при старении.

В недавних исследованиях было показано, что развитие СКВ связано с конкретным подмножеством нейтрофилов [115]. Кровь больных СКВ содержит провоспалительное подмножество нейтрофилов, называемое гранулоцитами низкой плотности (LDG). Эти клетки экспрессируют более высокие уровни интерферонов, ФНО и демонстрируют сниженную фагоцитарную способность по сравнению с нормальными нейтрофилами [174]. Кроме того, новые данные показывают, что нетоз (NETosis), смерть нейтрофилов через образование сети, играет важную роль в патогенезе волчанки [115]. Было показано, что LDGs спонтанно проходят NETosis, что возможно объясняет патогенный потенциал

этого подмножества нейтрофилов [76]. Нетоз является третьим основным клеточным типом смерти нейтрофилов наравне с апоптозом и некрозом, при нетозе нейтрофил проходит стадии деконденсации хроматина, гиперпродукции АФК, дегрануляции; затем следует выброс ДНК-сети, связанной с АФК, гистонами, миелопероксидазой и другими молекулами, повреждающими патоген. Патогены "запутываются" в сетях и гибнут.

Таким образом, особенности фенотипа нейтрофильных гранулоцитов и их функциональных свойств демонстрируют наличие различных субпопуляций нейтрофилов с различными возможностями. Нестерова И.В. и соавторы [37] выделяют следующие субпопуляции нейтрофилов: «регуляторные; супрессорные; провоспалительные — инициирующие воспалительную реакцию; воспалительные с позитивным микробицидным потенциалом (антибактериальным, противовирусным, противогрибковым); воспалительные с негативным цитотоксическим потенциалом — «агрессивные»; противовоспалительные — регулирующие регрессию воспаления; противоопухолевые — TAN1; проопухолевые — TAN2; гибридные, сочетающие свойства НГ и дендритных клеток» [37].

Таким образом, исследование функциональной неоднородности нейтрофилов представляет собой актуальную задачу на пути изучения патогенеза аутоиммунных заболеваний.

1.2 Роль кислородзависимого метаболизма нейтрофилов, активных форм азота и системного воспаления в патогенезе аутоиммунных заболеваний

Экспериментальные данные, собранные за последнее десятилетие, свидетельствуют, что нейтрофилы - самый многочисленный тип лейкоцитов — играют важную роль в патогенезе аутоиммунных болезней [100, 141, 201].

Реализация функций нейтрофилов происходит посредством многих процессов: фагоцитоз, продукция АФК посредством кислородного взрыва и выделение цитокинов. Кроме того, процесс, характеризуемый формированием нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ), который называют «NETosis», также вовлечен в функциональную активность нейтрофила [8, 109].

Посредством формирования НВЛ, синтеза провоспалительных цитокинов и прямого повреждения ткани, происходит инициирование и прогрессирование иммунной дисрегуляции. Многие молекулы, образованные посредством NETOSis, считаются ключевыми аутоантигенами [100]. В дополнение к этим важным иммунорегуляторным процессам активированные нейтрофилы могут также высвобождать неоантигенные детерминанты, у которых есть потенциал, для изменения иммунологической толерантности, что приводит к появлению поколения аутоантител, характеризующих большинство аутоиммунных болезней [122, 153, 188].

Недавние исследования показали, что изменения программированной гибели клеток, а также активация кислородзависимого метаболизма циркулирующих фагоцитов, в том числе нейтрофилов, могут играть важную роль в инициировании и распространении СКВ и ССД путем нарушения иммунорегуляции [62, 87]. Избыточная продукция кислородных радикалов или недостаточная антиоксидантная защита приводят к опасному дисбалансу в организме. Это запускает патологические механизмы, которые приводят к развитию серьезных патологий [53]. Цитотоксический потенциал нейтрофилов сформирован и

представлен протеолитическими ферментами, бактерицидными пептидами и белками гранул, АФК и активными формами азота [49].

Образование АФК в организме идет двумя путями: внутриклеточным (через ферментную систему НАДФ-оксидазы) и внеклеточным. Разбалансировка процессов образования и утилизации АФК приводит к развитию окислительного стресса.

Наиболее интересен путь образования АФК, инициируемый активацией сложного мембранного комплекса НАДФ-оксидазы. Супероксид-анион, генерируемый НАДФ-оксидазой, является исходным продуктом для образования широкого спектра АФК, включая производные азота. Важнейшими АФК считаются: супероксидный радикал, синглетный кислород, гидроксильный ОН и пероксидный HO_2 радикалы, перекись водорода, гипохлорит [49, 119, 197]. Помимо повышения устойчивости организма к патогенам, АФК регулируют внутриклеточные сигнальные пути, клеточный цикл и запускают апоптоз и NETosis. Нарушение синтеза НАДФ-оксидазы в результате воздействия патогенов или других факторов, ведет к изменению ответа нейтрофила на действие патогена [17].

Считается, что СКВ является заболеванием, в основе системного аутоиммунного ответа которого лежат генетический, гормональный, экологический и молекулярные механизмы. Ключевой вопрос в патогенезе волчанки - то, как внутриклеточные антигены становятся аутоантигенами. В этом отношении чрезмерное производство АФК и изменение состояния окислительно-восстановительного баланса может вызвать неправильную активацию апоптоза [172, 197, 206]. Несколько исследований показали роль свободных радикалов кислорода в отмене контроля регуляции апоптоза: увеличении уровня апоптоза и отсрочки элиминации апоптотических тел. Задержка удаления апоптотических клеток может продлить взаимодействие между АФК и ядерными обломками и привести к появлению неоантигенных детерминант, которые впоследствии стимулируют формирование широкого спектра аутоантител, усиливая тем самым воспаление и повреждение органов при СКВ [154, 121]. Другим потенциальным

источником аутоантигенов являются нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ), которые состоят из хроматина и антибактериальных ферментов, произведенных нейтрофилами, чтобы заманить в ловушку и убить болезнетворные микроорганизмы. В сыворотке крови некоторых пациентов СКВ определялась сниженная способность к разрушению НВЛ [70]. Снижение продукции АФК взаимосвязано с выраженностью органного поражения при СКВ. Нейтропения, характерная для СКВ, развивается не только из-за аутоантител, но и нарушения функционирования костного мозга. Результаты некоторых исследований предлагают SLE-связанный эффект на костный мозг, связанный с уменьшенным выпуском новых не полностью дифференцированных нейтрофилов. Следовательно, наблюдается сниженное число циркулирующих нейтрофилов, срок службы которых увеличивается [107, 109].

Нейтрофильный гранулоцит имеет три принципиально разных пути гибели: некроз, апоптоз и нетоз. NETosis – явление, открытое относительно недавно, занимает важную роль в патогенезе многих заболеваний, в том числе и аутоиммунных [100].

Как известно, СКВ является иммунокомплексной патологией. В 70-х гг. прошлого века было установлено, что циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) больных СКВ состоят из ДНК/РНК/белка и специфических IgG-антител к этим компонентам. Сравнительно недавно были выделены ЦИК из сывороток больных СКВ, состоящие только из ДНК и IgG. В составе таких ЦИК всегда обнаруживали пептид LL-37. При добавлении ЦИК, содержащих пептид LL-37, к культуре плазмоцитоидных дендритных клеток происходил выраженный синтез ИФН- α . Удаление из ЦИК LL-37 отменяло их способность стимулировать ИФН- α . Источником пептида LL-37 в составе ЦИК у больных СКВ являются нейтрофилы. Эти клетки у больных СКВ имеют существенные отличия от нейтрофилов здоровых людей, характеризуясь повышенным апоптозом, некрозом и NETosis. В то же время фагоцитоз апоптотических нейтрофилов у таких больных существенно понижен. Снижена деградация апоптотического материала. На поверхности нейтрофилов выявляется повышенная плотность молекул LL-37.

Другим отличием больных СКВ от здоровых доноров является повышенный уровень гранулоцитов низкой плотности. Эта уникальная субпопуляция нейтрофилов характеризуется незрелым фенотипом (CD14-CD15+CD16+CD10+), повышенным синтезом ИФН- α , ФНО- α , повышенной экспрессией LL-37, миелопероксидазы, эластазы, катепсина G. От обычных нейтрофилов LDG отличаются выраженной склонностью к NETosis [23, 204]. Помимо антител к различным белкам и нуклеиновым кислотам, в сыворотке больных СКВ выявляются антитела к пептиду LL-37, α -дефензинам (HNP) и антимикробным белкам первичных гранул нейтрофилов [10, 109]. АнтиLL-37- и антиHNПантитела являются мощными индукторами NETosis у больных СКВ. Таким образом, частичная расшифровка механизмов развития СКВ и участие в этом процессе NETosis позволяет разработать стратегию лечения таких пациентов. Следует упомянуть, что около 30% больных СКВ вообще не способны разрушать ловушки из-за низкой активности сывороточной ДНКазы1 (мутации гена), экспрессии ингибиторов ДНКазы1 или высоких титров аутоантител, защищающих ловушки от деградации ДНКазой1. Было показано, что вышеупомянутые группы пациентов обладают более высокими титрами аутоантител и страдают от такого тяжелого сопутствующего заболевания при СКВ, как волчаночный нефрит. Таким образом, стратегии, направленные на устранение ловушек и их компонентов, являются на сегодняшний день наиболее перспективными в лечении больных системной красной волчанкой [16, 77, 204].

Роль нейтрофилов в патогенезе ССД изучена недостаточно. На основе проведенных исследований (Белл и др., 1990; Белл и Моррисон, 1991; Румор и Штайнман 1990) можно утверждать, что апоптоз нейтрофилов играет важную роль в патогенезе ССД [52]. Предполагают, что как и при СКВ важную роль в апоптотическом процессе носит ИФН- α [84]. Нейтрофилы при ССД генерируют АФК и протеазы, которые участвуют в развитии эндотелиальной дисфункции и фиброзе [69]. Исследование сыворотки пациентов с ССД продемонстрировало, что апоптоз нейтрофилов опосредован преимущественно ИЛ-6, который может являться потенциальной мишенью в терапии ССД. Имеются данные об

уменьшении продукции активных форм кислорода нейтрофилами в сравнении с контрольной группой [129].

Результатом кислородзависимого метаболизма нейтрофила является так же продукция оксида азота и его метаболитов. Исход действия NO на биохимические процессы в тканях определяется его концентрацией. В больших количествах он осуществляет в организме защитные функции (в макрофагах убивает опухолевые и бактериальные клетки, обеспечивая цитотоксический и антибактериальный эффект иммунной системы) и повреждающие (запускает патологические процессы, приводящие к апоптозу - гибели клеток) [31]. При снижении уровня NO в тканях снижаются адаптивные возможности организма, наблюдаются патологические изменения метаболизма, приводящие к заболеваниям [31].

Синтез NO во многих клетках и тканях организма человека происходит при ферментативном окислении L-аргинин. Семейство уникальных цитохром-P450 подобных гемопroteинов — NO-синтаз, молекулы, которых содержат домены с редуктазной и оксигеназной активностью [14] участвуют в образовании оксида азота. По механизму активации синтазы оксида азота делятся на две группы. Первая - кальций-кальмодулинзависимые ферменты, конститутивно экспрессируемые физиологическими факторами или через рецепторы NO синтаз. Конститутивные NOS подразделяются на нейрональную (nNOS, тип I) и эндотелиальную (eNOS, тип III) формы. Обе изоформы определяются в эндотелиоцитах, нейронах, тромбоцитах, нейтрофилах и других клетках. Ко второй группе синтаз относятся кальций-независимые, индуцибельные NOS (iNOS, тип II), выделение которых резко возрастает под влиянием различных цитокинов: интерлейкины ИЛ-1, ИЛ-2, ФНО- α , липополисахариды, а также ИНФ- γ . Ингибирующим действием на экспрессию NO-синтазы и индуцибельный синтез NO обладают такие цитокины, как ИЛ-13, трансформирующий фактор роста. Подразумевается наличие обратной регуляции (feedback) по конечному продукту iNO-синтазы оксидом азота: связывание NO с гемом фермента и ограничение тем самым димеризацию индуцибельной изоформы. Оксид азота может осуществлять ретроградную регуляцию не только путем взаимодействия с гемом фермента, но и

через ингибирование транскрипции мРНК NO-синтазы непосредственно, либо угнетая активацию NF- κ B [14, 40].

После миграции в ткани продолжительность жизни нейтрофилов составляет, как правило, 1-2 дня, затем они подвергаются спонтанному апоптозу и уничтожению макрофагами, тем самым минимизируя повреждение ткани цитотоксическим содержимым своих гранул. Пролонгация жизни нейтрофилов во времени связана с их реакцией на цитокины воспаления и ассоциирована с персистенцией воспаления. Развитие апоптоза в нейтрофилах может ингибироваться при добавлении ИЛ-1, ИЛ-6, фактора некроза опухоли альфа, гамма интерферона, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, липополисахарида [9].

Полиморфноядерные лейкоциты принимают активное участие в развитие аутоиммунного воспалительного процесса. Сила антигенного воздействия на иммунную систему и исходный уровень функциональной активности клеток напрямую влияют на реакцию нейтрофила, направленную на локализацию и элиминацию антигена. Структурно-метаболический статус нейтрофилов взаимосвязан с выполнением их профессиональных задач и складывается из активации, адгезии, хемотаксиса клеток, поглощения флогогена, его киллинга и расщепления. При этом функции нейтрофилов модулируются цитокинами прямо или опосредованно через лимфоциты, моноциты и другие активированные клетки [50].

Цитокины играют двойственную роль в регуляции функционального статуса нейтрофилов. С одной стороны, они являются факторами активации нейтрофильных гранулоцитов, что сопровождается дальнейшим истощением функциональных возможностей клеток. Вследствии гиперактивированные нейтрофилы могут сами регулировать степень своей чувствительности к цитокинам, осуществляя шеддинг (слущивание) и/или интернализацию (обращение внутрь клетки) цитокиновых рецепторов. С другой стороны, цитокины поддерживают жизнеспособность и предотвращают апоптоз нейтрофилов, что характерно для ИЛ-1 β , ИНФ- γ , грануломоноцитарного и

гранулоцитарного колониестимулирующих факторов (ГМ-КСФ, Г-КСФ). Другая группа цитокинов, к примеру, ИЛ-2 и ФНО- α , способна, напротив, индуцировать апоптоз [52].

Таким образом, в развитии системного воспалительного процесса принимает участие значительное количество факторов, взаимодействующих друг с другом.

1.3 Роль гормонального дисбаланса в патогенезе аутоиммунных заболеваний

Половые гормоны, эстрогены и андрогены обладают доказанным влиянием на развитие, прогрессирование и активность системной красной волчанки и системной склеродермии [136, 137]. Эстрогены и андрогены модулируют восприимчивость и прогрессию к аутоиммунным ревматическим болезням. При любой концентрации андрогены, прежде всего, подавляют клеточную и гуморальную неприкосновенность, тогда как эстрогены в физиологических концентрациях ее увеличивают [111]. Поэтому баланс половых гормонов является одним из решающих факторов в регулировании иммунных и воспалительных ответов [82].

Иммунная система демонстрирует половой диморфизм, который проявляется в очевидном господстве аутоиммунных болезней, например, СКВ, у женщин [156, 186]. Кроме того, наблюдаются различия в проявлениях СКВ у обоих полов. Потенциальные причины склонности женщин к СКВ включают эффекты эстрогена и его гидроксилирования, а также сниженных уровней андрогена [203].

Женские половые гормоны вовлечены в патогенез аутоиммунных заболеваний, при этом эстрогены способствуют развитию болезни, в то время как прогестерон может предотвратить развитие болезни [104]. Роль эстрогенов в патогенезе СКВ установлена давно, но точные механизмы остаются невыясненными [113].

Усиление влияния эстрогенов в иммуно-воспалительном ответе проявляется по пути активации комплекса NF- κ B. В локальном масштабе увеличение концентрации эстрогенов способствует повышенной пролиферации клеток, включая макрофаги и фибробласты [64]. Было изучено влияние эстрадиола на производство проколлагенов фибробластами кожи здоровых пациентов и пациентов с ССД. Результаты свидетельствуют о том, что уменьшение рецепторов к эстрадиолу в фибробластах у пациентов с ССД может быть одним из

факторов увеличения функциональной деятельности клеток и прогрессирования фиброза.

Эстрадиол (E2) увеличивает экспрессию маркеров роста и пролиферации клеток, тогда как тестостерон вызывает увеличение маркеров, указывающих на повреждение ДНК и апоптоз [64]. Эстрогены увеличивают аутонеприкосновенность и оказывают множественные эффекты на иммунную систему через различные типы клеток и молекулярные механизмы [20].

Эстроген может способствовать развитию СКВ, изменяя апоптоз клеток костного мозга, возможно, через регулирование апоптотических белков Bax и Bcl-2 [146].

Глобулин, связывающий половые гормоны (SHBG) регулирует бионакопление половых гормонов, предназначенных для тканей. У SHBG более высокое сродство к тестостерону, чем к эстрадиолу. Поэтому противостоящие эффекты эстрогенов и тестостерона для иммунной системы и неустойчивость в уровнях этих гормонов у пациентов с СКВ могут быть увеличены вариантом белка SHBG327Asn [157].

Биологические эффекты эстрадиола реализуются через два типа рецепторов, альфа-рецептор эстрогена (ER- α) и бета-рецептор эстрогена (ER- β). Изменение в количестве ER- α при СКВ в Т-клетках предполагает, что этот подтип рецептора участвует в чувствительности Т-клеток при СКВ к эстрогену [156]. Эти две изоформы рецептора эстрогена способны модулировать продукцию цитокинов различных ключевых клеток-мишеней иммунной системы. Эстрадиол влияет на активацию эффекторных клеток. Эстрогены повышают продукцию ИНФ- γ , ФНО- α , ИЛ-4 и ИЛ-10. Эстроген вызывает пролиферацию макрофагов и, следовательно, усиление иммунного ответа [171].

Эстроген, будучи женским половым гормоном, связывается с ядерными рецепторами и изменяет норму генной транскрипции. Действуя через плазматическую мембрану, он может быстро стимулировать вторичных посредников, включая ионы кальция и активацию киназ [97].

Эстрадиол способен поликлонально увеличивать производство IgG, включая IgG anti-dsDNA у пациентов с СКВ, увеличивая деятельность В-клеток и производство ИЛ-10, одного из главных цитокинов воспаления при СКВ. Эти результаты подтверждают причастность E2 к патогенезу СКВ [108].

Эстрадиол обладает профиброзным эффектом на фибробласты при ССД. *In vivo* эстрогены увеличивали содержание коллагена I и III типов в коже. Эстрогены и андрогены влияют на процессы заживления кожных покровов при помощи фибробластов. E2 увеличивает синтез фибробластов и стимулирует синтез коллагена у женщин с более низкими начальными уровнями коллагена-8. Так как ССД обнаруживается более часто у женщин, чем у мужчин, у эстрогенов можно предположить наличие такого эффекта, как усиление фиброзного процесса при ССД. В частности, E2 увеличивает рост клеток фибробластов, указывая на причастность E2, как возможного агента, усиливающего фиброзный процесс. В естественных условиях это действие может быть поддержано факторами роста соединительной ткани, вовлеченными в синтез ECM SSc FBs [57].

В исследовании Antonello Giovannetti и соавторов [95] продемонстрировано присутствие в сыворотке крови больных диффузной формой склеродермии антител к рецептору эстрогена (anti-ER α антитела) и доказано, что anti-ER α связаны с активностью болезни. Наличие anti-ER α также взаимосвязано с разнообразными изменениями иммунологических процессов, включая увеличение апоптоза Т-лимфоцитов. Имеются доказательства преобладающей роли Т-лимфоцитного иммунного ответа в стимулировании ССД [80, 128]. Апоптотические Т-лимфоциты стимулируют синтез ряда цитокинов, таких как ТРФ- β (трансформирующий ростовой фактор), которые играют ключевую роль в патогенезе склеродермии [125]. Также было продемонстрировано, что anti-ER α антитела могут действовать как конкуренты эстрогена, поэтому нельзя исключить возможность, что эти антитела могут также работать патогенными детерминантами, проявляющими важные модуляторные эффекты, например, в усилении фиброза [95].

Заболеваемость аутоиммунными болезнями — такими как ревматоидный артрит, системная красная волчанка и склеродермия — существенно выше у женщин, чем у мужчин [68].

Известно, что дефицит тестостерона связан с аутоиммунной болезнью [68] и увеличением провоспалительных маркеров, таких как С-реактивный белок (СРБ), фактор некроза опухоли и ИЛ-6 [192, 207]. Тестостерон обладает противовоспалительными функциями, реализуемыми через подавление клеточной и гуморальной иммунной системы [68, 189].

Имеется предположение, что дефицит андрогена может быть связан с развитием системной красной волчанки, хотя введение тестостерона значительно не изменяет активность болезни, качество жизни или половую функцию [96].

У больных СКВ женского пола, при тяжелых формах болезни определяются низкие плазменные уровни андрогенов [111]. Гипоандрогенизм присутствует и у некоторых пациентов мужского пола с СКВ, что может играть роль в патогенезе заболевания [140].

В отличие от эстрогенов, андрогены подавляют гуморальное звено иммунитета. При СКВ тестостерон ингибирует продукцию антител к ДНК посредством уменьшения выработки ИЛ-6 и подавления В-клеточной активности [150]. Согласно накопленным данным, у женщин с активной СКВ без глюкокортикостероидной терапии определяется снижение уровня андрогенов в крови. Большое внимание направлено на изучение дигидроксиэпиандростерона (DHEA): гормона, секретирующегося корой надпочечников и обладающего слабой андрогенной активностью. Установлено, что уровни DHEA понижены у больных СКВ даже в период ремиссии, вне зависимости от приема глюкокортикостероидов. DHEA способствует увеличению продукции ИЛ-2 и ИНФ- γ Th1-клетками, снижению уровня ИЛ-4 и повышению клеточного иммунитета. У пациентов с умеренной активностью заболевания назначение экзогенного DHEA приводит к клиническому улучшению [65, 163].

При ССД уровень андрогенных гормонов находится в пределах референсных значений, а тестостерон оказывает выраженное воздействие на образование коллагена.

Ранее считалось, что наступление менопаузы ведет к снижению активности аутоиммунных заболеваний, в частности СКВ. Последние исследования демонстрируют, что на ранней стадии менопаузы риск обострения или развития СКВ повышается [147, 132]. Доказано существование большого количества иммунологических изменений, связанных с наступлением менопаузы: повышение выработки провоспалительных цитокинов, снижение продукции противовоспалительных цитокинов, уровня лимфоцитов и уменьшение активности NK-клеток [88, 147]. В популяции в целом менопауза характеризуется низким уровнем эстрогена и связана с истончением кожи вследствие уменьшения синтеза внеклеточного матричного белка фибробластами. Хотя истончение кожи часто сопровождает старение, большинство исследований предполагает, что потеря коллагена более тесно связана с постменопаузой, чем с хронологическим возрастом, отражая гормональные изменения [132]. Имеются данные, что постменопаузальный статус у женщин с диффузной склеродермой был связан с менее сниженным индексом истончения кожи по сравнению с предклимактерическим статусом. Этот эффект был независим от возраста и продолжительности болезни. Результаты этого исследования подтверждаются экспериментальными данными, показывающими, что эстроген увеличивает внеклеточное матричное производство белка в культурах фибробластов кожи больных склеродермой. Предполагают, что на ранних стадиях менопаузы у женщин со склеродермией имеется неблагоприятное понижение минеральной плотности кости, хотя конкурирующие эффекты системного воспаления и долгосрочного лечения глюкокортикостероидами (ГКС) мешают объективной оценке [151]. По данным наблюдательных исследований постменопауза у пациентов со склеродермией связана со значительным увеличением рисков развития изолированной легочной артериальной гипертензии [75, 88, 132].

1.4 Взаимосвязь функциональной активности нейтрофилов и уровня половых гормонов

Помимо непосредственного участия в патогенезе аутоиммунных заболеваний, в том числе СКВ и ССД, половые гормоны взаимодействуют с нейтрофилами [99, 191]. Установлено, что стероидные гормоны в большей степени влияют на нейтрофилы, как непосредственно, разнонаправлено регулируя фагоцитарную и окислительную активность, так и опосредовано через модуляцию секреции цитокинов лимфоидными клетками. Эстрадиол, угнетает фагоцитарную активность нейтрофилов, одновременно стимулируя окислительный метаболизм данных клеток [83]. Женские половые стероиды, а также их комбинации модулируют секреторную функцию лимфоцитов, контролирующих фагоцитарную активность нейтрофилов благодаря повышению уровня ИЛ-10 и снижению концентрации ФНО- α . Эстрадиол дозозависимо повышает активность миелопероксидазы и эластазы, секретируемых нейтрофилами [36, 104]. Действие это опосредовано через рецепторы эстрогенов, имеющиеся во всех иммунокомпетентных клетках, в том числе и в нейтрофилах [83, 168]. Установлено, что рецепторы эстрогена подвергаются фосфорилированию, в результате чего нейтрофил мигрирует в очаг воспаления.

Помимо взаимодействия с рецепторами существует альтернативный путь эстроген-опосредованного взаимодействия через специальный протеин G, связывающийся с рецепторами (GPER) [73, 74, 155, 164].

Известно, что женские половые гормоны в физиологических концентрациях способствуют задержке апоптоза нейтрофилов и увеличению внутриклеточной продукции активных форм кислорода. При этом FAS-апоптоз остается интактным, а задержка программированной клеточной гибели происходит на уровне митохондрий через систему цитохрома C [184]. Одной из основных мишеней АФК являются митохондрии, которым принадлежит ключевая роль в реализации внутреннего пути клеточной гибели. АФК вызывают открытие пор в

митохондриальной мембране с последующим выходом в цитозоль проапоптотических белков (цитохром С, Smac, прокаспазы-9, эндонуклеаза G) и ионов кальция. В свою очередь, высвобождение цитохрома С приводит к резкому повышению продукции АФК в клетках и активации каспазного каскада. АФК также могут влиять на жизнеспособность клетки, меняя экспрессию ряда генов за счет активации факторов транскрипции – p53, NF-κB, AP-1 [130, 131]. Помимо этого, эстрогены через систему специфических рецепторов увеличивают синтез оксида азота, тем самым, оказывая антиоксидантное действие.

Повышение содержания эстрадиола сопровождается значительным снижением числа жизнеспособных нейтрофилов. Снижение количества клеток, склонных к программированной гибели, происходящее на фоне уменьшения концентрации эстрадиола в сыворотке крови больных СКВ и ССД, вероятно, связано с интенсивностью образования гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора, играющего ключевую роль в регуляции функциональной активности и жизнеспособности нейтрофилов.

Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор способствует возрастанию респираторного взрыва в нейтрофилах, усиливает продукцию супероксидного анион-радикала и клеточную антителозависимую цитотоксичность, путем подавления синтеза проапоптотических белков семейства Bcl-2 ингибирует апоптоз нейтрофилов [85]. Снижение его концентрации на фоне уменьшения содержания эстрогенов способствует увеличению хемотаксической подвижности нейтрофилов и приводит к их накоплению в очаге воспаления, стимулирует синтез ИЛ-6 и ИЛ-8 и увеличивает продукцию ФНО-α, который значительно усиливает системные воспалительные проявления [160, 179].

Показано, что эстрадиол обладает антиоксидантными свойствами, окисляясь в присутствии пероксида водорода, продуцируемого нейтрофилами в результате окислительного стресса, а тестостерон способствует снижению уровня апоптоза нейтрофилов. В то же время механизмы влияния половых гормонов на кислородзависимый метаболизм и апоптоз нейтрофилов до конца не изучены.

Взаимосвязь концентрации эстрадиола и интенсивности образования супероксид-аниона объясняется, по-видимому, влиянием эстрогенов на активность р47phox НАДФ-оксидазы нейтрофилов, продуцирующей супероксидный анион-радикал. Тестостерон, в свою очередь, ингибирует экспрессию факторов окислительного стресса, способствуя увеличению резервного потенциала нейтрофилов при ССД.

Таким образом, взаимосвязь между показателями кислородзависимого метаболизма и концентрацией половых гормонов выражается в повышении продукции супероксид-аниона нейтрофилами при снижении концентрации эстрадиола у больных СКВ и увеличении резервного потенциала клеток под влиянием тестостерона при ССД. Уменьшение уровня эстрадиола в сыворотке крови, более выраженное при ССД, сопровождается снижением экспрессии факторов апоптоза нейтрофилов [26].

1.5 Возможности терапевтической коррекции нарушений функциональной активности нейтрофилов

Повышенный интерес к патогенезу аутоиммунных заболеваний в последние годы позволил улучшить методы диагностики, однако лечение таких пациентов по-прежнему остается сложной задачей. Создание новых методов лечения затрудняют неизвестная этиология заболевания, большая вариабельность клинических проявлений, возможность, как длительных спонтанных ремиссий, так и злокачественного, быстро прогрессирующего, иногда молниеносного течения. В настоящее время для контроля заболевания, улучшения прогноза и качества жизни таких пациентов применяется весь арсенал существующих противовоспалительных и цитотоксических препаратов [202].

В этом плане трудно переоценить значение глюкокортикоидов, эффект которых наступает практически сразу после назначения. Одно из направлений действия опосредуется через повышение способности макрофагов к фагоцитозу апоптотических клеток, но механизм этого эффекта остается неясен. Поскольку апоптотизированные нейтрофилы связывают белок S, предполагают, что глюкокортикоидная обработка макрофагов вызывает белок S-зависимый механизм распознавания апоптотических клеток.

Определение механизмов, лежащих в основе ответа воспалительных процессов на глюкокортикоидную терапию, представляет новую цель в модуляции воспалительных и аутоиммунных заболеваний, позволяя скоординировать увеличение апоптоза гранулоцитов с увеличенной способностью удаления макрофагами апоптотизированных клеток. Физиологически соответствующие концентрации глюкокортикоидов ускоряют ацидофильный гранулоцитарный апоптоз [101].

Во время воспалительного ответа рекрутированные нейтрофилы подвергаются апоптозу и удалению фагоцитами из тканей, для предотвращения производства и выхода провоспалительных цитокинов. Поощрение

физиологических механизмов удаления нейтрофила является одним из направлений лечения воспалительных и аутоиммунных заболеваний, при которых наблюдается снижение удаления апоптотических клеток [205].

Нейтрофилы являются фагоцитами, которые образуются в костном мозге. После того, как нейтрофилы попадают в очаг возбуждения, они быстро становятся сенесцентными, возвращаются в костный мозг и подвергаются там апоптозу. Фактор, происходящий из клеток стромы (SDF-1), управляет возвращением сенесцентных нейтрофилов в костный мозг, взаимодействуя с CXCR4 – молекулой, которую экспрессируют сенесцентные нейтрофилы. Если по каким-либо причинам такие нейтрофилы не подвергаются апоптозу, они могут стать субстратом для различных аутоиммунных заболеваний. Рекомбинантный TRAIL индуцировал апоптоз сенесцентных нейтрофилов. Следовательно, теоретически, рекомбинантный TRAIL может применяться для избирательного уничтожения стареющих нейтрофилов [134].

Восприимчивость нейтрофилов к TRAIL-опосредованному апоптозу предполагает возможность использования TRAIL для регулирования воспаления и может обеспечить удаление нейтрофилов из участка воспаления [162]. Биологически активная форма sTRAIL, запущенная ИНФ- α -активированными нейтрофилами, способствует не только иммунорегуляторным, но и терапевтическим действиям ИНФ- α [185].

Нейтропения, сопровождающая нарушение регуляции апоптоза, хорошо поддается коррекции циклоспорином А, гранулоцитарным колониестимулирующим фактором (Г-КСФ) и гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (ГМ-КСФ) [177].

Воздействие на апоптоз и функциональную активность нейтрофилов возможно через регуляцию провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Положительные эффекты от воздействия пептида hCDR1, который вызывает иммунологическую толерантность, были связаны с уменьшением производства патогенных цитокинов, например, ИНФ- γ , ИЛ-10 и ИЛ-1 β , и увеличением продукции иммунодепрессивного цитокина (TGF- β), а также проапоптотических

молекул каспазы-3 и каспазы-8. Обработка hCDR1 приводила к изменению деятельности Т-клеток, CD4 и CD8 (Tregs), которые играют ключевую роль в положительных эффектах hCDR1. Таким образом, лечение hCDR1 приводило к каскаду событий, которые приводят к уменьшению активности СКВ, оцененную по шкале SLEDAI [142].

Функция стабилизации провоспалительных цитокинов присуща стволовым мезенхимальным клеткам (MSCs). Это самовозобновляемые полипотентные стромальные клетки, у которых, помимо антицитокинового действия, имеется иммуномодуляторная способность [196]. На сегодняшний день это самый агрессивный метод лечения. MSCТ приводит к уменьшению активности болезни, серологических изменений, и стабилизации провоспалительных цитокинов [182]. В связи с высокой летальностью данного метода его следует рекомендовать в наиболее тяжелых, безнадежных случаях.

Добавление супероксид-дисмутазы вызывает апоптоз нейтрофилов. Если найти способ эффективной доставки препарата к воспалительному участку, супероксид-дисмутаза может быть полезна, как посредник, блокирующий нейтрофильное воспаление [205].

Обработка пикногенолом определяет существенное сокращение производства АФК. Кроме того, происходит уменьшение активности заболевания по шкале SLEDAI. Пикногенол может быть полезным для второй линии терапии, способствующей уменьшению активности воспаления при СКВ [178].

Таким образом, медикаментозная коррекция нарушений функциональной активности нейтрофилов является актуальной, но крайне сложной задачей, требующей проведения большого количества научных и клинических исследований.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Клиническая характеристика больных

В соответствии с поставленной целью и задачами обследованы 78 пациентов, из них 50 пациентов, страдающих системной красной волчанкой и 28 больных системной склеродермией. Контрольная группа представлена 25 здоровыми женщинами, в возрасте от 18 до 53 лет (в среднем $34,2 \pm 9,7$ года).

Исследование было разделено на два этапа - стационарный и амбулаторный. Для сбора информации была разработана индивидуальная регистрационная карта пациента, в которую заносились все результаты лабораторных и клинических методов диагностики, а также фиксировались конечные точки исследования. Протокол исследования был обсужден и одобрен на заседаниях Этических комитетов Ярославской областной клинической больницы и Ярославской государственной медицинской академии. Каждому пациенту до начала исследования были разъяснены цель и задачи исследования, подписано информированное согласие.

При наборе пациентов учитывались длительность заболевания, давность предыдущей госпитализации, длительность периода ухудшения состояния, отмечалось проводимое за две и более недели до поступления в стационар медикаментозное лечение. Анализировались данные, полученные при поступлении больных в стационар, при выписке и через шесть и двенадцать месяцев после выписки из клиники. Разделение пациентов на группы проводилось методом репрезентативного подбора по возрасту, полу (больные мужского пола в исследование не включались), длительности и характеру течения, активности и тяжести течения заболевания.

Кроме того, проанализированы данные, полученные при госпитализации пациентов в стационар в связи с ухудшением состояния. Результат

терапевтического лечения оценивался при выписке и через шесть и двенадцать месяцев после выписки из стационара. С учетом возрастной классификации ВОЗ все пациенты были разделены на группы молодого и зрелого возраста.

Конечными точками исследования являлись общая летальность, частота госпитализаций по поводу ухудшения течения основного заболевания и развития осложнений. Достижение конечных точек регистрировалось через 12 месяцев после включения больных в исследование.

Распределение пациентов по нозологическим формам, полу, возрасту и длительности заболевания представлено в таблице 1.

Таблица 1 - Распределение пациентов по нозологическим формам, возрасту, длительности заболевания и полу

Нозологическая форма	Число пациентов	Возраст, годы, $m \pm sd$	Длительность заболевания, годы, $m \pm sd$	Пол	
				Мужчины абс. (%)	Женщины абс. (%)
СКВ	50	$39,9 \pm 11,3$	$8,2 \pm 7,4$	0 (0)	50 (100)
ССД	28	$45,5 \pm 16,2$	$8,6 \pm 5,2$	0 (0)	28 (100)

Критерии включения в исследование:

1. Возраст старше 18 лет;
2. Достоверный диагноз системной красной волчанки и системной склеродермии в соответствии с критериями ACR/ EULAR;
3. Активность СКВ не более 2 степени по классификации Насоновой В.А.;
4. Письменное согласие пациента на участие в исследовании;
5. Величина индекса массы тела, не превышающая $34,9 \text{ кг/м}^2$.

Критерии исключения из исследования:

1. СКВ соответствующая 3 степени активности по классификации Насоновой В.А.;

2. Острый инфаркт миокарда и/или острое нарушение мозгового кровообращения в течение последних 12 месяцев перед включением в исследование;
3. Наличие бронхиальной астмы, сахарного диабета, заболеваний печени и желудочно-кишечного тракта в стадии обострения;
4. Наличие онкологической патологии, острого инфекционного заболевания, болезней миокарда, аллергических реакций, злоупотребление алкоголем;
5. Беременность и кормление грудью.

На этапе стационарного лечения назначалась стабильная терапия, соответствующая современным рекомендациям по лечению данного заболевания.

2.1.1 Клиническая характеристика больных системной красной волчанкой

Системную красную волчанку диагностировали на основании клинических признаков заболевания, данных лабораторных и инструментальных методов исследования и критериев Американской ассоциации ревматологов. Для установления активности течения заболевания применяли классификацию В.А. Насоновой (1972), шкалы активности SLAM и SLEDAI. Антифосфолипидный синдром устанавливали на основании модифицированных критериев D. Alarcon-Segovia и соавторов (1989) и J.C. Piette (1996) [35]. В таблице 2 представлена клиническая характеристика больных системной красной волчанкой (Приложение А).

В исследование включались женщины с системной красной волчанкой в возрасте 18 - 73 года. Из представленных в таблице 2 (Приложение А) данных видно, что наиболее часто заболевание развивалось в возрастном периоде от 20 до 50 лет - 42 (84%). Средняя продолжительность заболевания составляла $8,2 \pm 7,4$ года. В течение 12 месяцев до включения в исследование стационарное лечение проходили 22 (44%) пациентки. У 19 (38%) больных зарегистрирована предшествующая госпитализация в срок от 1 до 3 лет. Период амбулаторного лечения длительностью более трех лет наблюдался у 9 (18%) пациенток.

Подострое течение заболевания регистрировалось у 31 (62%) больного, хроническое - в 19 (38%) случаях. Среди клинико-иммунологических вариантов СКВ у 7 (14%) пациенток диагностирован антифосфолипидный синдром, у 9 (18%) случаев - подострая кожная красная волчанка, в пожилом возрасте СКВ выявлена у 6 (12%) больных. Активность патологического процесса соответствовала I - 26 (52%), II - 24 (48%) степени. Прогрессированию патологического процесса сопутствовало: появление конституциональных симптомов - 11 (22%), возникновение поражения кожи - 14 (28%), суставов - 33 (66%), легких - 4 (8%), почек - 23 (46%), нервной системы - 6 (12%) случаев.

Сопутствующее поражение сердца диагностировано у 15 (30%) пациентов. Феномен Рейно наблюдался у 9 (18%) пациенток.

В 8 (16%) случаях зарегистрировано нарушение системы гемостаза и тромбообразование, усугубляющих течение заболевания. Васкулопатии и лимфаденопатия выявлены у 10 (20%) и 16 (32%) больных, соответственно.

При измерении лабораторных показателей регистрировались: лейкоцитоз у 18 (36%), лейкопения у 16 (32%), анемия у 16 (32%), повышение СОЭ у 17 (34%) больных. В 48 (96%) случаев выявлен положительный АНФ, в 17 (34%) – антитела к-ДНК, в 33 (66%) - LE-клеточный феномен. Повышенный уровень ЦИК наблюдался у 27 (54%) пациенток, а положительные антитела к кардиолипину обнаружены у 6 (12%) больных.

Нарушение функции сердечной мышцы и артериальная гипертензия обнаружены у 29 (58%) пациентов. В большинстве случаев обнаруживалась диастолическая дисфункция, сочетающаяся с нормальной систолической способностью миокарда – 21 (42%) человек, при этом ассоциированная со снижением сократительной способности миокарда систолическая дисфункция регистрировалась у 8 (16%) пациенток. Дислипотеидемия наблюдалась у 31 (62%), нарушения ритма сердечного ритма, в том числе комбинированные, зафиксированы в 9 (18%) случаях. Курение отмечено у 2 (4%) больных. Болезни щитовидной железы и желудочно-кишечного тракта замечены у 7 (14%) и 14 (28%) пациенток.

Больным СКВ назначалась стабильная терапия с применением иммунодепрессантов (гидроксихлорохин 200-400 мг/сут), ГК в суточной дозе 5-7,5 мг/сут, цитостатических препаратов (азатиоприн в дозе 150 мг/сут, или метотрексат 15-20 мг/нед., или циклофосфамид 1000 мг/3 мес).

Случаев летального исхода за период наблюдения не было. В течение 12 месяцев после отбора в исследование 23 (46%) пациентки были повторно госпитализированы.

2.1.2 Клиническая характеристика больных системной склеродермией

Диагноз ССД устанавливался при помощи критериев Американской ревматологической ассоциации [181]. Для диагностирования стадии развития системной склеродермии и вариантов ее течения использовалась классификация Н.Г. Гусевой [35]. Принималась во внимание полиморфность и вариабельность клинических проявлений заболевания, характер течения, форма и преобладающая патология.

Учитывая распространенность поражения кожи и основного симптомокомплекса, выделяли диффузную и лимитированную клинические формы заболевания. Больные с пресклеродермией, перекрестными формами заболевания, ювенильной склеродермией и склеродермией без склеродермы в исследование не включались. В зависимости от остроты (острое, подострое, хроническое) заболевания, стадии развития и течения патологического процесса, а также распространенности (начальная, генерализованная и терминальная стадии) болезни все пациенты были поделены на группы. Клиническая характеристика больных ССД представлена в таблице 3 (Приложение Б).

В группу наблюдения было отобрано 28 женщин, страдающих ССД в возрасте 18 - 72 года (в среднем $45,5 \pm 16,2$ лет). Индекс массы тела составлял не более $25,9 \text{ кг/м}^2$ у 26 (92,8%) пациентов. Средняя продолжительность заболевания равнялась $8,63 \pm 5,21$ годам (от 1 до 26 лет). В 11 (39,2%) случаях выявлена диффузная форма заболевания, в 17 (60,8%) - лимитированная. У большинства пациенток диагностировано хроническое течение заболевания – 23 (82,1%), что совпадало со второй стадией патологического процесса.

Для 14 (50,0%) пациентов настоящая госпитализация являлась повторной по поводу данного заболевания в течение последних 12 месяцев. В период более 12 месяцев и до 3 лет были госпитализированы 11 (39,2%) больных. У 3 (10,7%) пациенток отмечалась стабилизация состояния в срок, превышающий три года.

При обследовании пациентов обнаружена сопутствующая патология сердца у 21 (75,0%), сосудов у 17 (60,8%), легких у 9 (32,1%), ЖКТ у 8 (28,6%), почек у 3 (10,7%), мышц у 4 (14,3%), кожи у 19 (67,9%), костей и суставов у 15 (53,6%), нервной системы у 2 (7,14%) больных. У 12 (42,9%) исследуемых выявлена дислипотеидемия. В 1 (3,6%), 19 (67,9%) и 12 (42,9%) случаях, соответственно, диагностировано заболевания миокарда, в том числе ИБС, артериальная гипертензия и нарушение сердечного ритма.

Большинство пациентов на догоспитальном этапе принимали блокаторы медленных кальциевых каналов - 27 (96,4%) и ангиопротекторы - 24 (85,7%), глюкокортикоиды - 17 (60,7%), ингибиторы АПФ – 4 (13%), НПВП - 4 (14,3%), антиагреганты – 2 (7,14%), аминохинолиновые препараты – 1 (3,6%), цитостатики - 1 (3,6%).

У 24 (85,7%) пациентов в ходе стационарного лечения было достигнуто клиническое улучшение. В 4 (14,3%) случаях положительной динамики клинической симптоматики не наблюдалось. Повторно госпитализированы через 12 месяцев от начала исследования 12 (42,9%) больных. Случаев летального исхода зарегистрировано не было.

2.2 Методы исследования

Выделение нейтрофилов

Для выделения нейтрофилов из периферической крови использовали метод, основанный на двойном градиенте плотности фиколла-урографина [48]. На первом этапе для изготовления градиентных растворов смешивали фиколл («Pharmacia», Швеция) и урографин («Shering Plough», Германия). Для приготовления растворов использовали бидистиллированную воду. Для раствора с плотностью $\rho = 1,119 \text{ г/см}^3$ брали 20 частей 9% фиколла и 10 частей 50% урографина. Раствор с плотностью $\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$ изготавливали из 24 частей 9% фиколла и 10 частей 34% урографина. Для измерения плотности полученных растворов применяли денситометр в условиях комнатной температуры. Стерилизовали полученные растворы при помощи метода фильтрации через поры диаметром 0,22 мкм.

На втором этапе в предварительно гепаринизированные (из расчета 20 Ед гепарина на 1 мл крови) стерильные силиконированные пробирки («Biochemy», Австрия) забирали венозную кровь.

Выделение нейтрофилов проводили не позднее 60 минут от взятия пробы. Для разведения крови использовали раствор Хенкса без фенолового красного в пропорции 1:2. Далее в стерильные пробирки в соотношении 3:3:4 поочередно наслаивали полученные растворы с плотностью $\rho = 1,119 \text{ г/см}^3$ и плотностью $\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$ и разведенную кровь. Полученный материал центрифугировали в течение 30 минут при 400g.

По окончании центрифугирования на границах растворов формировались два кольца клеток, состоящие из мононуклеаров и нейтрофилов. На дно пробирки оседали кровяные элементы с более высокой плотностью. Для дальнейшего анализа брали клетки второй интерфазы, на 95% состоящую из нейтрофилов. Полученную взвесь для отмывки в течение 10 минут дважды центрифугировали с раствором Хенкса при 200g и доводили до концентрации $5 \times 10^6/\text{мл}$.

Далее по трипановому тесту оценивали жизнеспособность фагоцитов, составляющую не менее 90%. В камере Горяева подсчитывали количество нейтрофилов в клеточной суспензии с применением прижизненной окраски раствором метиленового синего в 3% уксусной кислоте (краска Тюрка) для определения жизнеспособных клеток [25].

Проведение хемилюминесценции с нейтрофилами

Для определения функциональной активности нейтрофилов применяли хемилюминесцентный метод [24]. Для сохранения достаточного уровня хемилюминесценции и максимального уменьшения действия сывороточных факторов полученные нейтрофилы (0,1 мл) отмывали в растворе Хенкса 1:100 без фенолового красного с добавлением гепарина (10 ЕД на 1 мл).

В качестве индукторов хемилюминесценции применяли люминол (5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазиндион), усиливающий хемилюминесценцию таких АФК, как пероксид водорода, супероксидный радикал, гидроксил-анион, анион гипохлорной кислоты и нитроксильный радикал, в конечной концентрации 50 мкМ или люцигенин (10,10'-диметил-9,9'-биакридиндинитрат), являющийся селективным показателем супероксид-аниона, в конечной концентрации 0,1 мМ [15].

Далее в сцинтилляционных флаконах (объем 20 мл) проводили темновую адаптацию и последовательно смешивали 1 мл разведенной клеточной суспензии и 0,1 мл люминола и люцигенина (Boehringer Mannheim, Германия). Полученные растворы инкубировали при температуре +37,4°C в течение 15 минут, следом регистрировали показания спонтанной хемилюминесценции на жидкостно-сцинтилляционном счетчике «Бета-1» (КПО «Медаппаратура», Украина). Результаты выражали количеством импульсов в минуту на одну клетку (имп/мин).

Определение коэффициента активации нейтрофилов

При помощи спонтанной люминол- и люцигенинзависимой хемилюминесценции делали выводы о степени функциональной активности нейтрофилов, о функциональном резерве клеток судили по коэффициентам активации хемилюминесценции (КА ХЛлл и КА ХЛлн), рассчитанные, как отношение индуцированного показателя (иХЛлл и иХЛлн) к спонтанному (сХЛлл и сХЛлн). Индуктором кислородзависимого метаболизма нейтрофилов использовали 1×10^9 взвесь убитых нагреванием клеток *S. aureus* штамма p-209. Для выполнения индуцированной хемилюминесценции во флаконы с нейтрофилами добавляли 0,1 мл взвеси.

Культивирование нейтрофилов

Для получения смеси, пригодной для культивации к выделенным нейтрофилам в количестве 2×10^6 /мл, разнесенным в 24-луночные планшеты («Nunc Brand Products», Дания), ресуспендированным в жидкой стерильной питательной среде RPMI-1640 («Биолот», Россия), добавляли 10% инактивированную фетальную телячью сыворотку («GibcoBRL», Англия), 30 мкг L-глутамина («Sigma Diagnostics», США), 100 МЕ/мл пенициллина («Yamanouchi», Япония) и 100 мкг/мл стрептомицина («GibcoBRL», Англия). Полученную суспензию клеток инкубировали при температуре $+37^{\circ}\text{C}$ в течение 6 часов в увлажненной атмосфере с 5% содержанием углекислого газа [29].

Определение суммарного содержания метаболитов оксида азота (NO_3/NO_2) в среде инкубации нейтрофилов

При помощи реактивов Грисса проводили количественное определение суммарного содержания метаболитов оксида азота (NO_3/NO_2) в среде инкубации нейтрофилов. Для данного анализа в пробирку добавляли 150 мкл культуральной среды, полученной после 6-ти часового культивирования клеток, и 75 мкл 1,5% раствора сульфаниламида («Fluka», Германия) в 1N соляной кислоте и 75 мкл

0,15% N-(1-нафтил)-этилендиаминдихлорида в дистиллированной воде («Fluka», Германия), затем доводили объем раствора до 1 мл. Спустя десять минут на спектрофотометре СФ-46 определяли оптическую плотность полученных растворов при 540 нм и вычисляли концентрацию суммарных нитрит-ионов по калибровочной кривой в мкМ/л. Для контроля использовали полную среду с добавлением реактива Грисса.

Концентрацию метаболитов оксида азота в пробах рассчитывали с помощью калибровочной кривой. В качестве стандарта использовали раствор нитрита натрия в концентрациях от 0 до 100 мкМ. Абсолютную продукцию метаболитов оксида азота определяли с учетом количества нейтрофилов у каждого донора и пациента, включенного в исследование.

Определение концентрации эстрадиола крови

Содержание эстрадиола в сыворотке крови человека определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов ИммуноФА-Эстрадиол (ЗАО «НВО Иммунотех», Россия). Перед проведением анализа компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки крови выдерживали при температуре +20-25⁰С в течение 30 минут. Построение калибровочной кривой проводили для каждой серии анализов.

В два ряда лунок планшета вносили в дубликатах по 25 мкл калибровочных проб, начиная с минимальной концентрации. В две лунки планшета добавляли по 25 мкл контрольной сыворотки, в оставшиеся лунки вносили в дубликатах по 25 мкл исследуемых образцов сывороток крови. Во все лунки планшета в той же последовательности, что и калибровочные пробы, контрольную сыворотку и исследуемые образцы вносили по 100 мкл конъюгата. Тщательно перемешивали содержимое лунок, поместив планшет на шейкер, при комнатной температуре +(20-25⁰С) в течение 2-3 минут. Инкубировали пробы при температуре +37⁰С в течение 1,5 часов, избегая попадания прямого солнечного света.

Содержимое лунок удаляли декантированием, дважды отмывали фосфатно-солевым буферным раствором. По окончании промывки тщательно удаляли

остатки жидкости из лунок. Во все лунки планшета вносили по 100 мкл раствора субстрата в той же последовательности, что и конъюгат. Инкубировали планшет при температуре $+37^{\circ}\text{C}$ в течение 10-15 минут, избегая попадания прямого солнечного света.

Во все лунки планшета с той же скоростью и в той же последовательности, как и раствор субстрата, вносили по 100 мкл стоп-реагента. Тщательно перемешивали содержимое лунок, поместив планшет на шейкер, при комнатной температуре в течение одной минуты. Измеряли оптическую плотность проб в лунках планшета с помощью фотометра вертикального сканирования (Shimadzu Corp., Япония) при длине волны 450 нм.

Определение концентрации тестостерона крови

Для определения концентрации тестостерона в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа использовали реактивы Иммуно-ИФА-тестостерон (ЗАО «НВО Иммунотех», Россия).

Начиная с минимальной концентрации, вносили по 20 мкл калибровочных проб в два ряда лунок планшета. В две лунки планшета добавляли по 20 мкл контрольной сыворотки, в оставшиеся лунки вносили в дубликатах по 20 мкл исследуемых образцов сывороток крови. Во все лунки планшета вносили по 100 мкл конъюгата, тщательно перемешивали содержимое лунок, поместив планшет на шейкер, при температуре $+20-25^{\circ}\text{C}$ в течение 2-3 минут. Инкубировали образцы при температуре $+37^{\circ}\text{C}$ в течение одного часа, избегая попадания прямого солнечного света.

Содержимое лунок удаляли декантированием, дважды отмывали планшет внесением в каждую лунку 250 мкл рабочего фосфатно-солевого буферного раствора. По окончании промывки тщательно удаляли остатки жидкости из лунок, несколько раз резко вытряхнув планшет о марлевую салфетку или фильтровальную бумагу. Во все лунки планшета вносили по 100 мкл раствора субстрата в той же последовательности, что и конъюгат. Инкубировали планшет при температуре $+37^{\circ}\text{C}$ в течение 10-15 минут, избегая попадания прямого солнечного света.

Во все лунки планшета вносили по 100 мкл стоп-реагента, перемешивали содержимое лунок. С помощью фотометра вертикального сканирования (Shimadzu Corp., Япония) измеряли оптическую плотность в лунках планшета при длине волны 450 нм. Рассчитывали средние арифметические значения показателей оптической плотности контрольной сыворотки и исследуемых образцов и по калибровочному графику определяли концентрацию тестостерона.

2.3 Статистическая обработка данных

Для статистической обработки данных применялся пакет прикладных программ STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., США). Осуществлялся сбор, группировка и проверка первичных данных, удалялись артефакты и технические дефекты. Осуществлялся контроль нормальности распределения количественных признаков при помощи критериев Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллифорса. Метод проверки статистических гипотез об извлечении выборок из одной генеральной совокупности применялся для контроля однородности сравниваемых групп. Проверка однотипности по качественным признакам осуществлялась при помощи анализа таблиц сопряженностей с вычислением коэффициента ассоциации Юла и коэффициента контингенции Пирсона. Выполнялась проверка равенства генеральных дисперсий с помощью критериев Фишера и Кокрана [11].

Для признаков, имеющих распределение отличное от нормального, для количественных и категориальных признаков производилось вычисление медиан и интерквартильных интервалов. Интерквартильный размах указывался в виде 25 и 75 перцентилей: верхней границы 1-го и нижней границы 4-го квартилей. Приводимые данные имеют представление Me (25%; 75%).

Для сравнения по одному признаку двух независимых групп использовали критерии Манна-Уитни, χ^2 , зависимые группы сравнивались с использованием критерия Вилкоксона. Для однофакторного сравнения трех и более независимых групп использовались метод ANOVA по Краскелу-Уоллису. Непараметрический

дисперсионный анализ трех и более зависимых групп осуществлялся с применением ANOVA Фридмана.

Для изучения взаимосвязи двух признаков использовался корреляционный анализ по Спирмену. Исследование вида зависимости признака от одного или нескольких других признаков проводилось на основании логистического регрессионного анализа.

Для определения совокупности признаков, позволяющих различить группы с различным уровнем функциональной активности нейтрофилов, использовали дискриминантный анализ, который осуществлялся в группах больных ССД, СКВ и группе контроля. Дискриминантный анализ проводился методом пошагового включения с учетом эффекта мультиколлинеарности. На каждом этапе рассматривались все исследуемые переменные и находилась та из них, которая вносит наибольший вклад в различие между группами. Данная переменная включалась в модель и происходил переход к следующему шагу.

Качественные данные обобщались путем подсчета количества наблюдений каждой категории, вычисления доли наблюдений конкретной категории в исследуемой выборке и выражались в процентах (n (%)).

При установлении референсного интервала для количественных признаков использовалось процентильное определение нормы, основанное на измерениях, предпринятых на здоровой популяции.

Критическое значение уровня статистической значимости принималось равным 5% [46].

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Функциональная неоднородность нейтрофилов при системной красной волчанке

Осуществляющие однотипные функции клетки одной популяции могут быть функционально неравнозначными, различаясь по степени проявления неспецифической активности, будучи морфологически неразличимыми. Функциональная неоднородность определяется по различной способности нейтрофилов к генерации активных форм кислорода, взаимодействию с субстратом, способности к апоптозу, различной степенью экспрессии на мембране одинаковых рецепторов или наличием разных рецепторов [20].

Для изучения феномена функциональной неоднородности нейтрофилов, определения его взаимосвязи с показателями, характеризующими течение и активность патологического процесса, а также изменения гормонального статуса при системных заболеваниях соединительной ткани, были определены референтные интервалы изучаемых признаков [46]. Основываясь на определении референтных значений показателей функциональной активности нейтрофилов, пациенты были разделены на группы с низким, средним и высоким уровнем кислородзависимого метаболизма клеток. Показатель спонтанной люминолзависимой хемилюминесценции (сХЛл), использовавшийся для определения коэффициента активации, в таблицах не приводился, так как являлся дифференцирующим фактором для определения референтных значений, делящих пациентов на группы низкой, средней и высокой активности. Распределение больных системной красной волчанкой по группам с различной функциональной активностью нейтрофилов приведено в таблице 4.

Таблица 4 - Функциональная неоднородность нейтрофилов у больных СКВ в зависимости от уровня функциональной активности клеток, Me (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	I СКВ с низким уровнем ФА нейтро- филов (n=10)	II СКВ со средним уровнем ФА нейтро- филов (n=27)	III СКВ с высоким уровнем ФА нейтро- филов (n=13)	<i>p</i>		
					I-II	I-III	II-III
иХЛлл, 10 ⁴ , имп/мин	1,1 (0,2-3,0)	0,6 (0,1-1,3)	1,0 (1,0-3,2)	12,5 (1,0-22,8)	0,17	0,09	0,08
сХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,55 (0,2-1,1)	0,35 (0,1-0,5)	1,5 (0,6-2,8)	1,6 (1,2-2,5)	0,01	0,01	0,61
иХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,3 (0,1-0,9)	0,1* (0,1-0,4)	1,0 (0,3-1,0)	0,9 (0,5-1,0)	0,01	0,01	0,62
КА ХЛлл, Ед	1,69 (0,9-3,3)	1,57 (0,86- 11,0)	0,98 (0,29- 1,33)	1,36 (0,03- 1,65)	0,093	0,12	0,85
КА ХЛлн, Ед	0,75 (0,3-1,5)	0,67 (0,2-2,0)	0,5 (0,33- 1,0)	0,4 (0,25- 0,75)	0,97	0,37	0,43
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	3,6 (3,3-4,1)	2,65 (1,6-5,0)	1,5* (0,93- 2,5)	1,4 (0,62- 1,85)	0,036	0,04	0,59

Примечание:* - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Как следует из представленных в таблице 4 данных, у больных с низким уровнем активности нейтрофилов наблюдается снижение потенциала образования супероксид-аниона, в сравнении с группой контроля, по данным иХЛн ($0,1 (0,1-0,4) < 0,3 (0,1-0,9)$, $p < 0,05$), у пациентов со средним уровнем биоцидности нейтрофилов регистрировалось уменьшение синтеза оксида азота по данным NO_3/NO_2 $1,5 (1,6-5,0) < 3,6 (3,3-4,1)$, $p < 0,05$) в сравнении с контрольными показателями. При межгрупповом сравнении выявлена статистически значимая дифференциация показателей, характеризующих продукцию супероксидного анион-радикала, по данным сХЛн в группах с низким и средним и низким и высоким уровнем кислородзависимого метаболизма нейтрофильных гранулоцитов и потенциал продукции супероксид-аниона по данным иХЛн в группах с низким и средним и низким и высоким уровнем ФА клеток. Уровень продукции оксида азота по данным NO_3/NO_2 , так же достоверно различался при сравнении групп с низким и средним и низким и высоким уровнем биоцидности клеток.

Функциональная неоднородность нейтрофилов и возраст больных системной красной волчанкой

Основываясь на возрастной классификации ВОЗ, все пациенты в исследовании разделены на 2 группы: молодого возраста (до 44 лет включительно) и зрелого возраста (от 45 лет и старше).

Были проведены сравнительные исследования кислородзависимого метаболизма нейтрофилов в зависимости от уровня функциональной активности нейтрофилов и возраста пациентов (таблицы 5.1 – 5.3).

Таблица 5.1 - Низкая функциональная активность нейтрофилов и возраст больных СКВ, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	I Низкая ФА нейтрофилов		P	
		A Молодой (n=4)	B Зрелый (n=6)	A Молодой	B Зрелый
иХЛлл, 10 ⁴ , имп/мин	1,1 (0,2-3,0)	5,5 (0,4-11,9)	0,35 (0,1-0,6)	0,89	0,73
сХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,55 (0,2-1,1)	0,35 (0,2-0,85)	0,35 (0,2-0,4)	0,72	0,68
иХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,3 (0,1-0,9)	0,1 (0,1-0,25)	0,1 (0,1-0,45)	0,13	0,52
КАХЛлл, Ед	1,69 (0,9-3,3)	17,9 (1,5-42,9)	0,53 (0,2-1,2)	0,44	0,17
КАХЛлн Ед	0,75 (0,3-1,5)	0,6 (0,14-1,5)	0,66 (0,29-1,5)	0,08	0,38
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	3,6 (3,3-4,1)	2,5 (2,0-3,6)	2,65 (1,6-5,0)	0,20	0,81

Примечание:* - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

При анализе данных таблицы 5.1 статистически значимых закономерностей выявлено не было.

Таблица 5.2 - Средняя функциональная активность нейтрофилов и возраст больных СКВ, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	II Средняя ФА нейтрофилов		p	
		A Молодой (n=15)	B Зрелый (n=12)	A Молодой	B Зрелый
иХЛлл, 10 ⁴ , имп/мин	1,1 (0,2-3,0)	1,0 (1,0-3,2)	1,0 (1,0-3,2)	0,15	0,62
сХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,55 (0,2-1,1)	1,5 (0,75-2,0)	0,9 (0,8-2,0)	0,69	0,26
иХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,3 (0,1-0,9)	1,0 (0,2-1,0)	1,0 (1,0-1,0)	0,33	0,81
КАХЛлл, Ед	1,69 (0,9-3,3)	1,0 (0,5-1,2)	0,98 (0,6-1,0)	0,71	0,16
КАХЛлн Ед	0,75 (0,3-1,5)	0,5 (0,41-0,8)	0,6 (0,5-1,11)	0,25	0,21
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	3,6 (3,3-4,1)	1,66 (0,9-2,3)	1,4 (0,9-2,5)	0,54	0,13

Примечание:* - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Как видно из представленных в таблице 5.2 данных статистически значимых закономерностей не выявлено.

Таблица 5.3 - Высокая функциональная активность нейтрофилов и возраст больных СКВ, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	III Высокая ФА нейтрофилов		p	
		А Молодой (n=11)	В Зрелый (n=2)	А Молодой	В Зрелый
иХЛлл, 10 ⁴ , имп/мин	1,1 (0,2-3,0)	12,5 (1,1-39,0)	0,1 (0,1-0,1)	0,29	0,44
сХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,55 (0,2-1,1)	1,6 (1,2-2,7)	1,55 (1,4-1,7)	0,68	0,18
иХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,3 (0,1-0,9)	1,0 (0,9-1,2)	0,1 (0,1-0,1)	0,61	0,91
КАХЛлл, Ед	1,69 (0,9-3,3)	1,44 (0,06-2,9)	0,009 (0,009-0,01)	0,32	0,54
КАХЛлн Ед	0,75 (0,3-1,5)	0,71 (0,3-0,75)	0,15 (0,06-0,3)	0,84	0,47
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	3,6 (3,3-4,1)	1,4 (0,6-1,9)	1,55 (0,4-2,7)	0,27	0,35

Примечание:* - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Таким образом, при анализе данных таблиц 5.1 – 5.3 статистически значимых закономерностей выявлено не было. Группа пациентов зрелого возраста с высокой функциональной активностью нейтрофильных гранулоцитов в исследование не включалась в виду её малочисленности.

Функциональная неоднородность нейтрофилов и длительность заболевания при системной красной волчанке

В работах Ильина М.В. показано, что «длительность заболевания оказывает существенное влияние на формирование характера клеточных реакций в период

обострения патологического процесса. Потенциальная способность фагоцитов генерировать АФК может увеличиваться после предварительной стимуляции, являющейся физиологическим механизмом, повышающим биоцидную защиту в условиях хронического воспаления. Длительность заболевания отражается на показателях функционального статуса нейтрофилов, приводя к усилению их метаболической активности и снижению резервных возможностей клеток» [28].

Был проведен анализ показателей кислородзависимого метаболизма нейтрофилов, дифференцированных в соответствии с уровнем ФА клеток, в зависимости от длительности заболевания.

Таблица 6 - Различия показателей кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у больных СКВ в зависимости от уровня функциональной активности нейтрофилов и длительности заболевания, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	I. Длительность заболевания менее 5 лет			II. Длительность заболевания более 5 лет		
		А. Низкая ФА нейтро- филов (n=4)	В. Средняя ФА нейтро- филов (n=13)	С. Высокая ФА нейтро- филов (n=4)	А. Низкая ФА нейтро- филов (n=6)	В. Средняя ФА нейтро- филов (n=14)	С. Высокая ФА нейтро- филов (n=9)
иХЛЛл 10 ⁴ , имп/мин	1,1 (0,2-3,0)	0,45 (0,2-0,6)	1,0 (1,0-3,2)	25,8 (6,8-44,4)	1,1 (0,1-10,4)	1,0 (1,0-4,0)	1,3 (0,1-18,2)
сХЛЛн, 10 ⁴ , имп/мин	0,55 (0,2-1,1)	0,45 (0,4-0,5)	1,0 (0,5-1,8)	1,4 (1,0-2,2)	0,2 (0,1-0,5)	2,4* (1,0-4,9)	1,6 (1,3-2,5)
иХЛЛн 10 ⁴ , имп/мин	0,3 (0,1-0,9)	0,1* (0,1-0,1)	0,91 (0,3-1,0)	0,95 (0,9-1,1)	0,1* (0,1-0,8)	1,0* (1,0-1,0)	0,9 (0,1-1,0)
КА ХЛЛл, Ед	1,69 (0,9-3,3)	1,75 (0,8-2,5)	1,0 (0,5-1,2)	2,19 (0,7-4,0)	1,63 (0,7-3,8)	0,8 (0,2-1,0)	0,15 (0,01-1,4)

Продолжение таблицы 6

Показатель	Контроль (n=25)	I. Длительность заболевания менее 5 лет			II. Длительность заболевания более 5 лет		
		А.	В.	С.	А.	В.	С.
		Низкая ФА нейтро- филов (n=4)	Средняя ФА нейтро- филов (n=13)	Высокая ФА нейтро- филов (n=4)	Низкая ФА нейтро- филов (n=6)	Средняя ФА нейтро- филов (n=14)	Высокая ФА нейтро- филов (n=9)
КАХЛлн, Ед	0,75 (0,3-1,5)	0,22* (0,2-0,29)	0,57 (0,5-1,0)	0,75 (0,5-1,0)	1,0 (0,2-2,0)	0,43 (0,3-1,0)	0,4 (0,08-0,7)
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	3,6 (3,3-4,1)	2,5 (2,3-4,0)	1,25* (0,9-2,3)	0,75 (0,5-2,0)	2,8 (1,2-5,0)	1,5* (0,9-2,3)	1,5 (0,9-1,9)

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем; p (иХЛлн) _{IA-IIA} = 0,004; p (КАХЛлн) _{IA-IIA} = 0,009; p (NO₃/NO₂) _{IA-IIA} = 0,042; p (сХЛлн) _{IB-IVB} = 0,008; p (иХЛлн) _{IB-IVB} = 0,041; p (КАХЛлн) _{IC-IVC} = 0,031.

Как следует из представленных в таблице 6 данных, пациенты с длительностью заболевания более 5 лет и средней степенью функциональной активности нейтрофилов обладают более высоким уровнем и потенциалом продукции супероксидного аниона в сравнении с группой контроля по данным сХЛлн 2,4 (1,0-4,9) > 0,55 (0,2-1,1), при $p < 0,05$ и иХЛлн 1,0 (1,0-1,0) > 0,3 (0,1-0,9), при $p < 0,05$, что ассоциировано со снижением концентрации метаболитов азота в крови NO₃/NO₂ 1,5 (0,9-2,3) < 3,6 (3,3-4,1), при $p < 0,05$ в сравнении с контрольными показателями. Напротив, в группе с длительностью заболевания более пяти лет и низким уровнем биоцидности нейтрофильных гранулоцитов регистрировалось снижение потенциала продукции супероксидного аниона по данным иХЛлн в сравнении с контролем 0,1 (0,1-0,8) < 0,3 (0,1-0,9) при $p < 0,05$. В группе с длительностью заболевания менее пяти лет и низкой биоцидностью нейтрофилов отмечалось снижение потенциала продукции супероксидного аниона по данным

иХЛлн 0,1 (0,1-0,1)<0,3, (0,1-0,9) при $p<0,05$ в сравнении с контролем. Данные изменения сопровождались уменьшением функционального резерва образования супероксидного аниона по данным КАХЛлн 0,22 (0,2-0,29)<0,75 (0,3-1,5) при $p<0,05$. У пациентов с длительностью заболевания менее 5 лет и средним уровнем кислородзависимого метаболизма нейтрофилов было обнаружено снижение концентрации метаболитов азота по данным NO_3/NO_2 1,25 (0,9-2,3)<3,6 (3,3-4,1) при $p<0,05$.

При увеличении длительности заболевания в группе с низкой ФА нейтрофилов наблюдалось повышение потенциала продукции АФК p (иХЛлл) $_{\text{IA-IIA}}=0,004$ и концентрации метаболитов азота p (NO_3/NO_2) $_{\text{IA-IIA}}=0,042$, данные изменения были ассоциированы со снижением резерва продукции АФК p (КАХЛлл) $_{\text{IA-IIA}}=0,009$. У больных со средней функциональной активностью нейтрофилов при длительности заболевания более 5 лет в сравнении с длительностью менее 5 лет регистрировалось повышение степени выработки супероксидного аниона p (сХЛлн) $_{\text{IB-IIIB}}=0,008$ и потенциала продукции супероксидного аниона p (иХЛлн) $_{\text{IB-IIIB}}=0,041$. При этом в группе с высоким уровнем биоцидности клеток наблюдалось уменьшение резерва продукции супероксидного аниона p (КАХЛлн) $_{\text{IC-IIIC}}=0,031$ при увеличении длительности заболевания.

Функциональная неоднородность нейтрофилов и характер течения заболевания при системной красной волчанке

СКВ характеризуется многообразием клинических проявлений и вариантов течения болезни. На этапе отбора пациентов, в соответствии с протоколом исследования, исключались больные с острым течением заболевания, поскольку пациентам данной группы требовалось назначения пульс-терапии глюкокортикостероидами и цитостатиками. Таким образом, в статистический анализ включались пациенты с подострым и хроническим течением болезни.

Установлено, что нейтрофилы больных с подострым течением СКВ показывают более высокие уровни функциональной активности, по сравнению с

нейтрофилами, имеющимися у больных с хроническим течением заболевания.

Общие представления об изменении статуса нейтрофилов при различных вариантах течения заболевания характеризуется повышением биоцидности клеток, увеличением резерва продукции супероксид-аниона при подостром процессе. Характерной чертой хронического течения заболевания является низкая функциональная активность нейтрофилов [28].

Результаты сравнительного анализа характера течения заболевания в зависимости от функциональной активности клеток приведены в таблицах 7 и 8.

Таблица 7 - Функциональная неоднородность нейтрофилов у больных с подострым течением системной красной волчанки, Me (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	Подострое течение СКВ		
		I. Низкая ФА нейтрофилов (n=6)	II. Средняя ФА нейтрофилов (n=14)	III. Высокая ФА нейтрофилов (n=12)
иХЛЛл, 10 ⁴ , имп/мин	1,1 (0,2-3,0)	1,3 (0,1-10,4)	1,0 (1,0-2,1)	50,0 (50,0-50,0)
сХЛЛн, 10 ⁴ , имп/мин	0,55 (0,2-1,1)	0,3 (0,2-0,5)	1,45* (0,55-2,5)	1,6 (1,6-1,6)
иХЛЛн, 10 ⁴ , имп/мин	0,3 (0,1-0,9)	0,1* (0,1-0,1)	1,0 (0,65-1,0)	1,2 (1,2-1,2)
КА ХЛЛл, Ед	1,69 (0,92-3,3)	1,63 (1,0-33,75)	0,6 (0,18-1,0)	4,8 (4,8-4,8)
КА ХЛЛн, Ед	0,75 (0,25-1,5)	0,33 (0,2-1,0)	0,5 (0,31-0,86)	0,75 (0,75-0,75)
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	3,6 (3,3-4,1)	2,25* (1,2-2,5)	1,51* (1,2-2,2)	1,45 (0,7-2,3)

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем; p (иХЛЛл) I-II=0,001; p (сХЛЛн) I-II=0,005; p (иХЛЛн) I-II=0,025; p (сХЛЛн) I-III=0,0001.

При сравнении нейтрофилов с разной степенью ФА с контролем были выявлены следующие различия: у пациентов с низкой биоцидностью клеток регистрируется снижение уровня потенциала продукции супероксид-аниона и концентрации метаболитов азота по данным иХЛлн $0,1 (0,1-0,1) < 0,3 (0,1-0,9)$ при $p < 0,05$ и NO_3/NO_2 $2,25 (1,2-2,5) < 3,6 (3,3-4,1)$ при $p < 0,05$ соответственно. В группе больных со средним уровнем ФА клеток обнаруживается снижение количества метаболитов азота по данным NO_3/NO_2 $1,51 (1,2-2,5) < 3,6 (3,3-4,1)$ при $p < 0,05$ и увеличение продукции супероксид-аниона по данным сХЛлн $1,45 (0,55-2,5) > 0,55 (0,2-1,1)$ при $p < 0,05$.

При проведении внутригруппового сравнения регистрировалось достоверное повышение уровня продукции р (сХЛлн) $t_{\text{II}} = 0,005$ и потенциала продукции р (иХЛлн) $t_{\text{II}} = 0,025$ супероксидного аниона у пациентов со средним степенью кислородзависимого метаболизма в сравнении с низким уровнем. Степень продукции супероксид-аниона так же достоверно выше у пациентов с высокой ФА в сравнении с пациентами с низким уровнем биоцидности клеток.

Таблица 8 - Функциональная неоднородность нейтрофилов у больных с хроническим течением системной красной волчанки, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	Хроническое течение СКВ		
		I. Низкая ФА нейтрофилов (n=5)	II. Средняя ФА нейтрофилов (n=12)	III. Высокая ФА нейтрофилов. (n=1)
иХЛлн, 10^4 , имп/мин	1,1 (0,2-3,0)	1,3 (0,1-10,4)	1,0 (1,0-2,1)	5,0
сХЛлн, 10^4 , имп/мин	0,55(0,2-1,1)	0,3 (0,2-0,5)	1,45 (0,6-2,5)	1,6
иХЛлн, 10^4 , имп/мин	0,3 (0,1-0,9)	0,1* (0,1-0,1)	1,0 (0,7-1,0)	1,2
КА ХЛлн, Ед	1,69(0,9-3,3)	1,63 (1,0-33,8)	0,61 (0,2-1,0)	4,8
КА ХЛлн, Ед	0,75(0,3-1,5)	0,33 (0,2-1,0)	0,5 (0,3-0,9)	0,75
NO_3/NO_2 , мкМ/л	3,6 (3,3-4,1)	5,0 (2,8-5,4)	1,45* (0,9-2,4)	0,62

Примечание:* - $p < 0,05$ по сравнению с контролем; p (сХЛн) I-II=0,019; p (иХЛн) I-II=0,006; p (NO_3/NO_2) I-II=0,026.

Данные, представленные в таблице 8, свидетельствуют, что в группе с низкой функциональной активностью нейтрофилов имеется статистически значимое уменьшение потенциала образования супероксидного анион-радикала, по данным иХЛн, в сравнении с контрольными показателями (0,1 (0,1-0,8)<0,3 (0,1-0,9), $p < 0,05$). Нейтрофилы со средним уровнем ФА демонстрируют снижение концентрации метаболитов азота в сравнении с контролем по данным NO_3/NO_2 1,45 (0,9-2,4)<3,6 (3,3-4,1) при $p < 0,05$.

При внутригрупповом статистическом сравнении нейтрофилы со средним уровнем кислородзависимого метаболизма демонстрируют повышение степени продукции супероксидного аниона p (сХЛн) I-II=0,019 и потенциала продукции супероксидного аниона p (иХЛн) I-II=0,006, а так же снижение количества метаболитов азота p (NO_3/NO_2) I-II=0,026 в сравнении с показателями группы с низкой функциональной активностью.

Группа с высокой функциональной активностью клеток в статистический анализ не включалась в виду ее малочисленности. Отсутствие таких пациентов свидетельствует о правильности проведенных лабораторных исследований: преобладание нейтрофилов с высоким уровнем метаболизма указывает в большинстве случаев на обострение процесса.

Функциональная неоднородность нейтрофилов и активность системной красной волчанки

При сравнительном анализе показателей биоцидности нейтрофилов в группе пациентов с СКВ с активностью II выявлена тенденция к повышению продукции АФК нейтрофилами. Ранее полученные данные свидетельствуют о нарастании изменений ФА нейтрофилов у больных СКВ при увеличении активности заболевания и указывают на имеющуюся связь между функциональным статусом и резервным потенциалом клеток [28].

По результатам количественной оценки комбинации клинических и лабораторных признаков выделяли три степени активности системной красной волчанки (по В.А. Насоновой и М.Г. Астапенко, 1989). Сравнительный анализ функциональной неоднородности нейтрофилов в зависимости от активности заболевания приводится в таблице 9 (Приложение В). В виду малочисленности группа больных с активностью III в анализе не учитывалась.

Как видно из представленных в таблице 9 данных нейтрофилы, обладающие низким уровнем кислородзависимого метаболизма, у пациентов с любой степенью активности СКВ демонстрируют статистически значимое снижение потенциала образования супероксидного анион-радикала по данным иХЛлн $0,1 (0,1-0,4) < 0,3 (0,1-0,9)$, $p < 0,05$ и $0,1 (0,1-0,1)$ при $p < 0,05$ в сравнении с контролем. У пациентов, нейтрофилы которых обладают средним уровнем биоцидности, при любой степени активности патологического процесса отмечается увеличение продукции образования супероксидного аниона по данным сХЛлн $1,5 (0,5-3,0) > 0,55 (0,2-1,1)$ при $p < 0,05$ и $2,0 (0,9-2,8) > 0,55 (0,2-1,1)$ при $p < 0,05$ в сравнении с контрольными показателями.

В группе больных СКВ с активностью II заболевания и со средней ФА нейтрофильных гранулоцитов отмечается снижение резерва продукции АФК по данным КАХЛлн $0,59 (0,3-1,0) < 1,69 (0,9-3,3)$ при $p < 0,05$ в сравнении с контролем.

У пациентов со средней уровнем биоцидности клеток в обеих группах отмечается снижение концентрации метаболитов азота по данным NO_3/NO_2 при активности I $1,5 (1,0-2,5) < 3,6 (3,3-4,1)$ при $p < 0,05$ и активности II $1,35 (0,8-2,2) < 3,6 (3,3-4,1)$ при $p < 0,05$.

При сравнительном анализе показателей кислородзависимого метаболизма больных с активностью I и II достоверных различий обнаружено не было.

Функциональная неоднородность нейтрофилов у больных системной красной волчанкой, госпитализированных повторно в различные сроки после выписки из стационара

Совершенствование методов диагностики и лечения позволили добиться увеличения выживаемости пациентов с СВК: до 80% через 10 лет после выставления диагноза и до 60% - через 20 лет. Факторы, оказывающие негативное влияние на отдаленный прогноз: мужской пол, ранний дебют заболевания (возраст до 20 лет), артериальная гипертензия, поражение почек, в частности диффузный пролиферативный гломерулонефрит, развитие антифосфолипидного синдрома, высокая активность патологического процесса, высокие значения индекса повреждения, вторичные инфекции, осложнения лекарственной терапии [47].

Чаще всего причиной регоспитализаций пациентов с системной красной волчанкой является развитие осложнений или отсутствие стойкой ремиссии заболевания. В связи с этим большой практический интерес составляет выявление факторов, дающих возможность прогнозирования характера течения заболевания в период после выписки больного из стационара.

В исследовании Ильина М.В. установлено, что «различия между группами пациентов, госпитализированных повторно в разные сроки, сводятся к достоверно более высокому резервному потенциалу клеток (иХЛл) и низкому уровню продукции супероксид-аниона (сХЛлн) нейтрофилами через 3 месяца после рандомизации у больных, регоспитализированных в течение следующих 12 месяцев» [28].

Характеристика показателей функциональной неоднородности нейтрофилов при регоспитализации пациентов с СКВ в сроки менее и более 12 месяцев после выписки из стационара приведена в таблицах 10.1 и 10.2.

Таблица 10.1 - Функциональная неоднородность нейтрофилов и повторная госпитализация больных системной красной волчанкой в срок менее 12 месяцев после выписки, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Конт- роль (n=25)	Регоспитализация в срок менее 12 месяцев			<i>p</i>		
		I. Низкая ФА нейтрофилов (n=5)	II. Средняя ФА нейтрофилов (n=9)	III. Высокая ФА нейтрофилов (n=8)	I-II	I-III	II-III
иХЛЛл, 10 ⁴ , имп/мин	1,1 (0,2-3,0)	0,6 (0,6-1,3)	1,0 (1,0-6,0)	6,8 (0,1-20,5)	0,43	0,52	0,54
сХЛЛн, 10 ⁴ , имп/мин	0,55 (0,2-1,1)	0,4 (0,4-0,5)	2,0* (1,0-3,0)	2,1 (1,3-2,85)	0,006	0,003	0,81
иХЛЛн, 10 ⁴ , имп/мин	0,3 (0,1-0,9)	0,1* (0,1-0,1)	1,0* (1,0-1,3)	0,9 (0,3-1,0)	0,001	0,06	0,05
КА ХЛЛл, Ед	1,69 (0,9-3,3)	1,5 (0,9-1,63)	1,0 (0,3-1,33)	0,71 (0,01-1,54)	0,29	0,28	0,74
КА ХЛЛн, Ед	0,75 (0,3-1,5)	0,25 (0,2-1,0)	0,55 (0,5-1,5)	0,36 (0,15-0,55)	0,24	0,72	0,06
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	3,6 (3,3-4,1)	2,0 (1,6-3,6)	1,35* (1,2-2,5)	1,65 (1,2-2,3)	0,24	0,28	0,61

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

При анализе данных таблицы установлено, что в группе пациентов со средним уровнем функциональной активности нейтрофилов отмечалось повышение уровня продукции супероксидного аниона по данным сХЛн и потенциала образования супероксидного аниона по данным иХЛн в сравнении с контрольными показателями $2,0 (1,0-3,0) > 0,55 (0,2-1,2)$ при $p < 0,05$ и $1,0 (1,0-1,3)$ при $p < 0,05$, соответственно. Данные изменения ассоциированы со снижением уровня метаболитов азота по данным NO_3/NO_2 $1,35 (1,2-2,5) < 3,6 (3,3-4,1)$ при $p < 0,05$. Пациенты с низким уровнем кислородзависимого метаболизма нейтрофилов демонстрируют снижение потенциала продукции супероксидного аниона по данным иХЛн в сравнении с контролем $0,1 (0,1-0,1) < 0,3 (0,1-0,9)$ при $p < 0,05$.

При проведении внутригруппового статистического сравнения была выявлена значимая достоверная дифференциация показателей, характеризующих выработку и потенциал продукции супероксидного аниона между группами с низким и средним уровнем кислородзависимого метаболизма нейтрофильных гранулоцитов, по данным сХЛн ($p = 0,006$) и иХЛн ($p = 0,001$) соответственно. Достоверно различается продукция супероксид-аниона между группами нейтрофилов с низким и высоким биоцидным потенциалом по данным с ХЛн ($p = 0,003$).

Таблица 10.2 - Функциональная неоднородность нейтрофилов и повторная госпитализация больных системной красной волчанкой в срок более 12 месяцев после выписки, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	Регоспитализация в срок более 12 месяцев			<i>p</i>		
		I. Низкая ФА нейтрофилов (n=6)	II. Средняя ФА нейтрофилов (n=17)	III. Высокая ФА нейтрофилов (n=5)	I-II	I-III	II-III
иХЛЛл, 10 ⁴ , имп/мин	1,1 (0,2-3,0)	0,6 (0,1-1,1)	1,0 (1,0-3,2)	12,5 (1,3-49,8)	0,11	0,05	0,038
сХЛЛн, 10 ⁴ , имп/мин	0,55 (0,2-1,1)	0,2 (0,10,3)	1,25* (0,5-2,0)	1,3 (1,2-1,6)	0,006	0,004	0,82
иХЛЛн, 10 ⁴ , имп/мин	0,3 (0,1-0,9)	0,1* (0,1-0,4)	1,0 (0,1-1,0)	1,0 (0,9-1,2)	0,004	0,05	0,44
КА ХЛЛл, Ед	1,69 (0,9-3,3)	2,0 (1,0-11,0)	0,94 (0,5-1,0)	1,44 (0,15-4,8)	0,06	0,53	0,64
КА ХЛЛн, Ед	0,75 (0,3-1,5)	1,0 (0,33-2,0)	0,5 (0,33-0,6)	0,75 (0,75-0,75)	0,81	0,79	0,31
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	3,6 (3,3-4,1)	2,65 (2,5-5,0)	1,5* (0,9-2,2)	0,62 (0,5-1,0)	0,11	0,24	0,16

Примечание:* - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

При сравнении пациентов с группой контроля было выявлено статистически значимое повышение продукции супероксид-аниона по данным сХЛн $1,25 (0,5-2,0) > 0,55 (0,2-1,1)$, при $p < 0,05$ в группе пациентов со средней степенью активности нейтрофилов и повторной госпитализацией в срок более 12 месяцев. Эти изменения сопровождаются снижением содержания метаболитов азота по данным NO_3/NO_2 при $p < 0,05$. В группах с низкой ФА нейтрофилов отмечалось снижение потенциала продукции супероксид-аниона по данным иХЛн $0,1 (0,1-0,4) < 0,3 (0,1-0,9)$, при $p < 0,05$.

При проведении внутригруппового статистического анализа установлено, что пациенты с высокой ФА нейтрофилов обладают более высоким уровнем продукции супероксидного аниона в сравнении с пациентами со средней ФА по данным сХЛн $12,5 (1,3-49,8) > 1,0 (2,0-3,2)$ при $p < 0,05$. Пациенты с низкой и средней ФА обладают достоверно более низким уровнем продукции супероксидного аниона по данным сХЛн в сравнении с показателями пациентов с высокой ФА нейтрофилов.

3.2 Функциональная неоднородность нейтрофилов при системной склеродермии

Системная склеродермия – это заболевание, характеризующееся полисиндромным прогрессирующим течением с типичным поражением кожи, костно-мышечной системы, внутренних органов (сердца, легких, желудочно-кишечного тракта и почек) и системными вазоспастическими нарушениями по типу синдрома Рейно, причиной которых является повреждение соединительной ткани преимущественно за счет фиброза и аутоиммунные нарушения [86].

Патогенетическими механизмами, лежащими в основе развития заболевания, являются патологическое фиброзирование, иммунные нарушения, расстройство микроциркуляции. В основе нарушения фиброобразования находится активация кожных фибробластов и гиперпродукция ими коллагена. Имеются данные о взаимосвязи иммунокомпетентных клеток с фибробластами через лимфокины (ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6), стимулирующие пролиферацию фибробластов и усиленный синтез коллагена I, III типа и гликозаминогликанов [106].

Показан дисбаланс иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов хелперов (Th) и Т-супрессоров (Ts); нейтрофилов и лимфоцитов, установлены клинико-иммунологические корреляции между степенью снижения Ts, лимфоцитов, нейтрофилов и стадиями склеродермии [86].

Известно, что нейтрофилы больных системной склеродермией менее склонны к апоптозу по сравнению с нейтрофилами группы контроля, и то же время функциональная активность нейтрофилов при системной склеродермии выше, чем в здоровой популяции [28].

Для оценки степени участия нейтрофилов в развитии заболевания, больные ССД были разделены на три подгруппы в зависимости от уровня кислородзависимого метаболизма нейтрофилов, отражающего их функциональную неоднородность (таблица 11).

Таблица 11 - Функциональная неоднородность нейтрофилов у больных ССД в зависимости от уровня функциональной активности клеток, Me (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	I. Низкая ФА нейтро- филов (n=12)	II. Средняя ФА нейтро- филов (n=11)	III. Высокая ФА нейтро- филов (n=5)	p		
					I-II	I-III	II-III
иХЛлл, 10 ⁴ , имп/мин	1,1 (0,2-3,0)	2,3 (0,6-10,6)	3,85 (0,1-17,4)	3,25 (0,1-17,7)	0,66	0,87	0,96
сХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,55 (0,2-1,1)	0,35 (0,1-1,5)	1,65 (0,3-3,0)	3,75 (2,5-21,0)	0,009	0,003	0,01
иХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,3 (0,1-0,9)	0,1 (0,1-2,4)	0,75 (0,1-3,2)	0,55 (0,1-1,0)	0,085	0,75	0,34
КА ХЛлл, Ед	1,69 (0,9-3,3)	7,3* (1,2-17,7)	0,98 (0,04-4,8)	0,17 (0,01-0,75)	0,002	0,006	0,07
КА ХЛлн, Ед	0,75 (0,3-1,5)	0,41 (0,07-9,0)	0,41 (0,11-4,6)	0,045 (0,02-0,29)	0,96	0,017	0,01
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	3,6 (3,3-4,1)	2,2* (0,6-5,4)	2,8 (0,1-8,1)	3,8 (0,8-7,6)	0,88	0,44	0,66

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Как следует из представленных в таблице 11 данных, у больных с низким уровнем ФА нейтрофилов наблюдалось значительное увеличение резервного потенциала клеток, КАХЛлл (7,3 (1,2-17,7) > 1,06 (0,74-2,25), при $p < 0,05$) и уменьшение содержания метаболитов азота по данным NO₃/NO₂ 2,2 (0,6-5,4) > 3,6 (3,3-4,1) при $p < 0,05$ в сравнении с контрольными показателями. Очевидно, что в группах наблюдения определялась статистически значимая дифференциация показателей, характеризующих продукцию супероксидного аниона и резерв

продукции супероксидного аниона (сХЛлн и КАХЛлн), а так же резерва продукции активных форм кислорода (КАХЛлл).

Функциональная неоднородность нейтрофилов и возраст больных системной склеродермией

В отличие от СКВ рост заболеваемости ССД чаще регистрируется у пациентов зрелого и пожилого возраста. В тоже время имеется взаимосвязь между значениями ФА нейтрофилов и возрастом. По данным Ильина М.В. можно говорить об «увеличении резервного потенциала нейтрофильных гранулоцитов у больных пожилого возраста. В отличие от молодых пациентов у пожилых больных наблюдается тенденция к увеличению резерва продукции АФК нейтрофилами, при этом уровень образования АФК, заметно ниже, чем в других группах» [28].

Как видно из приведенных в таблице 12 данных, при проведении сравнительного анализа достоверных различий с контролем получено не было. При внутригрупповом сравнении обнаружена дифференциация показателей выработки показателей метаболитов азота: в группе с низкой ФА нейтрофилов более высокое их содержание у пациентов молодого возраста в сравнении с больными зрелого возраста $p(\text{NO}_3/\text{NO}_2)_{\text{IA-IB}}=0,048$. При внутригрупповом сравнении пациентов зрелого возраста обнаружена достоверная дифференциация показателей между низкой и средней функциональной активностью нейтрофилов в степени продукции активных форм кислорода $p(\text{сХЛлн})_{\text{IB-IIIB}}=0,029$, и потенциале образования супероксидного аниона $p(\text{иХЛлн})_{\text{IB-IIIB}}=0,043$, а так же различия между низким и высоким кислородзависимым метаболизмом нейтрофилов по резерву продукции активных форм кислорода $p(\text{КАХЛлл})_{\text{IB-IIIB}}=0,048$ и супероксидного аниона $p(\text{КА ХЛлн})_{\text{IB-IIIB}}=0,048$. При анализе групп со средней и высокой ФА клеток обнаружены различия в показателях резерва продукции супероксидного аниона $p(\text{КАХЛлн})_{\text{IIIB-IIIB}}=0,047$.

Таблица 12 - Функциональная неоднородность нейтрофилов и возраст больных ССД, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	I. Низкая ФА нейтрофилов		II. Средняя ФА нейтрофилов		III. Высокая ФА нейтрофилов	
		А. Молодой (n=4)	В. Зрелый (n=8)	А. Молодой (n=5)	В. Зрелый (n=6)	А. Молодой (n=2)	В. Зрелый (n=3)
иХЛлл, 10 ⁴ , имп/мин	1,1 (0,2-3,0)	2,35 (0,9-6,3)	2,3 (0,9-3,9)	0,5 (0,5-5,8)	3,85 (1,7-12,3)	6,05 (0,1-12,0)	6,0 (0,5-17,7)
сХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,55 (0,2-1,1)	0,6 (0,2-1,2)	0,25 (0,1-0,5)	1,6 (0,9-2,1)	1,3 (0,7-3,0)	2,25 (2,0-2,5)	4,1 (3,4-21,0)
иХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,3 (0,1-0,9)	0,5 (0,1-1,7)	0,1 (0,1-0,9)	0,5 (0,1-0,5)	1,55 (1,0-3,2)	0,75 (0,1-1,4)	1,0 (0,1-1,0)
КАХЛлл, Ед	1,69 (0,9-3,3)	10,0 (5,5-11,9)	4,8 (3,3-11,1)	0,45 (0,1-3,6)	1,36 (0,6-2,7)	0,6 (0,01-1,2)	0,31 (0,03-0,8)
КАХЛлн, Ед	0,75 (0,3-1,5)	1,5 (0,2-5,8)	0,75 (0,3-6,9)	0,31 (0,2-0,33)	0,86 (0,3-4,6)	0,27 (0,04-0,5)	0,05 (0,02-0,3)
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	3,6 (3,3-4,1)	2,76 (2,5-3,4)	1,32 (1,0-1,7)	1,67 (1,5-3,3)	1,85 (0,5-6,4)	2,38 (0,8-4,0)	5,7 (1,02-7,6)

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем; p (NO₃/NO₂)_{IA-IB}=0,048; p (сХЛлн)_{IB-IIIB}=0,029; p (иХЛлн)_{IB-IIIB}=0,043; p (сХЛлн)_{IB-IIIB}=0,012; p (КАХЛлл)_{IB-IIIB}=0,048; p (КАХЛлн)_{IB-IIIB}=0,048; p (КАХЛлн)_{IIIB-IIIB}=0,047.

Таким образом, по данным таблицы 12 выявлены различия между показателями метаболического резерва нейтрофилов в зависимости от возраста пациентов.

Функциональная неоднородность нейтрофилов и длительность заболевания при системной склеродермии

По данным исследования Ильина М.В. «у больных ССД с длительностью заболевания более 10 лет, наблюдается значительное снижение ФА и резервных возможностей нейтрофильных гранулоцитов, по сравнению с группой пациентов, в которой продолжительность болезни ограничивается 5-10 годами» [28].

Таблица 13 - Функциональная неоднородность нейтрофилов при ССД и длительность заболевания, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	I. Длительность заболевания менее 5 лет			II. Длительность заболевания более 5 лет		
		А. <i>Низкая ФА нейтро- филов (n=1)</i>	В. Средняя ФА нейтро- филов (n=5)	С. Высокая ФА нейтро- филов (n=2)	А. Низкая ФА нейтро- филов (n=11)	В. Средняя ФА нейтро- филов (n=6)	С. Высокая ФА нейтро- филов (n=3)
иХЛлн 10 ⁴ , имп/ мин	1,1 (0,2-3,0)	0,1	3,7 (0,5-5,8)	9,0 (6,0-12,0)	2,8 (1,1-4,1)	2,85 (0,1-12,3)	0,5 (0,1-17,7)
сХЛлн, 10 ⁴ , имп/ мин	0,55 (0,2-1,1)	0,1	0,9 (0,9-1,6)	2,7 (2,0-3,4)	0,3 (0,1-0,9)	2,15 (0,7-3,0)	4,1 (2,5-21,0)
иХЛлн 10 ⁴ , имп/ мин	0,3 (0,1-0,9)	0,1	0,2 (0,1-0,5)	1,2 (1,0-1,4)	0,1 (0,1-1,1)	1,9 (1,0-3,2)	0,1 (0,1-1,0)

Продолжение таблицы 13

Показатель	Контроль (n=25)	I. Длительность заболевания менее 5 лет			II. Длительность заболевания более 5 лет		
		А. <i>Низкая ФА нейтро- филов (n=1)</i>	В. Средняя ФА нейтро- филов (n=5)	С. Высокая ФА нейтро- филов (n=2)	А. Низкая ФА нейтро- филов (n=11)	В. Средняя ФА нейтро- филов (n=6)	С. Высокая ФА нейтро- филов (n=3)
КА ХЛЛл, Ед	1,69 (0,9-3,3)	0,25	1,95 (0,5-4,8)	0,75 (0,3-1,2)	9,0 (3,6-12,0)	0,67 (0,04-2,7)	0,03 (0,01-0,8)
КА ХЛЛн, Ед	0,75 (0,3-1,5)	1,0	0,31 (0,2-0,33)	0,39 (0,3-0,5)	0,5 (0,2-7,8)	0,98 (0,3-4,6)	0,04 (0,02-0,1)
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	3,6 (3,3-4,1)	5,4	3,34 (0,8-4,3)	0,89 (0,8-1,02)	1,5 (1,2-2,7)	1,59 (1,2-2,5)	5,7 (4,0-7,6)

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем; p (иХЛлн) _{IB-IIIB} = 0,017

Группа с низкой ФА нейтрофилов и длительностью менее пяти лет в анализ не включалась в виду ее малочисленности. При внутригрупповом сравнении установлено различие в показателях потенциала продукции супероксидного аниона: пациенты с длительностью заболевания более 5 лет и средней ФА нейтрофилов обладают более высоким потенциалом продукции супероксидного анион-радикала в сравнении с пациентами с длительностью заболевания менее 5 лет и средним уровнем кислородзависимого метаболизма нейтрофилов $1,9 (1,0-3,2) > 0,2 (0,1-0,5)$ при $p = 0,017$.

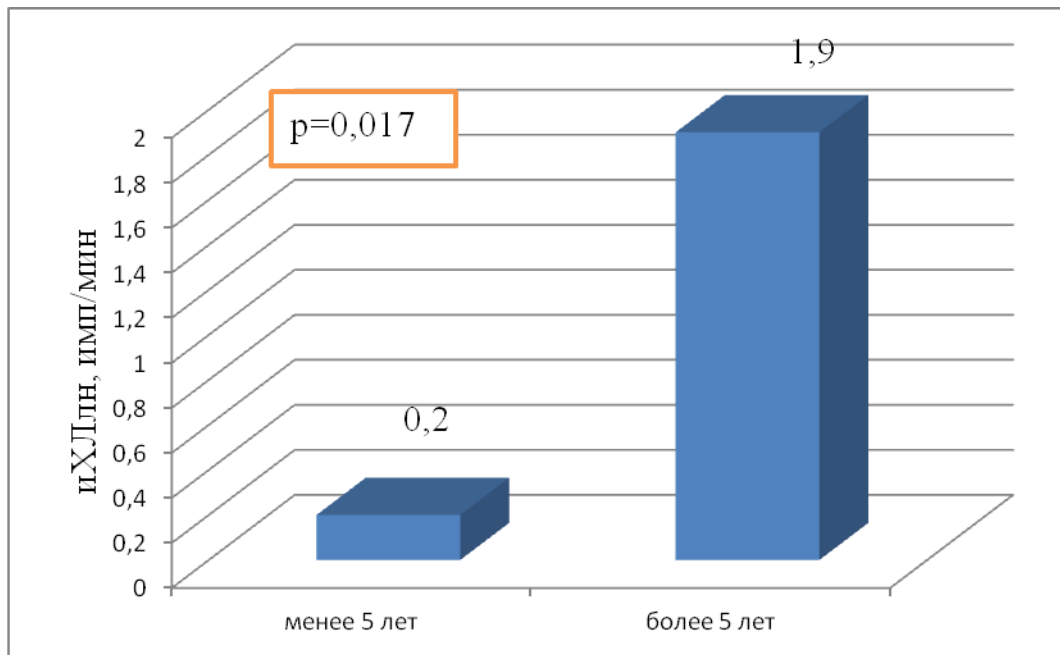


Рисунок 1- Статистически значимые различия показателя резерва продукции супероксид-аниона нейтрофилами у больных ССД в зависимости от длительности течения заболевания.

По данным рисунка пациенты с длительностью системной склеродермии более пяти лет демонстрируют более высокий уровень потенциала продукции супероксидного аниона в сравнении с пациентами с длительностью заболевания менее пяти лет.

Функциональная неоднородность нейтрофилов и характер течения заболевания при системной склеродермии

Прогноз больных ССД улучшается при ранней диагностике и своевременном лечении заболевания, но сохраняются отличия в основных клинико-лабораторных признаках и характере течения заболевания. В работах Ильина М.В. были исследованы показатели функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов во взаимосвязи с различными вариантами течения системной склеродермии. Выявлено существенное уменьшение резерва продукции супероксидного аниона при подостром течении заболевания, в отличие от хронического, развивающееся на фоне снижения кислородзависимого

метаболизма нейтрофилов в целом. В то же время, в сравнении с показателями группы контроля, отмечается значительное увеличение резервного потенциала клеток, в группе больных ССД с хроническим течением заболевания [27].

Таблица 14.1 - Функциональная неоднородность нейтрофилов у больных с подострым течением системной склеродермии, Me (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	Подострое течение ССД		
		I. Низкая ФА нейтрофилов (n=3)	II. Средняя ФА нейтрофилов (n=2)	III. Высокая ФА нейтрофилов (n=1)
иХЛлл, 10 ⁴ , имп/мин	1,1 (0,2-3,0)	2,8 (1,8-9,0)	0,3 (0,1-0,5)	0,5
сХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,55 (0,2-1,1)	1,5 (0,3-1,9)	3,4 (0,9-5,9)	4,1
иХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,3 (0,1-0,9)	0,1 (0,1-0,1)	3,4 (0,1-6,7)	0,1
КА ХЛлл, Ед	1,69 (0,92-3,3)	5,6 (3,6-12,9)	0,23 (0,01-0,45)	0,03
КА ХЛлн, Ед	0,75 (0,25-1,5)	0,07 (0,05-0,3)	0,62 (0,11-1,1)	0,02
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	3,6 (3,3-4,1)	1,4 (1,25-2,8)	5,74 (3,3-8,1)	7,6

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

При сравнении нейтрофилов с разной степенью функциональной активности с группой контроля достоверных различий не установлено. В тоже время, обращает на себя внимание отсутствие пациентов, нейтрофилы которых демонстрируют высокую функциональную активность. Гипотетически, развитие острой ССД может сопровождаться появлением нейтрофилов с низкой ФА.

Таблица 14.2 - Функциональная неоднородность нейтрофилов у больных с хроническим течением системной склеродермии, Me (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	Хроническое течение ССД		
		I. Низкая ФА нейтрофилов (n=9)	II. Средняя ФА нейтрофилов (n=9)	III. Высокая ФА нейтрофилов (n=4)
иХЛлл, 10 ⁴ , имп/мин	1,1 (0,2-3,0)	1,2 (0,6-3,6)	4,0 (1,7-12,3)	9,0 (3,1-14,9)
сХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,55 (0,2-1,1)	0,2 (0,1-0,4)	1,6* (0,7-2,1)	2,95 (2,3-12,2)
иХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,3 (0,1-0,9)	0,6 (0,1-1,1)	1,0 (0,5-1,7)	1,0 (0,6-1,2)
КА ХЛлл, Ед	1,69 (0,9-3,3)	9,0* (3,0-11,0)	1,95 (0,6-3,6)	0,53 (0,2-1,0)
КА ХЛлн, Ед	0,75 (0,3-1,5)	2,7 (0,5-7,8)	0,33 (0,31-0,81)	0,17 (0,04-0,4)
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	3,6 (3,3-4,1)	2,0 (1,2-2,7)	1,5 (0,8-2,5)	2,51 (0,9-4,9)

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем; p (сХЛлн) I-II=0,004; p (сХЛлн) I-III=0,003; p (КАХЛлл) I-III=0,019; p (КАХЛлн) I-III=0,019; p (сХЛлн) II-III=0,033

Как видно из представленных в таблице 14.2 данных, пациенты с низким уровнем кислородзависимого метаболизма нейтрофилов обладают более высоким резервом продукции АФК по данным КАХЛлл в сравнении с контрольной группой (9,0 (3,0-11,0)>1,69 (0,9-3,3), при $p < 0,05$). В группе со средней функциональной активностью отмечается увеличение продукции супреоксидного аниона в сравнении с контрольными показателями сХЛлн 1,6 (0,7-2,1)>0,55 (0,2-1,1), при $p < 0,05$.

При внутригрупповом сравнении наблюдается динамика постепенного повышения продукции супероксидного аниона по данным сХЛлн от группы с низкой функциональной активностью к высокой: $p(\text{сХЛлн})_{\text{I-II}}=0,004$, $p(\text{сХЛлн})_{\text{II-III}}=0,033$, $p(\text{сХЛлн})_{\text{I-III}}=0,003$. В группе с высокой биоцидностью нейтрофилов наблюдается снижение резерва образования активных форм кислорода, в том числе супероксидного аниона в сравнении с показателями группы с низкой функциональной активностью ($p(\text{КАХЛлл})_{\text{I-III}}=0,019$; $p(\text{КАХЛлн})_{\text{I-III}}=0,019$).

Функциональная неоднородность нейтрофилов и форма системной склеродермии

Основываясь на распространенности кожных изменений и основных симптомов, системную склеродермию разделяют на несколько клинических форм. Наиболее часто встречающиеся из них диффузная и лимитированная. По данным литературы при лимитированной форме системной склеродермии нейтрофилы в отличие от диффузной формы демонстрируют значительное увеличение показателей функционального резерва и продукции активных форм кислорода [27].

Таблица 15.1 - Функциональная неоднородность нейтрофилов у больных диффузной формой системной склеродермии, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	I. Низкая ФА нейтрофилов (n=4)	II. Средняя ФА нейтрофилов (n=7)	III. Высокая ФА нейтрофилов (n=1)
иХЛлл, 10^4 , имп/мин	1,1 (0,2-3,0)	2,7 (1,5-3,6)	4,0 (0,5-17,4)	17,7
сХЛлн, 10^4 , имп/мин	0,55 (0,2-1,1)	0,7 (0,3-1,4)	1,7* (0,9-2,2)	21,0
иХЛлн, 10^4 , мп/мин	0,3 (0,1-0,9)	0,5 (0,1-1,7)	1,0 (0,5-2,1)	1,0
КА ХЛлл, Ед	1,69 (0,9-3,3)	6,5* (3,8-10,0)	0,77 (0,09-3,6)	0,75
КА ХЛлн, Ед	0,75 (0,3-1,5)	1,45 (0,1-5,9)	0,5 (0,2-1,14)	0,05
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	3,6 (3,3-4,1)	1,98 (1,2-3,4)	2,5 (0,8-4,3)	5,7

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем; $p(\text{КАХЛлл})_{\text{I-II}}=0,072$.

Данные таблицы 15.1 демонстрируют повышение продукции супероксид-аниона нейтрофилами со средним уровнем ФА клеток в сравнении с контролем по данным сХЛлн $1,7 (0,9-2,2) > 0,55 (0,2-1,1)$, при $p < 0,05$. В группе с низким уровнем ФА нейтрофилов отмечается увеличение резерва продукции АФК в сравнении с контролем по данным КАХЛлл $6,5 (3,8-10,0) > 1,69 (0,9-3,3)$, при $p < 0,05$. При внутригрупповом статистическом сравнении выявлено достоверное повышение резерва продукции АФК в группе с низким уровнем биоцидности клеток в сравнении с показателями группы со средним р (КАХЛлл) $I-II = 0,072$.

Таблица 15.2 - Функциональная неоднородность нейтрофилов у больных лимитированной формой системной склеродермии, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	I. Низкая ФА нейтро- филов (n=8)	II. Средняя ФА нейтро- филов (n=5)	III. Высокая ФА нейтро- филов (n=3)	p		
					I-II	I-III	II-III
иХЛлл, 10^4 , имп/мин	1,1 (0,2-3,0)	2,0 (0,6-6,5)	3,7 (1,7-5,8)	0,5 (0,1-6,0)	0,62	0,38	0,57
сХЛлн, 10^4 , имп/мин	0,55 (0,2-1,1)	0,25 (0,1-0,4)	0,9* (0,7-2,1)	3,4 (2,5-4,1)	0,029	0,012	0,07
иХЛлн, 10^4 , имп/мин	0,3 (0,1-0,9)	0,1 (0,1-0,9)	1,0 (0,2-1,7)	0,1 (0,1-1,0)	0,22	0,92	0,25
КА ХЛлл, Ед	1,69 (0,9-3,3)	7,9 (2,5-12,4)	1,95 (0,6-2,7)	0,03 (0,01-0,3)	0,06	0,024	0,07
КА ХЛлн, Ед	0,75 (0,3-1,5)	0,75 (0,3-6,9)	0,33 (0,3-0,8)	0,04 (0,02-0,3)	0,52	0,02	0,07
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	3,6 (3,3-4,1)	1,8* (1,1-2,6)	1,2 (0,8-1,7)	4,0 (1,02-7,6)	0,52	0,38	0,39

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Как видно из представленных в таблице данных пациенты с низким уровнем кислородзависимого метаболизма обладают более низким уровнем продукции метаболитов азота в сравнении с контрольными показателями по данным NO_3/NO_2 (1,8 (1,1-2,6) > 3,6 (3,3-4,1), при $p < 0,05$). Пациенты со средним уровнем функциональной активности нейтрофилов демонстрируют повышение продукции супероксидного аниона в сравнении с контрольными значениями по данным сХЛн (0,9 (0,7-2,1) > 0,55 (0,2-1,1) при $p < 0,05$).

При внутригрупповом статическом сравнении выявлены достоверные различия в продукции супероксидного аниона в группах с низкой и средней функциональной активностью клеток и в группах с низкой и высокой активностью нейтрофилов. При сравнении пациентов с низкой функциональной активностью клеток с больными с высокой активностью нейтрофильных гранулоцитов обнаружены достоверные различия в резерве продукции АФК и супероксидного аниона.

Функциональная неоднородность нейтрофилов у больных системной склеродермией, госпитализированных повторно в различные сроки после выписки из стационара

Одной из главных задач, связанных с улучшением качества жизни пациентов, остается возможность прогнозирования эпизодов ухудшения течения заболевания и, как следствие, повторной госпитализации, а также профилактика прогрессирования патологических изменений внутренних органов.

В ранее проведенных исследованиях «нейтрофилы, выделенные у больных, госпитализированных повторно в срок менее 12 месяцев после выписки из стационара, на всех этапах исследования обладали значительным резервом продукции активных форм кислорода. В группе пациентов, госпитализированных повторно в срок, превышающий 12 месяцев после выписки из стационара, наблюдалось снижение активности iNOS нейтрофилов» [28].

Таблица 16.1 - Функциональная неоднородность нейтрофилов и повторная госпитализация больных системной склеродермией в срок менее 12 месяцев после выписки, Me (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	Регоспитализация в срок менее 12 месяцев			<i>p</i>		
		I. Низкая ФА нейтро- филов (n=6)	II. Средняя ФА нейтро- филов (n=4)	III. Высокая ФА нейтро- филов (n=3)	I-II	I-III	II-III
иХЛлл, 10 ⁴ , имп/мин	1,1 (0,2-3,0)	3,2 (1,8-3,6)	10,7 (2,3-20,6)	6,25 (0,5-12,0)	0,35	0,86	0,53
сХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,55 (0,2-1,1)	0,4 (0,1-0,9)	1,3* (0,6-1,9)	3,1 (2,0-4,1)	0,26	0,07	0,27
иХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,3 (0,1-0,9)	0,5 (0,1-0,9)	0,75 (0,3-1,6)	0,75 (0,1-1,4)	0,76	0,85	0,80
КА ХЛлл, Ед	1,69 (0,9-3,3)	0,5* (0,1-1,1)	2,2 (0,6-7,2)	0,62 (0,03-1,2)	0,17	0,07	0,53
КА ХЛлн, Ед	0,75 (0,3-1,5)	1,51 (0,2-9,0)	0,41 (0,2-5,5)	0,26 (0,02-0,5)	0,91	0,42	0,53
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	3,6 (3,3-4,1)	1,32 (1,2-2,7)	2,0 (0,8-2,9)	4,2 (0,8-7,6)	0,91	0,86	0,80

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Из представленных данных видно, что пациенты с низкой ФА клеток обладают достоверно более низким резервом продукции АФК по данным КА ХЛлл (0,5 (0,1-1,1) < 1,69 (0,9-3,3); $p < 0,05$). В группе больных со средним уровнем

ФА нейтрофилов в сравнении с контролем отмечается повышение продукции супероксид-аниона по данным сХЛн (1,3 (0,6-1,9)<0,55 (0,2-1,1) при $p < 0,05$).

Таблица 16.2 - Функциональная неоднородность нейтрофилов и повторная госпитализация больных системной склеродермией в срок более 12 месяцев после выписки, Me (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	Регоспитализация в срок более 12 месяцев			<i>p</i>		
		I. Низкая ФА нейтро- филов (n=6)	II. Средняя ФА нейтро- филов (n=6)	III. Высокая ФА нейтро- филов (n=3)	I-II	I-III	II-III
иХЛлл, 10 ⁴ , имп/мин	1,1 (0,2-3,0)	0,9 (0,6-4,1)	1,7 (0,1-5,8)	6,0 (0,1-17,7)	0,96	0,55	0,52
сХЛн, 10 ⁴ , имп/мин	0,55 (0,2-1,1)	0,25 (0,1-0,4)	1,6* (0,7-3,0)	3,4 (2,5-21,0)	0,013	0,024	0,12
иХЛн, 10 ⁴ , имп/мин	0,3 (0,1-0,9)	0,1 (0,1-0,6)	1,0 (0,2-3,2)	1,0 (0,1-1,0)	0,14	0,54	0,52
КА ХЛлл, Ед	1,69 (0,9-3,3)	6,63 (2,0-12,0)	0,57 (0,04-2,7)	0,31 (0,01-0,8)	0,05	0,09	0,51
КА ХЛн, Ед	0,75 (0,3-1,5)	0,75 (0,3-6,0)	0,33 (0,3-1,14)	0,05 (0,04-0,3)	0,73	0,048	0,033
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	3,6 (3,3-4,1)	2,17 (1,5-2,8)	1,67 (0,8-6,4)	4,0 (1,02-5,7)	0,94	0,54	0,97

Примечание:* - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Данные, представленные в таблицы, отражают повышение продукции супероксидного аниона в группе пациентов со средним уровнем биоцидности нейтрофильных гранулоцитов в сравнении с контролем по данным сХЛлн ($1,6 (0,7-3,0) > 0,55 (0,2-1,1)$ при $p < 0,05$).

При проведении внутригруппового анализа выявлено достоверное различие в выработке супероксидного аниона между группами с низкой и средней и низкой и высокой ФА нейтрофилов. В сравнении низкой функциональной активности со средней, так же имеются различия в резерве продукции АФК. Резерв продукции супероксидного аниона различается в группах с низким и высоким уровнем биоцидности и средним и высоким уровнем ФА нейтрофилов.

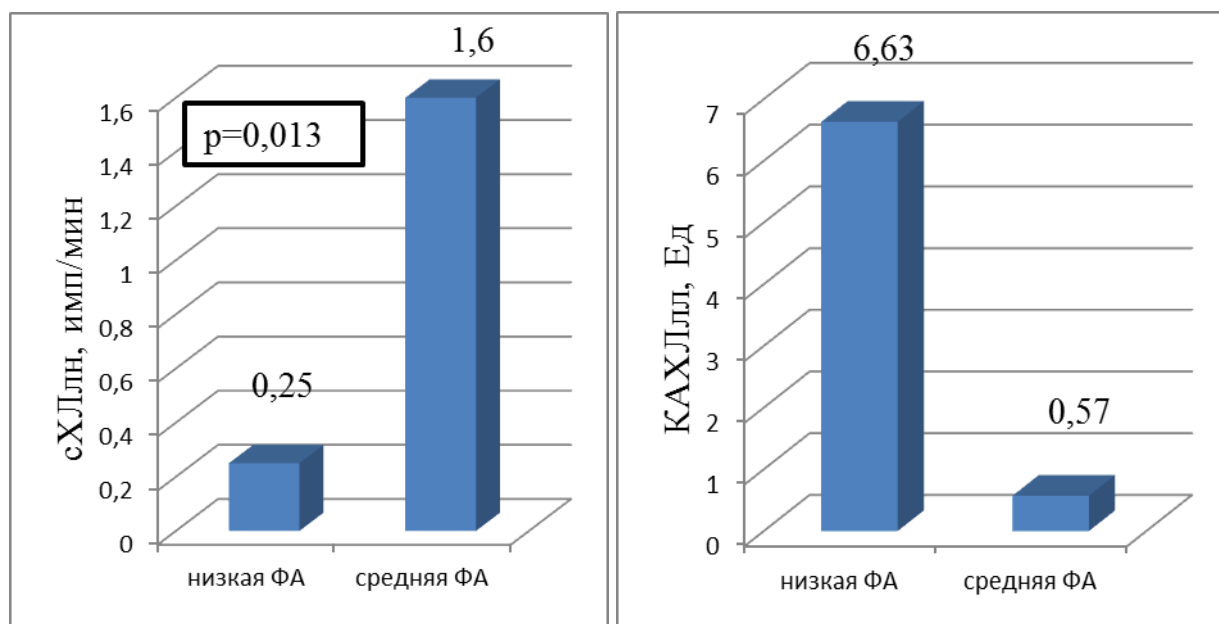


Рисунок 2 - Различия показателей продукции супероксид-аниона и резервного потенциала в связи с функциональной неоднородностью нейтрофилов у больных ССД, госпитализированных повторно в срок более 12 месяцев.

При анализе данных пациентов, госпитализированных повторно более чем через 12 месяцев, выявлено увеличение продукции супероксид-аниона у больных со средней степенью активности нейтрофилов в сравнении с пациентами с низкой степенью ФА нейтрофильных гранулоцитов сХЛлн ($0,25 (0,1-0,4) < 1,6 (0,7-3,0)$; $p=0,013$). И наоборот – увеличение функционального резерва продукции

активных форм кислорода у больных с низкой степенью активности в сравнении с пациентами со средней степенью активности КА ХЛЛл ($6,63 (4,0-11,0) > 0,57 (0,8-3,6)$; $p=0,05$) (рисунок 2).

3.3 Изменение содержания эстрадиола и тестостерона в крови больных системной красной волчанкой и системной склеродермией

Исследование роли половых гормонов в возникновении и развитии системной красной волчанки и системной склеродермии началось после того, как первые большие клинические обобщения выявили значительное преобладание среди больных женщин. Предполагают, что участие половых гормонов в развитии заболеваний связано с их физиологическими эффектами, способствующими иммунологической гиперреактивности [29].

Одно из центральных мест в патогенезе СКВ занимает нарушение толерантности В-клеток и продукция аутоантител. Эти процессы регулируются, в том числе и половыми гормонами, оказывающими на жизнедеятельность В-клеток как прямой, так и опосредованный эффект (В-клеточный лимфопоэз, созревание и селекцию). Андрогены, в отличие от эстрогенов, подавляют гуморальное звено иммунитета. Показано, что у пациентов с СКВ тестостерон через уменьшение выработки ИЛ-6 и угнетение В-клеточной активности ингибирует синтез антител к ДНК. Согласно полученным данным женщины с активной СКВ без терапии глюкокортикостероидами демонстрируют снижение уровня андрогенов в крови [120].

В патогенезе ССД важное место занимает снижение уровня продукции стероидных гормонов корой надпочечников. Без восполнения гормонального дефицита невозможно подавить активность коллагенообразования, приостановить деструкцию коллагена соединительной ткани и добиться ремиссии.

Ниже приводятся результаты исследований уровня эстрогена и тестостерона в крови больных системной красной волчанкой и системной склеродермией (таблица 17). Учитывая половую принадлежность больных, составивших группу наблюдения, для обеспечения корректности статистического анализа в контрольную группу были включены только женщины.

Таблица 17 - Сравнительная характеристика показателей содержания половых гормонов в крови больных системной красной волчанкой и системной склеродермией, Me (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	СКВ (n=50)	ССД (n=28)	<i>p</i>
Эстрадиол	115,0 (30,0-200,0)	285,0* (117,0-365,0)	131,5* (94,5-164,2)	0,01
Тестостерон	0,36 (0,07-0,65)	0,30 (0,17-0,44)	0,30 (0,18-0,40)	0,92

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Приведенные в таблице 17 данные свидетельствуют о статистически значимом повышении уровня эстрадиола в крови больных СКВ и ССД в сравнении с показателями группы контроля ($285,0 (117,0-365,0) > 115,0 (30,0-200,0)$, $p < 0,05$ и $131,5 (94,5-164,2) > 115,0 (30,0-200,0)$, $p < 0,05$) соответственно. При этом содержание эстрадиола в крови больных СКВ значимо превышало таковое в группе больных ССД ($285,0 (117,0-365,0) > 131,5 (94,5-164,2)$; $p = 0,01$).

Изменение уровня половых гормонов в зависимости от возраста больных системной красной волчанкой и системной склеродермией

По данным таблицы 18 у пациентов с СКВ зрелого возраста регистрируется снижение содержания тестостерона в крови в сравнении с контролем ($0,23 (0,17-0,35) < 0,36 (0,07-0,65)$, при $p < 0,05$), ассоциированное со снижением индекса эстрогении ($0,16 (0,1-0,33) < 0,27 (0,23-0,32)$, при $p < 0,05$). Пациенты молодого возраста демонстрируют повышение уровня эстрадиола в крови по сравнению с контролем ($329,0 (284,0-421,0) > 115,0 (30,0-200,0)$, при $p < 0,05$).

Таблица 18 - Изменение концентрации половых гормонов в зависимости от возраста больных системной красной волчанкой, Me (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	I Молодой возраст (n=31)	II Зрелый возраст (n=19)	<i>p</i>
Эстрадиол, пмоль/мл	115,0 (30,0-200,0)	329,0* (284,0-421,0)	127,0 (96,0-154,0)	0,001
Тестостерон, пмоль/мл	0,36 (0,07-0,65)	0,36 (0,17-0,51)	0,23* (0,17-0,35)	0,10
Коэффициент Т/Э, %	0,27 (0,23-0,32)	0,10* (0,07-0,18)	0,16* (0,1-0,33)	0,037

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

При проведении межгруппового сравнения молодого и зрелого возраста выявлено достоверное различие в содержании эстрадиола в сыворотке крови, $p = 0,001$.

Таблица 19 - Изменение концентрации половых гормонов в зависимости от возраста больных системной склеродермией, Me (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	I Молодой возраст (n=11)	II Зрелый возраст (n=17)	<i>p</i>
Эстрадиол, пмоль/мл	115,0 (30,0-200,0)	149,7 (137,0-191,0)	111,0 (87,0-132,1)	0,019
Тестостерон, пмоль/мл	0,36 (0,07-0,65)	0,20 (0,14-0,5)	0,32* (0,27-0,39)	0,45
Коэффициент Т/Э, %	0,27 (0,23-0,32)	0,16 (0,09-0,26)	0,29 (0,18-0,45)	0,08

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Как видно из представленных данных пациенты с ССД зрелого возраста обладают более низкой концентрацией тестостерона в сравнении с контрольными показателями (0,32 (0,27-0,39)<0,36 (0,07-0,65), при $p<0,05$). При внутригрупповом сравнении пациенты молодого возраста характеризуются более высоким уровнем эстрадиола в крови в сравнении с пациентами зрелого возраста (149,7 (137,0-191,0)>111,0 (87,0-132,1), при $p<0,05$).

Изменение уровня половых гормонов в зависимости от длительности заболевания у больных системной красной волчанкой и системной склеродермией

Все пациенты за время своего заболевания периодически, а некоторые постоянно, получают гормональную терапию. Это, а так же длительность заболевания, оказывает влияние на продукцию гормонов непосредственно самим организмом. Ниже представлены данные об изменении концентрации половых гормонов в зависимости от длительности заболевания при СКВ и ССД (таблица 20-21).

Таблица 20 - Изменение концентрации половых гормонов в зависимости от длительности заболевания у больных системной красной волчанкой, Me (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	I Длительность менее 5 лет (n=24)	II Длительность более 5 лет (n=26)	<i>p</i>
Эстрадиол, пмоль/мл	115,0 (30,0-200,0)	293,0* (119,0-398,0)	159,0* (117,0-346,0)	0,63
Тестостерон, пмоль/мл	0,36 (0,07-0,65)	0,36 (0,2-0,46)	0,25 (0,17-0,37)	0,17
Коэффициент Т/Э,%	0,27 (0,23-0,32)	0,18* (0,08-0,24)	0,13* (0,08-0,19)	0,83

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Представленные в таблице 20 данные указывают на то, что больные в группах с длительностью заболевания менее 5 лет и более 5 лет демонстрируют достоверно более высокий уровень эстрадиола в сыворотке крови по сравнению с группой контроля ($293,0 (119,0-398,0) > 115,0 (30,0-200,0)$, $p < 0,05$ и $159,0 (117,0-346,0) > 115,0 (30,0-200,0)$, $p < 0,05$, соответственно), ассоциированный со снижением уровня эстрогенов в обеих группах ($0,18 (0,08-0,24) < 0,27 (0,23-0,32)$, при $p < 0,05$ и $0,13 (0,08-0,19) < 0,27 (0,23-0,32)$, при $p < 0,05$).

Таблица 21 - Изменение концентрации половых гормонов у больных системной склеродермией в зависимости от длительности заболевания, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	I Длительность менее 5 лет (n=8)	II Длительность более 5 лет (n=20)	<i>p</i>
Эстрадиол, пмоль/мл	115,0 (30,0-200,0)	125,0 (99,0-148,5)	131,5 (94,5-170,6)	0,78
Тестостерон, пмоль/мл	0,36 (0,07-0,65)	0,4 (0,26-0,9)	0,28 (0,16-0,37)	0,09
Коэффициент Т/Э, %	0,27 (0,23-0,32)	0,41 (0,17-0,72)	0,19* (0,1-0,33)	0,11

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Из представленных в таблице 21 данных видно, что коэффициент Т/Э статистически значимо отличался от такового в группе контроля, уменьшаясь при длительности заболевания более 5 лет ($0,19 (0,1-0,33) < 0,27 (0,23-0,32)$, при $p < 0,05$).

Изменение концентрации половых гормонов в зависимости от характера течения заболевания у больных системной красной волчанкой и системной склеродермией

Важную роль в манифесте заболевания, помимо генетических факторов, играет уровень половых гормонов. Негативное влияние эстрогенов подтверждается преобладанием заболевания в группе женщин детородного возраста, высокой частотой дебюта и/или обострения заболевания после родов и абортов, а также низким уровнем тестостерона и повышенным - эстрадиола у мужчин с СКВ [41]. Таким образом, характер течения заболевания напрямую зависит от уровня половых гормонов.

Таблица 22 - Изменение концентрации половых гормонов в зависимости от характера течения заболевания у больных системной красной волчанкой, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	Подострое течение (n=32)	Хроническое течение (n=18)	<i>p</i>
Эстрадиол, пмоль/мл	115,0 (30,0-200,0)	290,0* (125,0-412,0)	138,0 (104,0-314,0)	0,82
Тестостерон, пмоль/мл	0,36 (0,07-0,65)	0,31 (0,13-0,46)	0,29 (0,17-0,42)	0,86
Коэффициент Т/Э, %	0,27 (0,23-0,32)	0,17* (0,1-0,24)	0,11* (0,07-0,18)	0,12

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

В соответствии с результатами, представленными в таблице 22, больные с подострым течением заболевания демонстрируют статистически более высокий уровень содержания эстрадиола в сыворотке крови в сравнении с группой контроля: 290,0 (125,0-412,0) > 115,0 (30,0-200,0), $p < 0,05$. Отмечается наличие достоверного снижения уровня эстрогенов в группах с подострым и хроническим течением заболевания при сравнении с показателем контрольной группы: 0,17

(0,1-0,24)<0,27 (0,23-0,33), $p<0,05$ и 0,11 (0,07-0,18)<0,27 (0,23-0,33), $p<0,018$ соответственно. При межгрупповом сравнении достоверных различий в продукции половых гормонов и уровне эстрогении выявлено не было.

Таблица 23 - Изменение уровня половых гормонов в зависимости от характера течения заболевания у больных системной склеродермией, Me (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	Подострое течение (n=6)	Хроническое течение (n=22)	<i>p</i>
Эстрадиол, пмоль/мл	115,0 (30,0-200,0)	142,5 (91,0-149,7)	127,5 (98,0-168,5)	0,87
Тестостерон, пмоль/мл	0,36 (0,07-0,65)	0,18 (0,06-0,27)	0,34 (0,2-0,41)	0,049
Коэффициент Т/Э, %	0,27 (0,23-0,32)	0,28* (0,16-0,45)	0,13 (0,1-0,18)	0,07

Примечание: * - $p<0,05$ по сравнению с контролем

Сравнительный анализ показателей концентрации половых гормонов в крови больных ССД продемонстрировал статистически значимое снижение уровня тестостерона при подостром течение заболевания в сравнении с хроническим течением патологического процесса (0,18 (0,06-0,27)<0,34 (0,2-0,41), $p<0,05$). В группе больных с подострым течением обнаружена тенденция к увеличению уровня эстрогении (0,28 (0,16-0,45)>0,13 (0,1-0,18), $p=0,07$) в сравнении с группой больных с хроническим течением заболевания.

Изменение концентрации половых гормонов в зависимости от активности заболевания у больных системной красной волчанкой

Значительный практический интерес представляет исследование изменения содержания половых гормонов в зависимости от активности патологического процесса. Различия содержания эстрадиола и тестостерона у больных СКВ с различной активностью заболевания представлены в таблице 24.

Таблица 24 - Изменение концентрации половых гормонов в зависимости от активности заболевания у больных системной красной волчанкой, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	Активность I (n=26)	Активность II (n=24)	<i>p</i>
Эстрадиол, пмоль/мл	115,0 (30,0-200,0)	150,5 (112,0-338,0)*	296,0* (148,0-384,0)	0,12
Тестостерон, пмоль/мл	0,36 (0,07-0,65)	0,31 (0,17-0,42)	0,35 (0,21-0,45)	0,77
Коэффициент Т/Э, %	0,27 (0,23-0,32)	0,15 (0,1-0,24)*	0,11* (0,08-0,18)	0,77

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Представленные в таблице 24 данные свидетельствуют о наличии статистически значимого повышения концентрации эстрадиола в сыворотке крови у пациентов с активностью I и II в сравнении с контрольными показателями (150,5 (112,0-338,0) > 115,0 (30,0-200,0), $p < 0,05$ и 296,0 (148,0-384,0) > 115,0 (30,0-200,0), $p < 0,05$, соответственно). Коэффициент эстрогении у больных с активностью заболевания I и II достоверно ниже, чем в группе контроля: 0,15 (0,1-0,24) < 0,27 (0,23-0,32), $p < 0,05$, и 0,11 (0,08-0,18) < 0,27 (0,23-0,32), $p < 0,05$ соответственно. При проведении межгруппового статистического анализа достоверных различий не выявлено.

Изменение концентрации половых гормонов в зависимости от формы заболевания у больных системной склеродермией

Результаты исследования изменения концентрации половых гормонов в зависимости от формы заболевания при системной склеродермии представлены в таблице 25.

Таблица 25 - Изменение концентрации половых гормонов в зависимости от формы заболевания у больных системной склеродермией, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	I Диффузная форма (n=12)	II Лимитированная форма (n=16)	<i>p</i>
Эстрадиол, пмоль/мл	115,0 (30,0-200,0)	134 (104,5-193,5)	128,1 (86,0-148,9)	0,37
Тестостерон, пмоль/мл	0,36 (0,07-0,65)	0,38 (0,2-0,56)	0,3 (0,17-0,38)	0,28
Коэффициент Т/Э, %	0,27 (0,23-0,32)	0,24 (0,13-0,49)	0,22 (0,12-0,38)	0,79

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Представленные в таблице 25 данные демонстрируют отсутствие статистически значимых различий изучаемых показателей при сравнении больных с различными формами системной склеродермии.

Изменение концентрации половых гормонов в зависимости от повторной госпитализации у больных системной красной волчанкой и системной склеродермией

Для предотвращения рецидивов заболевания и проведения мер вторичной профилактики важно понимать причины ухудшения течения патологического процесса. Ниже исследована взаимосвязь содержания эстрадиола и тестостерона со сроками регоспитализации (таблица 26.1 – 26.2).

Таблица 26.1 - Изменение концентрации половых гормонов в зависимости от повторной госпитализации у больных системной красной волчанкой, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	I Регоспитализация менее 12 месяцев (n=22)	II Регоспитализация более 12 месяцев (n=28)	<i>p</i>
Эстрадиол, пмоль/мл	115,0 (30,0-200)	285,5 (117,0-412,0)	285,0* (115,5-327,5)	0,43
Тестостерон, пмоль/мл	0,36 (0,07-0,65)	0,31 (0,23-0,37)	0,28 (0,12-0,47)	0,92
Коэффициент Т/Э, %	0,27 (0,23-0,32)	0,12 (0,09-0,19)	0,13* (0,08-0,24)	0,82

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

У пациентов с повторной госпитализацией более 12 месяцев отмечается достоверное повышение эстрадиола в крови (285,0 (115,5-327,5) < 115,0 (30,0-200,0), при $p < 0,05$) в сравнении с контрольными показателями, ассоциированное со снижением коэффициента эстрогении Т/Э (0,13 (0,08-0,24) < 0,27 (0,23-0,32), при $p < 0,05$).

Таблица 26.2 - Изменение концентрации половых гормонов в зависимости от повторной госпитализации у больных системной склеродермией, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	I Регоспитализация менее 12 месяцев (n=13)	II Регоспитализация более 12 месяцев (n=15)	<i>p</i>
Эстрадиол, пмоль/мл	115,0 (30,0-200)	130,5 (94,5-179,7)	131,5* (93,5-154,8)	0,94
Тестостерон, пмоль/мл	0,36 (0,07-0,65)	0,29 (0,15-0,4)	0,31 (0,18-0,44)	0,69

Продолжение таблицы 26.2

Показатель	Контроль (n=25)	I Регоспитализация менее 12 месяцев (n=13)	II Регоспитализация более 12 месяцев (n=15)	<i>p</i>
Коэффициент Т/Э, %	0,27 (0,23-0,32)	0,21* (0,15-0,31)	0,29* (0,1-0,49)	0,57

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

По данным таблицы 26.2 больные с ССД госпитализированные повторно более 12 месяцев обладают более высоким уровнем эстрадиола в сравнении с контролем ($131,5 (93,5-154,8) > 115,0 (30,0-200,0)$, при $p < 0,05$), данные изменения ассоциированы со снижением эстрогенов как в группе с регоспитализацией более 12 месяцев ($0,29 (0,1-0,49) < 0,27 (0,23-0,32)$, при $p < 0,05$), в том числе и у больных регоспитализированных менее 12 месяцев ($0,21 (0,15-0,31) < 0,27 (0,23-0,32)$, при $p < 0,05$).

3.4 Взаимосвязь показателей кислородзависимого метаболизма нейтрофилов и гормонального спектра при СКВ и ССД

Изменение функциональной активности нейтрофилов вносит существенный вклад в развитие аутоиммунных заболеваний. При этом непосредственное участие половых гормонов в регуляции функциональной активности клеток носит неоспоримый характер. Представленные на рисунках 3, 4 и 5 данные демонстрируют влияние половых гормонов на метаболизм нейтрофилов.

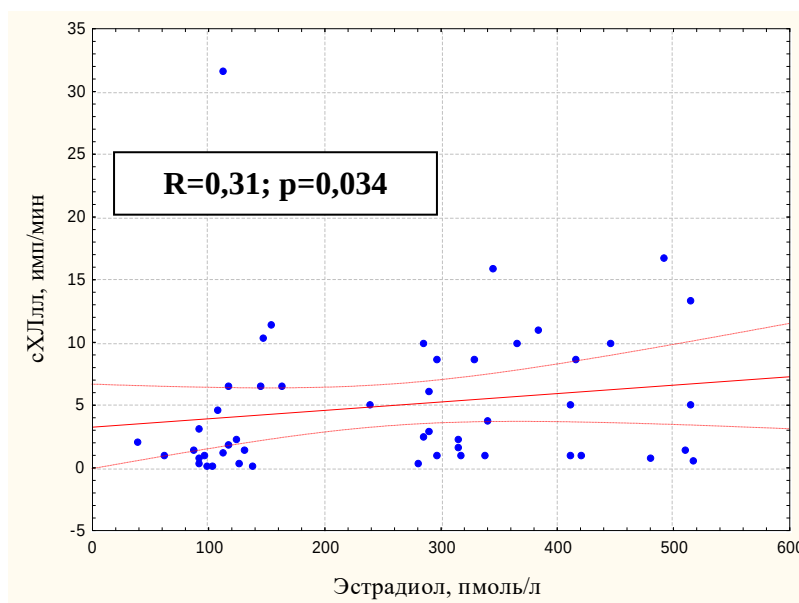


Рисунок 3 - Взаимосвязь между уровнем кислородзависимого метаболизма нейтрофилов и концентрацией эстрадиола в крови больных СКВ

По данным рисунка 3 имеется прямая корреляция между уровнем кислородзависимого метаболизма нейтрофилов (сХЛл) и уровнем эстрадиола крови ($R=0,31; p=0,034$).

Из рисунков 5 и 6 следует, что резервный потенциал нейтрофилов, по данным иХЛл, у больных СКВ, а также резерв продукции супероксидного анион-радикала, по данным иХЛн, у больных ССД находятся в прямой корреляционной зависимости от коэффициента эстрогении ($R=0,51; p=0,005$ и $R=0,49; p=0,005$, соответственно).

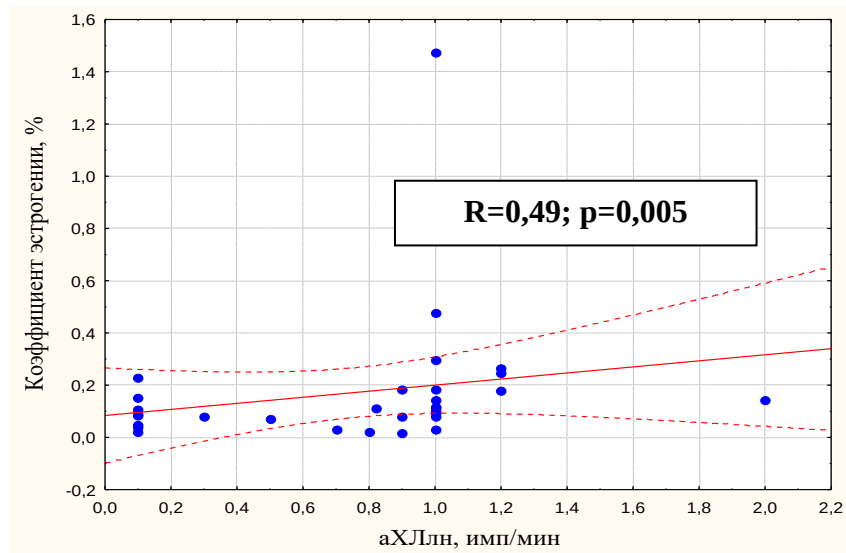


Рисунок 4 - Взаимосвязь показателей резерва продукции супероксид-аниона нейтрофилами и коэффициента эстрогении у больных СКВ

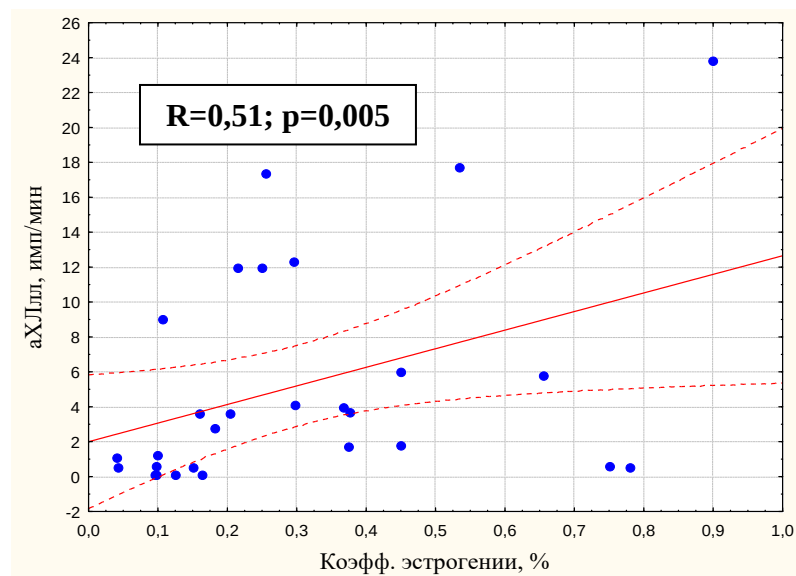


Рисунок 5 - Взаимосвязь показателей резервного потенциала нейтрофилов и коэффициента эстрогении у больных ССД

Характеристика показателей функциональной активности нейтрофилов и уровня половых гормонов у больных системной красной волчанкой и системной склеродермией

Поскольку половые гормоны принимают активное участие в регуляции жизнедеятельности нейтрофилов, постольку выявление взаимосвязи между функциональной активностью клеток и концентрацией половых гормонов в крови больных СКВ и ССД представляется важным практическим результатом исследования (таблицы 27 и 28).

Таблица 27 - Корреляционная матрица (R_s) взаимосвязи показателей ФА нейтрофилов и уровня половых гормонов у больных системной красной волчанкой

Показатель	Эстрадиол	Тестостерон
сХЛлл, 10^4 , имп/мин	0,31*	0,05
иХЛлл, 10^4 , имп/мин	0,06	0,23
сХЛлн, 10^4 , имп/мин	-0,05	0,07
иХЛлн, 10^4 , имп/мин	-0,1	0,06
КА ХЛлл, Ед	-0,07	0,29*
КА ХЛлн, Ед	0,01	-0,09
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	-0,18	-0,15

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Как видно из представленных в таблице 27 данных, обнаружена прямая корреляционная взаимосвязь между концентрацией эстрадиола в сыворотке крови и уровнем кислородзависимого метаболизма нейтрофилов ($R=0,3$, $p=0,05$) и прямая корреляция между степенью функциональной активности нейтрофилов и уровнем тестостерона в сыворотке крови ($R=0,29$, $p=0,05$).

Таблица 28 - Корреляционная матрица (R_s) взаимосвязи показателей ФА нейтрофилов и уровня половых гормонов у пациентов с системной склеродермией

Показатель	Эстрадиол	Тестостерон
сХЛЛл, 10^4 , имп/мин	- 0,17	0,28
иХЛЛл, 10^4 , имп/мин	- 0,23	0,45*
сХЛЛн, 10^4 , имп/мин	- 0,14	0,16
иХЛЛн, 10^4 , имп/мин	0,11	0,3
КА ХЛЛл, Ед	0,01	0,01
КА ХЛЛн, Ед	0,21	0,06
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	0,13	-0,47*

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Приведенные в таблице 28 данные демонстрируют наличие прямой средней корреляционной взаимосвязи между резервом продукции нейтрофилами АФК и концентрацией тестостерона в крови больных ССД ($R_s=0,45$, $p=0,05$).

Ниже приведены результаты исследования изменения уровня ФА нейтрофилов в зависимости от концентрации половых гормонов (таблицы 29-30).

Таблица 29 - Корреляционная матрица (R_s) взаимосвязи уровня функциональной активности нейтрофилов и концентрации половых гормонов у пациентов с СКВ

Показатель	Низкая ФА нейтрофилов		Средняя ФА нейтрофилов		Высокая ФА нейтрофилов	
	Эстра- диол	Тесто- стерон	Эстра- диол	Тесто- стерон	Эстра- диол	Тесто- стерон
иХЛЛл, 10^4 , имп/мин	-0,41	0,34	-0,08	0,04	0,4	0,41
сХЛЛн, 10^4 , имп/мин	-0,37	0,28	-0,37	-0,02	0,36	0,22
иХЛЛн, 10^4 , имп/мин	0,35	0,02	-0,38*	-0,17	0,04	0,68*
КАХЛЛл, Ед	-0,58	0,31	0,07	0,29	0,3	0,39
КА ХЛЛн, Ед	0,52	-0,25	0,05	-0,05	-0,38	0,28
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	-0,04	0,19	-0,41*	-0,01	0,59*	-0,46

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

У больных с СКВ с высокой функциональной активностью нейтрофилов обнаруживается прямая умеренная корреляционная взаимосвязь между концентрацией тестостерона и резервом продукции супероксидного анион-радикала ($R=0,68$, $p=0,009$). В группе пациентов со средней функциональной активностью клеток выявляется обратная умеренная корреляционная взаимосвязь между уровнем эстрадиола в сыворотке крови и резервом продукции супероксид-аниона ($R=-0,38$, $p=0,04$).

Таблица 30 - Корреляционная матрица (R_s) взаимосвязи уровня функциональной активности нейтрофилов и концентрацией половых гормонов у пациентов с ССД

Показатель	Низкая ФА нейтрофилов		Средняя ФА нейтрофилов		Высокая ФА нейтрофилов	
	Эстра- диол	Тесто- стерон	Эстра- диол	Тесто- стерон	Эстра- диол	Тесто- стерон
иХЛлл, 10^4 , имп/мин	-0,05	0,34	-0,46	0,28	-0,2	0,8
сХЛлн, 10^4 , имп/мин	-0,04	0,46	0,06	-0,28	-0,4	0,4
иХЛлн, 10^4 , имп/мин	0,015	-0,015	0,29	-0,002	0	0,89
КАХЛлл, Ед	-0,04	-0,23	-0,45	0,34	-0,2	0,8
КА ХЛлн, Ед	0,03	-0,24	0,32	0,28	0,2	0,8
NO_3/NO_2 , мкМ/л	0,44	-0,77*	0,25	-0,43	-0,70	-0,40

Примечание: * - $p<0,05$ по сравнению с контролем

У больных ССД с низкой ФА нейтрофилов наблюдается обратная выраженная корреляционная взаимосвязь между продукцией тестостерона и концентрацией метаболитов азота ($R= -0,77$, $p<0,05$).

3.5 Изменение показателей функциональной активности нейтрофилов у больных СКВ и ССД в зависимости от наступления менопаузы

Установлено, что индекс активности СКВ у женщин, находящихся в пре- и постменопаузе, абсолютно идентичен, что указывает на отсутствие взаимосвязи между статусом менопаузы и снижением активности заболевания. С другой стороны, индекс повреждения у женщин в постменопаузе выше. При этом взаимосвязи между статусом менопаузы и индексом активности, количеством обострений и индексом повреждения не выявлено [193].

Принимая во внимание вышеизложенное, проведено исследование функциональной активности нейтрофилов у больных СКВ и ССД в зависимости от наступления периода менопаузы (таблицы 31 и 32).

Таблица 31 - Сравнительная характеристика показателей кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у больных СКВ в пременопаузе и постменопаузе, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Пременопауза (n=36)	Постменопауза (n=14)	<i>p</i>
сХЛлл, 10^4 , имп/мин	2,65 (1,0-8,7)	1,5 (0,4-5,0)	0,16
иХЛлл, 10^4 , имп/мин	1,0 (0,85-6,4)	1,0 (0,6-4,0)	0,6
сХЛлн, 10^4 , имп/мин	1,25 (0,5-2,25)	1,05 (0,5-2,0)	0,61
иХЛлн, 10^4 , имп/мин	0,95 (0,2-1,0)	0,35 (0,1-1,0)	0,27
КА ХЛлл, Ед	1,0 (0,2-1,47)	1,0 (0,26-2,0)	0,72
КА ХЛлн, Ед	0,5 (0,33-1,0)	0,4 (0,2-1,0)	0,41
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	1,66 (0,91-2,5)	1,5 (0,93-2,7)	0,79

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Данные, приведенные в таблице 31, свидетельствуют об отсутствии статистически значимых различий в уровне кислородзависимого метаболизма нейтрофилов в пре- и постменопаузе у пациентов с СКВ.

Таблица 32 - Сравнительная характеристика показателей кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у больных ССД в пременопаузе и постменопаузе, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Пременопауза (n=11)	Постменопауза (n=17)	p
сХЛлл, 10^4 , имп/мин	1,2 (0,4-5,6)	1,9 (0,4-5,2)	0,96
иХЛлл, 10^4 , имп/мин	1,1 (0,5-9,0)	3,6 (1,2-6,0)	0,42
сХЛлн, 10^4 , имп/мин	1,5 (0,3-2,1)	0,7 (0,2-3,0)	0,78
иХЛлн, 10^4 , имп/мин	0,5 (0,1-1,4)	1,0 (0,1-1,1)	0,42
КА ХЛлл, Ед	2,0 (0,09-9,0)	2,7 (0,57-5,6)	0,87
КА ХЛлн, Ед	0,31 (0,1-0,81)	0,5 (0,22-4,6)	0,42
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	2,7 (1,5-4,0)	1,4 (1,02-5,4)	0,80

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Результаты статистического анализа свидетельствуют об отсутствии статистически значимых изменений кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у больных ССД в периоды пре- и постменопаузы.

Корреляционный анализ показателей ФА нейтрофилов и гормонального спектра при СКВ и ССД в пре- и постменопаузе представлен в таблицах 33-34.

Таблица 33 - Корреляционная матрица (R_s) взаимосвязи гормонов и ФА нейтрофилов у больных СКВ в пременопаузе и постменопаузе

Показатель	Постменопауза			Пременопауза		
	Эстра- диол	Тесто- стерон	Т/Э	Эстра- диол	Тесто- стерон	Т/Э
иХЛлл, 10^4 , имп/мин	-0,24	0,13	0,21	0,06	0,24	0,17
сХЛлн, 10^4 , имп/мин	0,35	0,03	-0,16	-0,21	0,05	0,30
иХЛлн, 10^4 , имп/мин	0,31	-0,35	-0,51	-0,41*	0,16	0,49*
КА ХЛлл, Ед	0,7*	0,31	0,57*	0,09	0,3	0,12
КА ХЛлн, Ед	0,16	-0,53*	-0,55*	-0,12	0,008	0,02
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	-0,52*	-0,03	0,25	0,03	-0,19	-0,09

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Из таблицы 33 следует, что у больных СКВ в пременопаузе существует средняя обратная корреляция между уровнем функционального резерва продукции АФК, в частности, супероксидного анион-радикала и концентрацией эстрадиола в крови ($R = -0,41$, $p = 0,01$). Обнаружена прямая корреляция между индексом эстрогении и резервом продукции супероксидного анион-радикала ($R = 0,44$, $p = 0,007$).

У больных в постменопаузе отмечается прямая корреляция между уровнем эстрадиола и степенью ФА нейтрофилов ($R = 0,7$, $p < 0,05$) и обратная умеренная взаимосвязь между уровнем эстрадиол и концентрацией метаболитов азота ($R = -0,52$, $p < 0,05$). Обнаружена обратная умеренная корреляция между концентрацией тестостерона и функциональным резервом продукции супероксидного анион-радикала ($R = -0,53$, $p = 0,049$). Выявлена прямая умеренная корреляция между коэффициентом эстрогении и продукцией АФК ($R = 0,57$, $p = 0,03$), а так же обратная умеренная корреляция индекса эстрогении и функциональным резервом продукции АФК нейтрофилами ($R = -0,55$, $p = 0,04$).

Таблица 34 - Корреляционная матрица (R_s) взаимосвязи гормонов и функциональной активности нейтрофилов у больных ССД в пременопаузе и постменопаузе

Показатель	Постменопауза			Пременопауза		
	Эстра- диол	Тесто- стерон	Т/Э	Эстра- диол	Тесто- стерон	Т/Э
иХЛлл, 10^4 , имп/мин	0,08	0,78	0,56	-0,18	0,13	0,33
сХЛлн, 10^4 , имп/мин	-0,13	0,28	0,26	-0,21	0,14	0,30
иХЛлн, 10^4 , имп/мин	0,24	0,18	-0,016	0,47	0,35	0,21
КА ХЛлл, Ед	0,09	0,26	0,13	0,07	-0,15	-0,11
КА ХЛлн, Ед	0,27	-0,18	-0,27	0,57	0,36	0,11
NO_3/NO_2 , мкМ/л	0,05	-0,46	-0,38	-0,15	-0,42	-0,43

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Обнаружена сильная прямая корреляция между концентрацией тестостерона в сыворотке крови и потенциалом продукции активных форм кислорода нейтрофилами ($R=0,78$, $p=0,0002$), а так же прямая корреляция между уровнем продукции активных форм кислорода и индексом эстрогении ($R=0,56$, $p=0,02$).

ГЛАВА 4. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ НЕОДНОРОДНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ И ГОРМОНАЛЬНЫЙ ДИСБАЛАНС ПРИ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ И СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИИ: КЛИНИКО- ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

За последние годы накоплено достаточно данных, доказывающих, что развитию СКВ и ССД сопутствует неправильная регуляции функциональной активности лейкоцитов. Прогрессирование патологического процесса связано с повреждением внутренних органов, прежде всего легких и сердечно-сосудистой системы. Ниже приведены данные сравнительной характеристики клинико-лабораторных показателей у больных СКВ и ССД в зависимости от уровня функциональной активности нейтрофилов.

Таблица 35 - Частота обнаружения клинико-лабораторных признаков воспаления и поражения внутренних органов (n (%)) у больных СКВ в зависимости от уровня биоцидности нейтрофилов

Показатель	I СКВ с низким уровнем ФА нейтрофилов (n=10)	II СКВ со средним уровнем ФА нейтрофилов (n=27)	III СКВ с высоким уровнем ФА нейтрофилов (n=13)	p		
				I-II	I-III	II-III
СОЭ>20 мм/ч	1 (10,0)	10 (37,3)	5 (38,5)	-	-	0,48
СРБ>5 мг/л	0	4 (14,8)	9 (69,2)	-	-	0,04
IgA>3,5 г/л	4 (40,0)	2 (7,4)	2 (15,4)	-	-	-
IgM>2,5 г/л	0	3 (11,1)	2 (15,4)	-	-	-
IgG>18 г/л	2 (20,0)	5 (18,5)	0	-	-	-
ЦИК >65 ед.опт.пл.	6 (60,0)	23 (85,1)	5 (38,5)	0,09	0,25	0,018

Продолжение таблицы 35

Показатель	I СКВ с низким уровнем ФА нейтрофилов (n=10)	II СКВ со средним уровнем ФА нейтрофилов (n=27)	III СКВ с высоким уровнем ФА нейтрофилов (n=13)	p		
				I-II	I-III	II-III
Alb<35 г/л	0	0	0	-	-	-
лейкоцитоз	1 (10,0)	4 (14,8)	5 (38,5)	-	-	0,23
лейкопения	4 (40,0)	11 (40,7)	3 (23,1)	0,48	0,32	0,28
поражение сердца	10 (100)	27 (100)	13 (100)	0,5	0,5	0,5
поражение сосудов	2 (20,0)	4 (14,8)	3 (30,7)	-	-	0,31
поражение легких	1 (10,0)	2 (7,4)	0	-	-	-
поражение почек	2 (20,0)	5 (18,5)	3 (23,1)	-	-	0,44
поражение ЖКТ	1 (10,0)	1 (3,7)	1 (7,7)	-	-	-
поражение КМС	2 (20,0)	2 (7,4)	2 (15,4)	-	-	-
поражение НС	2 (20,0)	0	3 (23,1)	-	-	-
поражение кожи	1 (10,0)	2 (7,4)	2 (15,4)	-	-	-

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Из представленных в таблице 35 данных видно, что в группе с высокой активностью нейтрофилов чаще встречается повышение уровня СРБ, чем в группе, характеризующейся средним уровнем активности нейтрофилов ($9 (69,2\%) > 4 (14,8\%)$, $p = 0,04$). В тоже время в группе со средним уровнем функциональной активности нейтрофилов, более часто встречается повышение ЦИК в сравнении с группой с высоким уровнем функциональной активности клеток ($5 (38,5) < 23 (85,1)$, $p = 0,018$).

Таблица 36 - Частота обнаружения клинико-лабораторных признаков воспаления и поражения внутренних органов (n (%)) у больных ССД в зависимости от уровня биоцидности нейтрофилов

Показатель	ССД с низким уровнем ФА нейтрофилов (n=14)	ССД со средним уровнем ФА нейтрофилов (n=13)	<i>p</i>
СОЭ>20 мм/ч	4 (28,5)	4 (28,5)	0,50
СРБ>5 мг/л	1 (7,1)	2 (14,2)	-
IgA>3,5 г/л	2 (14,2)	2 (14,2)	-
IgM>2,5 г/л	0	2 (14,2)	-
IgG>18 г/л	2 (14,2)	1 (7,1)	-
ЦИК > 65 ед.опт.пл.	9 (64,2)	9 (64,2)	0,50
Аlb 35 г/л	0	1 (7,1)	-
лейкоцитоз	4 (28,5)	4 (28,5)	0,5
лейкопения	3 (21,4)	1 (7,1)	-
поражение сердца	14 (100)	14 (100)	-
поражение сосудов	7 (50,0)	9 (64,2)	0,29
поражение легких	3 (21,4)	7 (50,0)	0,21
поражение почек	1 (7,1)	2 (14,2)	-
поражение ЖКТ	2 (14,2)	5 (35,7)	-
поражение КМС	6 (42,8)	9 (64,2)	0,22
поражение НС	1 (7,1)	1 (7,1)	-
поражение кожи	4 (28,5)	6 (42,8)	0,34

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

При анализе данных таблицы обращает на себя внимание одинаковая частота обнаружения лабораторных показателей у пациентов с низкой и средней функциональной активностью нейтрофилов. У больных со средним уровнем кислородзависимого метаболизма чуть чаще встречается поражение легких и

органов ЖКТ в сравнении с группой пациентов с низкой биоцидностью нейтрофилов.

Корреляционный анализ изучаемых показателей функциональной активности нейтрофилов и клиническими проявлениями СКВ и ССД продемонстрировал следующие результаты (таблицы 37 и 38).

Таблица 37 - Корреляционная матрица (R_s) показателей функциональной активности нейтрофилов и клиническими проявлениями СКВ

Показатели	R_s	p
сХЛлл vs СРБ	0,48	0,0003
сХЛлн vs Системные проявления	-0,34	0,014
сХЛлн vs СРБ	0,36	0,009
КА ХЛлн vs СРБ	-0,34	0,013

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Обнаружена средняя корреляция между уровнем продукции АФК, супероксид-аниона и концентрацией СРБ ($R=0,48$, $p=0,0003$ и $R=0,36$, $p=0,009$) соответственно. Системные проявления СКВ коррелируют с уровнем продукции супероксидного радикала ($R=-0,34$, $p=0,014$). Резерв продукции супероксид-аниона нейтрофилами обратно коррелирует с уровнем СРБ ($R=-0,34$, $p=0,013$).

Таблица 38 - Корреляционная матрица (R_s) показателей функциональной активности нейтрофилов и клиническими проявлениями ССД

Показатели	R	p
сХЛлл-поражение легких	0,38	0,042
сХЛлл-СРБ	0,48	0,009
сХЛлн-СРБ	0,65	0,001
иХЛлн-IgA	0,43	0,026
КА ХЛлл-IgG	0,39	0,04
КА ХЛлл-СРБ	-0,37	0,046
КА ХЛлн-поражение НС	0,41	0,029

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

В таблице 38 представлены данные, демонстрирующие взаимосвязи между уровнем ФА нейтрофилов и клиническими проявлениями заболевания. Обнаружена прямая средняя корреляция между уровнем продукции кислородных радикалов и поражением легких ($R=0,38$, $p=0,042$) и уровнем СРБ ($R=0,48$, $p=0,009$), а так же сильная прямая корреляционная взаимосвязь между уровнем продукции АФК и концентрацией IgA ($R=0,65$, $p=0,001$). При анализе взаимосвязи уровня иммуноглобулинов и активности нейтрофилов выявлена умеренная прямая корреляция между уровнем IgA и резервом продукции супероксидного аниона ($R=0,43$, $p=0,026$); умеренная прямая зависимость между концентрацией IgG и резервом выработки АФК ($R=0,39$, $p=0,04$). Концентрация СРБ коррелирует с уровнем АФК ($R=-0,37$, $p=0,046$). Поражение нервной системы взаимосвязано с уровнем продукции супероксид-аниона ($R=0,41$, $p=0,029$).

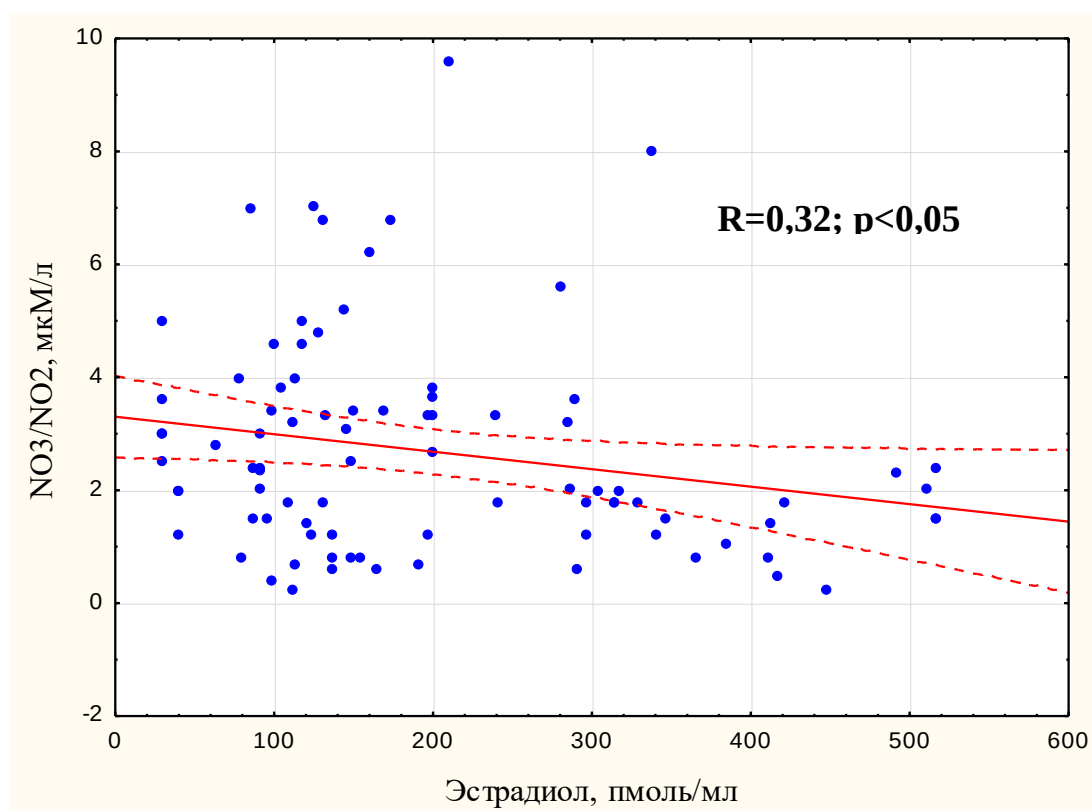


Рисунок 6 - Взаимосвязь показателей продукции метаболитов оксида азота нейтрофилами и концентрации эстрадиола крови у больных СКВ

По представленным на рисунке 6 данным нейтрофилы больных СКВ демонстрируют прямую умеренную взаимосвязь между продукцией метаболитов азота и уровнем эстрадиола в сыворотке крови.

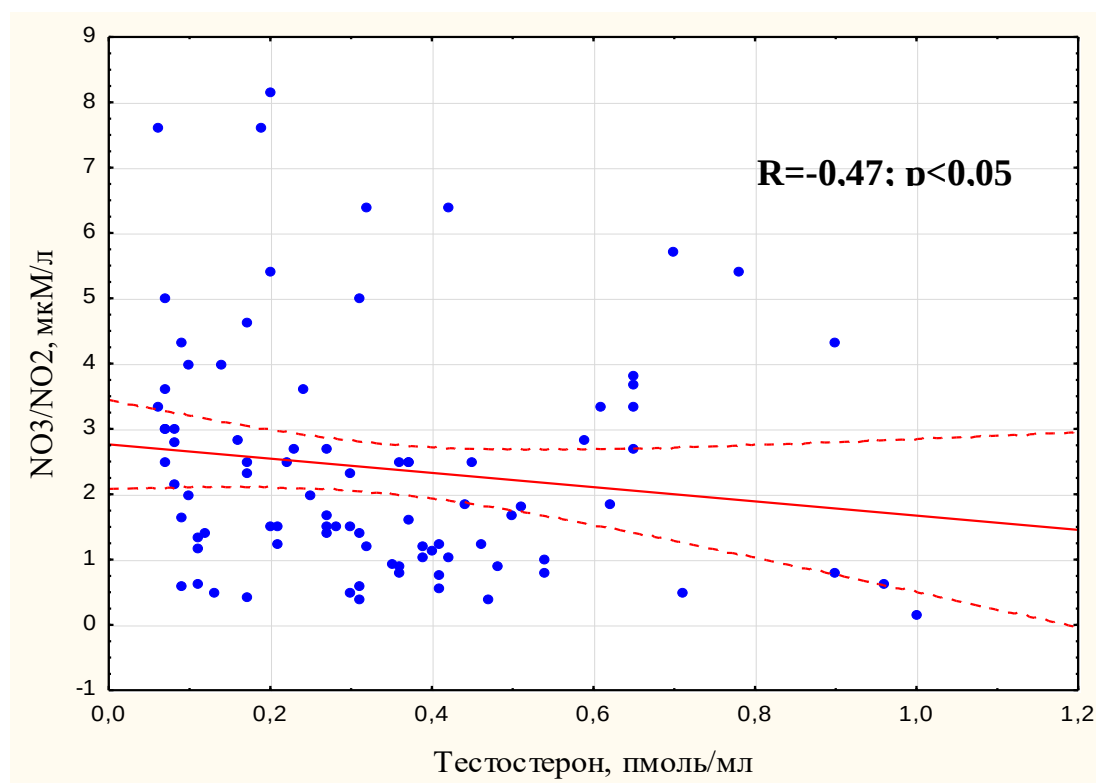


Рисунок 7 - Взаимосвязь показателей продукции метаболитов оксида азота нейтрофилами и концентрации тестостерона крови у больных ССД

Исходя из данных рисунка 7 уровень тестостерона больных ССД умеренно обратно коррелирует с продукцией нейтрофилами метаболитов азота.

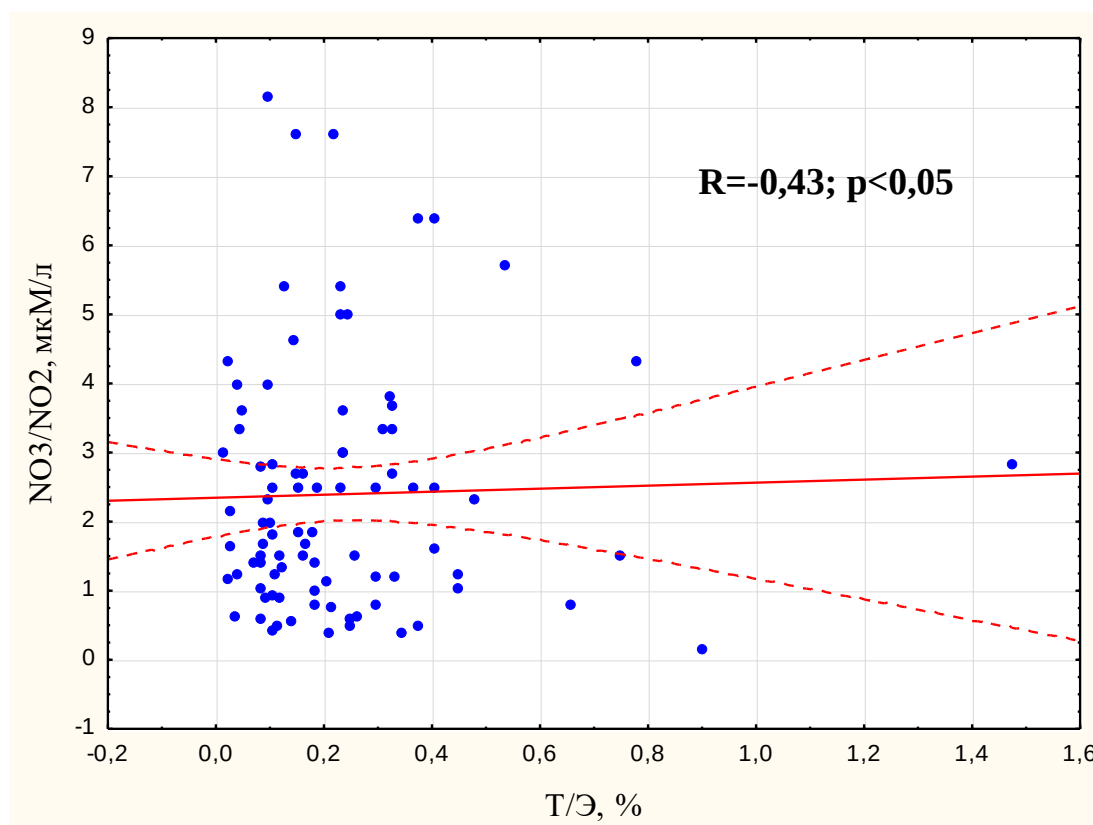


Рисунок 8 - Взаимосвязь показателей продукции метаболитов оксида азота нейтрофилами и коэффициента эстрогении у больных ССД

На рисунке 8 показана обратная умеренная взаимосвязь между продукцией метаболитов азота нейтрофилами и коэффициентом эстрогении у больных ССД.

Факторы активации нейтрофилов у больных системной красной волчанкой и системной склеродермией

Для определения совокупности признаков, позволяющих различить группы с различным уровнем функциональной активности нейтрофилов, использовали дискриминантный анализ, который осуществлялся в группах больных СКВ, ССД и группе контроля. Дискриминантный анализ проводился методом пошагового включения с учетом эффекта мультиколлинеарности. На каждом из этапов рассматривались все исследуемые переменные и находилась та из них, которая вносит наибольший вклад в различие между группами. Данная переменная включалась в модель и совершался переход к следующему шагу. Параметры

дискриминантного анализа по значимым дискриминирующим переменным для групп представлены в таблице 39.

Таблица 39 - Параметры дискриминантного анализа по значимым переменным

	Discriminant Function Analysis Summary No. of vars in model: 20; Grouping: сХЛлл (3 grps) Wilks' Lambda: ,06419 approx. F (40,120)=8,8413 p<0,0000					
	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (2,60)	p-value	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
Регоспитализация	0,065285	0,983178	0,51329	0,601128	0,737015	0,262985
СОЭ	0,064611	0,993433	0,19832	0,820641	0,579108	0,420892
аДНК	0,066189	0,969755	0,93566	0,397975	0,562422	0,437578
СРБ	0,134989	0,475496	33,09197	0,000000	0,664617	0,335383
ПТИ	0,064796	0,990595	0,28482	0,753159	0,802730	0,197270
гамма-глобулины	0,064770	0,990995	0,27262	0,762323	0,757191	0,242809
иХЛлл	0,102570	0,625784	17,93982	0,000001	0,614518	0,385482
сХЛлн	0,064293	0,998349	0,04961	0,951639	0,634888	0,365112
иХЛлн	0,082590	0,777170	8,60161	0,000519	0,493702	0,506298
КАХЛлл	0,070073	0,916000	2,75110	0,071922	0,670756	0,329244
КАХЛлн	0,079135	0,811106	6,98651	0,001872	0,587580	0,412420
лимфоциты	0,072008	0,891386	3,65547	0,031766	0,737556	0,262444
моноциты	0,083137	0,772061	8,85705	0,000426	0,637319	0,362681
калий	0,065770	0,975926	0,74003	0,481406	0,784151	0,215849
натрий	0,071928	0,892380	3,61796	0,032847	0,650394	0,349606
серомукоид	0,064443	0,996026	0,11969	0,887406	0,786162	0,213838
IgG	0,066805	0,960806	1,22380	0,301346	0,541111	0,458889
эстрадиол	0,065151	0,985194	0,45085	0,639224	0,714466	0,285534
Т/Э	0,072143	0,889712	3,71879	0,030025	0,676966	0,323034

В результате анализа была получена матрица общих дисперсий и ковариаций, а также матрица внутригрупповых дисперсий и ковариаций. Сравнив

эти две матрицы, с помощью многомерного F -критерия было установлено, что между группами существуют значимые различия с точки зрения анализа всех признаков. Кроме того, значения лямбды Уилкса (0,06419) приближается к нулю, что означает эффективное участие девяти использованных переменных в различении групп.

Для определения оптимальной комбинации переменных использовали канонический анализ, учитывая, что первая функция (совокупность переменных) проведет наилучшую дискриминацию между всеми группами, вторая функция будет второй наилучшей и т.д. Полученные функции оказались ортогональными, то есть их вклад в разделение совокупностей практически не перекрывался.

Для визуализации дискриминации функции между группами по результатам канонического анализа была построена диаграмма рассеяния значений дискриминирующих групп.

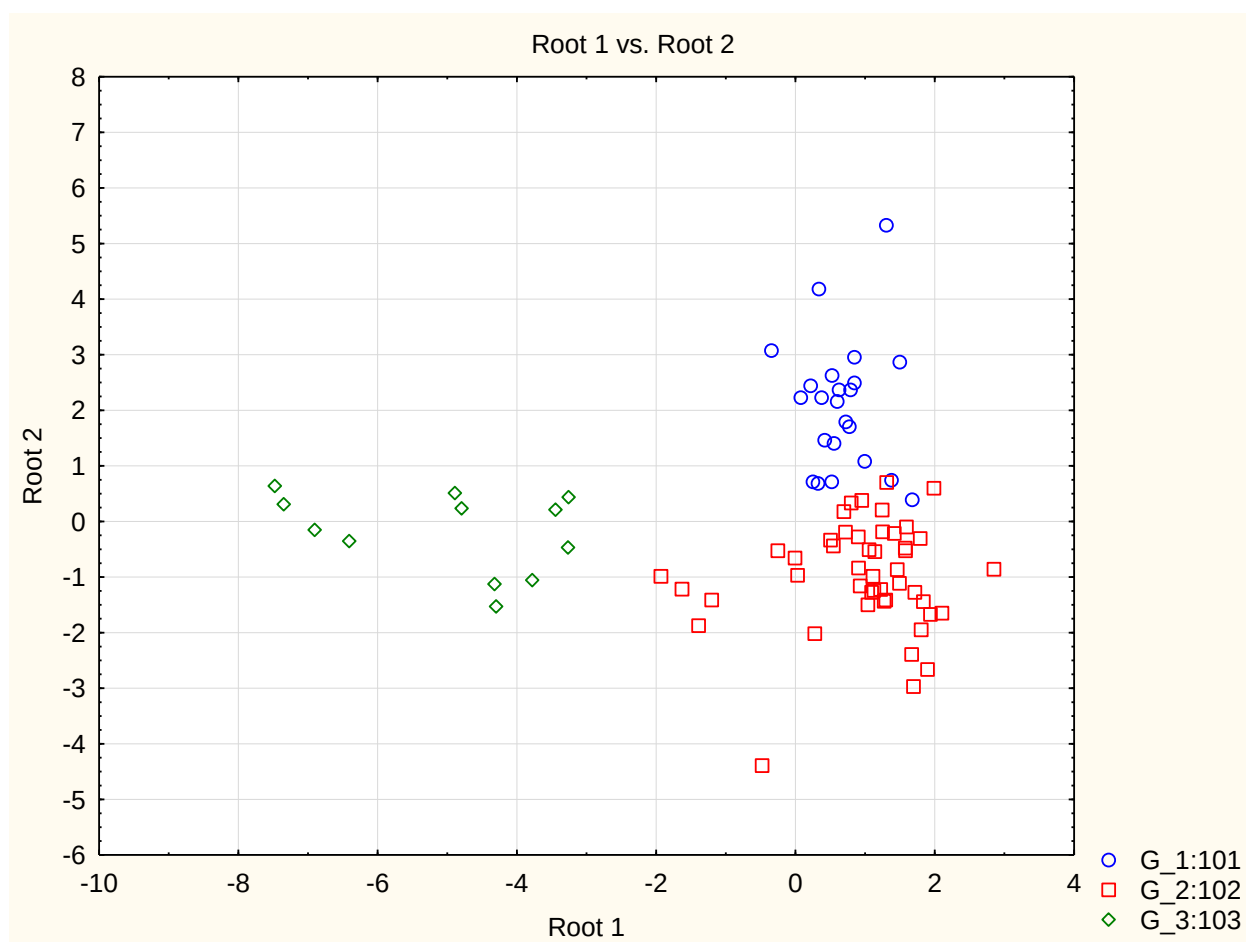


Рисунок 9 - Диаграмма рассеяния значений дискриминирующих групп

На рисунке показано отсутствие перемешивания между группами, образованными новыми совокупностями и более обособленное расположение случаев с различной активностью.

Затем в рамках дискриминантного анализа была проведена процедура классификации, позволившая решить задачу предсказания, к какой из групп по виду активности, наиболее вероятно, будет отнесен конкретный объект. Наблюдение считается принадлежащим той группе, для которой получен наивысший показатель классификации.

Результатом проведенной классификации является матрица функций классификации, содержащая число образцов, корректно классифицированных на диагонали матрицы. Оценка достоверности моделей проведена вычислением априорной вероятности и квадрата расстояния Махаланобиса.

Таким образом, можно утверждать, что вошедшие в модель переменные оказывают значимое влияние на факт активации.

Для ответа на вопрос об особенностях активации клеток в зависимости от того, к какой группе принадлежит конкретное наблюдение, проведен факторный анализ, позволяющий понять организацию связей между изучаемыми признаками. Факторный анализ, выполненный методом главных компонент, позволил определить относительно самостоятельное "сцепление" тесно связанных признаков (новый интегральный фактор), которое играет более существенную роль в становлении патологического процесса, чем отдельно взятый признак.

Уже на первом этапе оказалось, что ковариата «Диагноз» структурно неоднородна и возможность построения модели присуща лишь для групп СКВ и ССД. В каждой из этих групп выделено четыре и три значимых фактора, соответственно (рисунок 10).

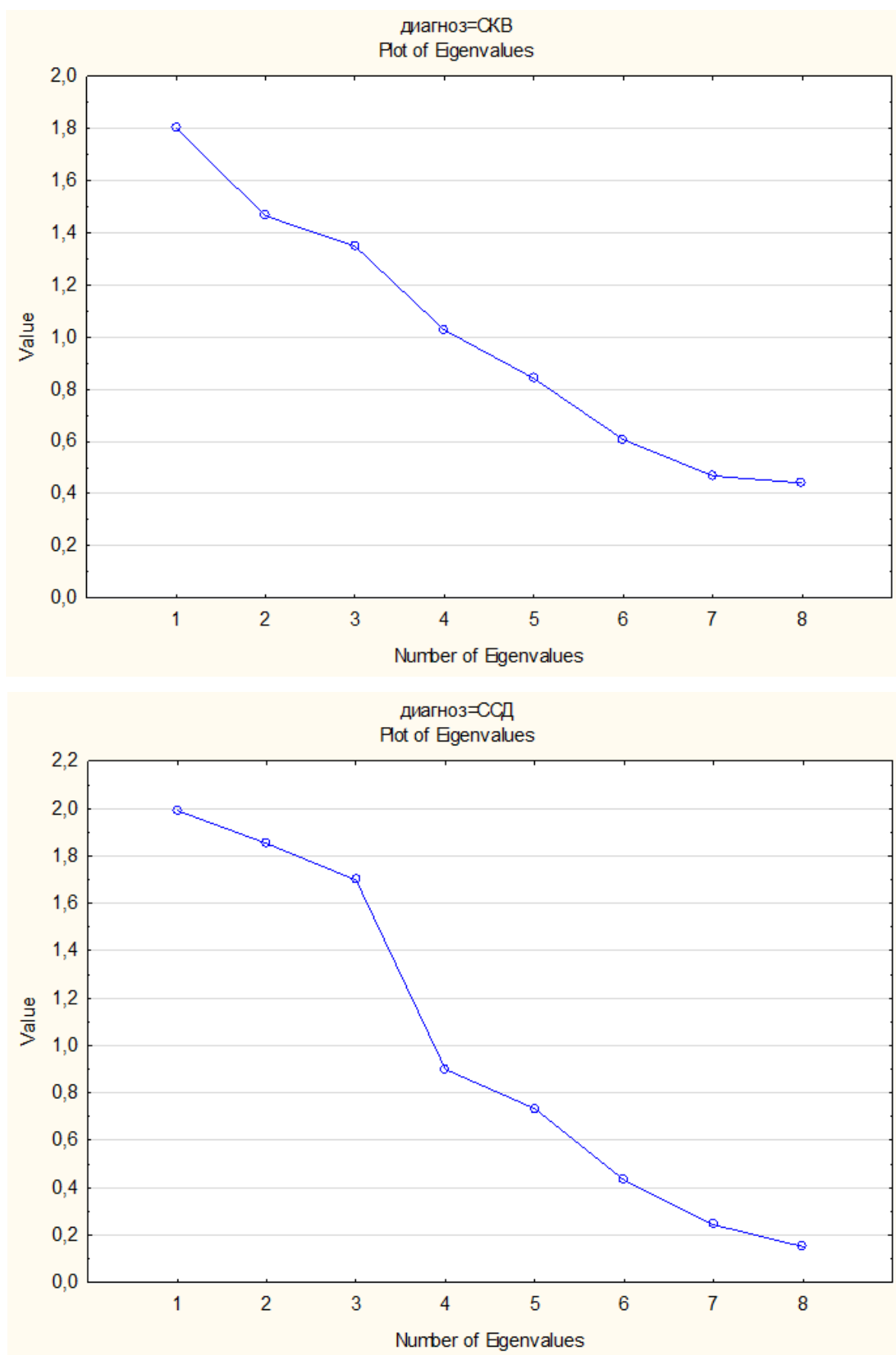


Рисунок 10 – Факторный анализ главных компонент

Факторные веса приведены в таблицах 40 и 41.

Таблица 40 - Факторные веса значимых переменных у больных СКВ

Value	диагноз=СКВ			
	Eigenvalues Extraction: Principal components			
	Eigenvalue	% Total variance	Cumulative Eigenvalue	Cumulative %
1	1,801830	22,52288	1,801830	22,52288
2	1,465098	18,31372	3,266928	40,83660
3	1,348452	16,85565	4,615380	57,69224
4	1,027489	12,84361	5,642869	70,53586

Таблица 41 - Факторные веса значимых переменных у больных ССД

Value	диагноз=ССД			
	Eigenvalues Extraction: Principal components			
	Eigenvalue	% Total variance	Cumulative Eigenvalue	Cumulative %
1	1,991352	24,89190	1,991352	24,89190
2	1,852460	23,15576	3,843813	48,04766
3	1,698195	21,22744	5,542008	69,27510

Совокупный уровень объясненной дисперсии в каждом случае находится на приемлемо высоком уровне.

Особенности каждой из групп подчеркивает специфика факторных нагрузок (таблицы 42 - 45).

Таблица 42 - Специфика факторных нагрузок (группа больных СКВ)

Variable	диагноз=СКВ Factor Loadings Extraction: Principal components (Marked loadings are >,700000)			
	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4
СРБ	-0,229192	0,799232	-0,117015	0,241009
иХЛЛл	-0,059590	0,548458	0,156886	-0,672995
иХЛЛн	0,724300	0,140432	-0,172820	-0,368496
КАХЛЛн	0,679534	-0,247810	-0,242143	-0,212925
лимфоциты	-0,735279	-0,310977	-0,238880	-0,266081
Т/Э	-0,291215	-0,315636	-0,719575	-0,248829
моноциты	0,218222	-0,452989	0,412160	0,160829
Expl.Var	1,801830	1,465098	1,348452	1,027489
Prp.Totl	0,225229	0,183137	0,168556	0,128436

Таблица 43 - Специфика факторных нагрузок (группа больных ССД)

Variable	диагноз=ССД Factor Loadings Extraction: Principal components (Marked loadings are >,700000)		
	Factor 1	Factor 2	Factor 3
СРБ	-0,712612	-0,386391	-0,320071
иХЛЛл	-0,447365	-0,057337	0,783836
иХЛЛн	-0,752844	-0,153614	-0,512155
КАХЛЛн	-0,196081	0,779914	-0,091261
Лимфоциты	0,699330	0,053008	-0,222430

Variable	диагноз=ССД Factor Loadings Extraction: Principal components (Marked loadings are >,700000)		
	Factor 1	Factor 2	Factor 3
Т/Э	-0,002299	-0,481494	0,747256
моноциты	0,426081	-0,561616	-0,248837
Expl.Var	1,991352	1,852460	1,698195
Prp.Totl	0,248919	0,231558	0,212274

Специфика факторных нагрузок несущественно меняется и по результатам вращения при нормализации варимакса, хотя наполнение факторов происходит более равномерно и лучше трактуется.

Таблица 44 - Специфика факторных нагрузок (Varimax normalized) при СКВ

Variable	диагноз=СКВ Factor Loadings (Varimax normalized) Extraction: Principal components (Marked loadings are >,700000)			
	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4
СРБ	0,254816	-0,800105	0,238107	0,035846
иХЛлл	-0,146959	-0,342982	0,024143	0,801296
иХЛлн	-0,818570	-0,062566	0,131278	0,137051
КАХЛлн	-0,749342	0,217335	-0,030276	-0,132220
лимф	0,434812	0,070039	-0,740652	0,150574
Т/Э	-0,107782	-0,092149	-0,847610	-0,159955
моноциты	0,018261	0,604146	0,259280	-0,126532

Variable	диагноз=СКВ Factor Loadings (Varimax normalized) Extraction: Principal components (Marked loadings are >,700000)			
	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4
Expl.Var	1,629192	1,441888	1,414069	1,157719
Prp.Totl	0,203649	0,180236	0,176759	0,144715

Таблица 45 - Специфика факторных нагрузок (Varimax normalized) при ССД

Variable	диагноз=ССД Factor Loadings (Varimax normalized) Extraction: Principal components (Marked loadings are >,700000)		
	Factor 1	Factor 2	Factor 3
СРБ	0,852920	0,170758	-0,054104
иХЛЛЛ	0,091750	-0,208141	-0,875260
иХЛЛН	0,907710	-0,031792	0,166512
КАХЛЛН	0,014612	-0,778915	0,219360
Т/Э	-0,179283	0,339983	-0,801562
Expl.Var	1,934939	1,864443	1,742626
Prp.Totl	0,241867	0,233055	0,217828

Учитывая вышеизложенное, следует констатировать, что активация нейтрофилов характерна только для больных СКВ и ССД. Наибольшее влияние на активацию клеток оказывают С-реактивный белок и половые гормоны (соотношение тестостерона и эстрадиола).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Аутоиммунные заболевания характеризуются продукцией аутоантител и активацией иммунных механизмов, способствующих деструкции тканей [79]. Системная красная волчанка и системная склеродермия, будучи типичными представителями системных заболеваний соединительной ткани, характеризуются выраженным прогрессирующим течением, частой и быстрой инвалидизацией и достаточно высокой летальностью [98, 159].

К настоящему времени проведено большое количество исследований, посвященных изучению механизмов развития СКВ и ССД. Доказана роль окислительного стресса в патогенезе ревматических заболеваний [112, 114, 127]. Установлено, что помимо Т- и В-лимфоцитов, активное участие в развитии патологического процесса принимают нейтрофилы. Новым направлением исследований при СКВ и ССД является изучение феномена функциональной неоднородности клеток, взаимосвязанного с характером течения заболевания [66, 123, 200].

В проведенном нами исследовании кислородзависимого метаболизма нейтрофилов выявлено наличие их функциональной неоднородности у больных СКВ и ССД.

В настоящее время неоспоримым является факт неоднородности нейтрофильных гранулоцитов как в морфологическом, так и в функциональном плане [169, 116]. Установлены некоторые факторы, влияющие на нейтрофилы и определяющие степень их метаболической активности, такие как ольфактомедин (OLFM4), CD177 [61].

Так, гликопротеин ольфактомедин участвует не только в подавлении роста опухолей, но и супрессирует активацию таких протеаз как катепсин С и G, нейтрофильную эластазу, то есть замедляет апоптотические и кислородзависимые реакции в нейтрофилах. Как было установлено, данный протеин содержится приблизительно только у 25% циркулирующих нейтрофилов [124].

Другой молекулой, экспрессия которой определяет подмножество нейтрофилов, является поверхностный гликопротеин CD177 (NB1). Функциональное значение CD177 было исследовано в контексте миграции нейтрофила. Экспрессия CD177 на нейтрофилах увеличена у пациентов с тяжелыми бактериальными инфекциями, в тоже время количество CD177-отрицательных нейтрофилов может увеличиваться при аутоиммунных заболеваниях. Продолжается изучение влияния молекул адгезии на уровень кислородзависимого метаболизма нейтрофилов [67].

В настоящем исследовании установлено, что у пациентов с СКВ преобладают нейтрофилы со средней функциональной активностью: 20% больных имели низкие показатели функциональной активности клеток; нейтрофилы 54% пациентов обладали средним уровнем кислородзависимого метаболизма, у 26% больных зарегистрированы высокие показатели биоцидности нейтрофильных гранулоцитов. У больных ССД в 43% случаев выявлен низкий показатель функциональной активности клеток, в 43% - средний и в 14% - высокий уровень кислородзависимого метаболизма нейтрофилов.

Таким образом, при обоих заболеваниях преобладает группа со средней функциональной активностью нейтрофилов. Данные литературы подтверждают, полученные в нашем исследовании данные: на фоне увеличения общего количества нейтрофилов при длительных хронических воспалительных процессах имеет место значимое снижение их фагоцитарной активности, аэробной и анаэробной бактерицидности, снижение уровня ИЛ-1 β и ИЛ-1Ra, а также ИФН- γ при повышении ФНО- α [1]. В тоже время, повышенная активность нейтрофильных гранулоцитов крови определяет сокращение времени реагирования на стимул и увеличивает готовность к реализации функциональных возможностей клеток, позволяя предположить, что преобладание пациентов с высоким уровнем кислородзависимого метаболизма нейтрофилов приведет к острому возникновению или обострению уже имеющегося заболевания [3].

В результате проведенного нами исследования обнаружено статистически значимое снижение потенциала образования супероксид-аниона у пациентов с

СКВ и низким уровнем функциональной активности нейтрофилов по данным иХЛн (0,1 (0,1-0,4)<0,3 (0,1-0,9), $p<0,05$).

Данное явление возможно связано с продукцией и активностью НАДФ-оксидазы. Одним из главных участников образования активных метаболитов кислорода в нейтрофилах является НАДФ-оксидаза. В мембране нейтрофила происходит сборка НАДФ-оксидазы, состоящей из мембранных и цитоплазматических компонентов. НАДФ-оксидаза катализирует восстановление молекулярного кислорода до супероксидного радикала, который затем превращается в пероксид водорода и другие токсичные формы кислорода, например, гидропероксидный и гидроксильный радикалы [143].

Установлено, что уровень продукции АФК напрямую зависит от активности НАДФ-оксидазы [94]. Уменьшение активности данного фермента приводит к снижению биоцидности нейтрофилов. Существуют четыре изоформы НАДФ-оксидазы, оказывающие положительное и отрицательное влияние в зависимости от количества и типа производимых активных форм кислорода. НАДФ-оксидаза регулирует внутриклеточное окислительно-восстановительное состояние и определяет возможность выживания или гибели клеток. Поколение «регулируемых» активных форм кислорода необходимо для протекания окислительно-восстановительных реакций внутри клетки, в то время как поколение «длительных» активных форм кислорода способствует их апоптозу [159].

НАДФН-оксидаза нейтрофилов состоит из пяти главных белков, собирающихся в клеточной мембране при стимуляции и определяющих оксидазную активность. В покое три из них (p47phox, p67phox, p40phox) находятся в цитоплазме клеток, два (gp91 и p22) — связаны с клеточными мембранами. Различные системы клеточных киназ — митоген-активированные протеинкиназы (МАРК) (p38, p42/47 [ERK 1/2]), протеинкиназы С (РКС), p21-активированная киназа (РАК), казеин-киназа, Akt (протеинкиназа В), киназа, активируемая фосфатидиловой кислотой участвуют в активации (фосфорилировании) p47phox. В зависимости от стимула они вступают в контакт

друг с другом и с другими факторами клеточного гомеостаза, например с Ca^{2+} -зависимыми каналами и с фосфатидилинозитолами (продукт фосфатидилинозитол-3-киназ [PI-3K]). Главная роль отводится РКС. В нейтрофилах присутствуют четыре изоформы РКС — α , β , δ и ζ , и все они в той или иной мере включаются в фосфорилирование p47phox [183]. Как уже обсуждалось ранее, существует приблизительно 25% нейтрофилов с угнетенной функцией протеинкиназы C.

При анализе группы больных СКВ с высоким функциональным потенциалом нейтрофильных гранулоцитов установлено, что у пациентов с длительностью заболевания менее 5 лет резерв продукции супероксид-аниона выше, чем в группе с длительностью заболевания более 5 лет, по данным КАХЛлн $0,75 (0,5-1,0) > 0,4 (0,08-0,7)$, $p < 0,05$.

В начале воспаления пул циркулирующих нейтрофилов увеличивается, что представляет собой реакцию на действие антигена. Аутоиммунное поражение, характеризующееся гиперпродукцией широкого спектра органоспецифических аутоантител к различным компонентам ядра и иммунных комплексов, вызывает иммуновоспалительное повреждение тканей и нарушение функции внутренних органов [51]. При длительном течении заболевания естественный иммунитет организма истощается, что приводит к снижению образования клеток, участвующих в воспалении и уменьшению их активности.

Можно предположить, что при длительном течении заболевания, а также высокой функциональной активности клеток в дебюте заболевания происходит истощение функциональных возможностей нейтрофилов и накопление так называемых «старых» нейтрофилов.

Напротив, при сравнении показателей нейтрофилов пациентов с СКВ со средней функциональной активностью было обнаружено статистически значимое повышение уровня супероксидного анион радикала по данным сХЛлн $(2,4 (1,0-4,9) > 0,55 (0,2-1,1))$, при $p < 0,05$ и увеличение потенциала образования супероксид-аниона по данным иХЛлн $(1,0 (1,0-1,0) > 0,3 (0,1-0,9))$, при $p < 0,05$ в группе пациентов с длительностью заболевания более 5 лет, в сравнение с контрольными

показателями. Полученные результаты свидетельствуют о том, что клетки «работающие» в стабильных условиях, способны сохранить свою активность в течение более длительного периода [43]. Вероятно, при более детальном исследовании механизмов продукции АФК нейтрофилами могут быть выявлены аналогичные взаимосвязи.

Кроме того, у пациентов со средней ФА нейтрофилов в обеих группах - с длительностью заболевания менее 5 лет и более 5 лет, отмечается снижение концентрации метаболитов оксида азота в крови по сравнению с контролем NO_3/NO_2 1,25 (0,9-2,3)<3,6 (3,3-4,1), при $p<0,05$ и NO_3/NO_2 1,5 (0,9-2,3)<3,6 (3,3-4,1), при $p<0,05$, соответственно.

Изменение уровня метаболитов NO (нитратов/нитритов) в биологических жидкостях отмечены при многих заболеваниях, в том числе при СКВ и ССД. Высокая концентрация нитратов в плазме крови по механизму обратной связи угнетает продукцию эндогенного NO клетками периферической крови [103]. Кроме того, в нашем исследовании снижение уровня метаболитов оксида азота было ассоциировано с повышением концентрации и потенциала образования супероксидного радикала. Имеются данные, что супероксидный анион-радикал тормозит экспрессию и активность eNOS и способен связывать и инактивировать NO, что ограничивает его распространение и способствует снижению концентрации оксида азота [110].

При сравнении показателей кислородзависимого метаболизма нейтрофилов при подостром течение заболевания регистрировалось достоверное повышение уровня продукции супероксидного аниона (по данным сХЛн 1,45 (0,55-2,5)>0,3 (0,2-0,5), при $p<0,05$) и потенциала продукции супероксидного аниона (по данным иХЛн 1,0 (0,65-1,0)>0,1 (0,1-0,1), при $p<0,05$) у пациентов со средней степенью кислородзависимого метаболизма в сравнении с низким уровнем. При этом степень продукции супероксидного аниона так же была достоверно выше у пациентов с высокой функциональной активностью, по данным сХЛн 1,6 (1,6-1,6)>0,3 (0,2-0,5); $p<0,05$.

При подостром течении наблюдаются постепенное начало, более поздняя генерализация, волнообразность с развитием ремиссий и более благоприятным прогнозом. При каждом обострении в патологический процесс вовлекаются другие органы и системы, в результате в течение 2 - 3 лет развивается характерная полисиндромность с частым развитием люпус-нефрита и энцефалита. Имеются данные о статистически значимых различиях в количестве лимфоцитов различных фенотипов у больных с острым, подострым и хроническим течением СКВ. Данные различия затрагивали CD4 лимфоциты, содержание которых было наименьшим при остром течении СКВ, а также содержание в крови ИЛ-6, снижающегося при подостром течении и ассоциированного с повышением уровня ИЛ-8. На настоящий момент в литературе отсутствуют данные о характере изменения функциональной активности нейтрофилов в зависимости от течения заболевания, что требует дальнейших исследований в этом направлении [45].

При хроническом течении заболевания в группе пациентов СКВ с низкой функциональной активностью нейтрофилов имеется статистически значимое снижение потенциала образования супероксидного анион-радикала по данным иХЛлн в сравнении с группой контроля $0,1 (0,1-0,8) < 0,3 (0,1-0,9)$, $p < 0,05$).

Снижение потенциала образования супероксидного анион-радикала в группе больных с низкой функциональной активностью нейтрофилов, вероятно, свидетельствует о том, что система фагоцитоза работает на пределе своих возможностей [175]. С учетом того, что нейтрофилы этой группы изначально демонстрируют низкую степень биоцидности, можно предположить, что при длительном течении заболевания произойдет их функциональное истощение.

При внутригрупповом статистическом сравнении нейтрофилы больных СКВ с хроническим течением заболевания и средним уровнем кислородзависимого метаболизма демонстрируют повышение степени продукции супероксидного аниона по данным сХЛлн $1,45 (0,6-2,5) > 0,3 (0,2-0,5)$, при $p < 0,05$ и потенциала продукции супероксидного аниона по данным иХЛлн $1,0 (0,7-1,0) > 0,1 (0,1-0,1)$, при $p < 0,05$, а также снижение количества метаболитов азота (NO_3/NO_2

1,45 (0,9-2,4) < 5,0 (2,8-5,4), при $p < 0,05$ в сравнении с показателями группы с низкой функциональной активностью.

Нейтрофилы со средней активностью представляют собой наиболее стабильные в функциональном отношении клетки, способные длительное время не снижать свой флогогенный потенциал. При длительном течении заболевания полиморфно-ядерные лейкоциты реагируют не только на возбудителей болезней, но и на иммунные комплексы, которые образуются при хронических воспалительных процессах. Тогда нейтрофилы "ошибочно" выделяют также антибактериальные вещества, в том числе протеиназу-3 и эластазу, которые стимулируют аутоиммунные воспалительные реакции [158]. Повышение потенциала образования супероксидного анион-радикала может быть связано с явлениями формирования феномена «замкнутого круга». В тоже время при длительно текущем воспалительном процессе снижается способность нейтрофилов к синтезу миелопероксидазы, запускающей образование активных форм кислорода. Снижение образования метаболитов оксида азота может быть связано с повышенной продукцией супероксидного аниона, обладающего супрессивным действием на синтез eNOS. Увеличение поколения O_2 может вызвать формирование eNOS, способствующее окислительным процессам [86].

Группа с высокой функциональной активностью клеток в статистический анализ не включалась ввиду ее малочисленности. Отсутствие таких пациентов свидетельствует о корректности проведенных лабораторных исследований: преобладание нейтрофилов с высоким уровнем метаболизма указывает, в большинстве случаев, на обострение патологического процесса.

При анализе группы пациентов, страдающих системной склеродермией, были выявлены следующие закономерности. У больных ССД с низким уровнем функциональной активности нейтрофилов наблюдалось значительное увеличение резервного потенциала клеток (КАХЛл) в сравнении с показателями контроля (7,3 (1,2-17,7) > 1,06 (0,74-2,25), $p < 0,05$), ассоциированное с уменьшением содержания метаболитов оксида азота. Кроме того, в группах наблюдения определялась статистически значимая дифференциация показателей,

характеризующих продукцию свободных форм кислорода, а также резерва продукции супероксид-аниона.

Повышение резерва и продукции АФК напрямую связано с патогенезом ССД. Хотя механизмы развития склеродермии до конца не изучены, известно, что окислительный стресс играет в этих процессах важную роль [166]. АФК могут оказывать различные эффекты, например, повреждение эндотелиальных клеток или усиленную активацию тромбоцитов, приводящую к повышенной секреции молекул адгезии или секреции воспалительных и профиброгенных цитокинов, таких, как TGF- β . При этом синтез АФК является одним из основных процессов в патогенезе склеродермии [167]. Другие эффекты свободных радикалов кислорода, в том числе повышенный синтез коллагена и стимуляция в низких концентрациях пролиферации фибробластов кожи, позволяют предположить, что АФК способствуют профибротическим свойствам фибробластов при склеродермии. В тоже время нарушение процессов коллагеннообразования, в результате повреждения механизмов апоптоза фибробластов, запускает дальнейшее выделение иммунокомпетентными клетками активных форм кислорода [72]. При этом в фибробластах происходит снижение эффективности антиоксидантной защиты, что также приводит к активации каскада продукции АФК [58, 152].

У пациентов со средним уровнем функциональной активности нейтрофилов в группе с длительностью заболевания более 5 лет регистрируется более высокий потенциал выработки супероксидного анион радикала в сравнении с пациентами с длительностью заболевания менее 5 лет по данным χ^2 1,9 (1,0-3,2) > 0,2 (0,1-0,5) при $p < 0,05$.

Известно, что при длительном течении заболевания у пациентов со склеродермией возрастает риск поражения легких [93]. Основными участниками в патогенезе легочного фиброза являются нейтрофильная эластаза и АФК. Окислительный стресс является признанным фактором риска повреждения белковых и липидных структур клеток [39]. Логично предположить, что повреждение мембран, вызванное продуктами перекисидации, обуславливает повышение уровня нейтрофильной эластазы в легких и крови и способствует

дальнейшему развитию воспалительно-деструктивных изменений в легких [38]. Нейтрофильная эластаза вызывает повышение матричной металлопротеиназы, которая, в свою очередь, способствует высвобождению ФНО- α макрофагами, что приводит к рекрутированию нейтрофилов и выработке ими нейтрофильной эластазы, а также усиливает процессы апоптоза и продукции АФК [18]. Таким образом, замыкается «порочный круг», дальнейшие исследования должны быть направлены на уточнение механизма данных процессов и поиск методов лечения.

При сравнении нейтрофилов пациентов с подострым течением заболевания с разной степенью функциональной активности с группой контроля достоверных различий не установлено. В то же время, обращает на себя внимание отсутствие пациентов, нейтрофилы которых демонстрируют высокую функциональную активность. Гипотетически, развитие острой ССД может сопровождаться появлением нейтрофилов с высокой функциональной активностью.

При хроническом течении заболевания пациенты с низким уровнем кислородзависимого метаболизма нейтрофилов обладают более высоким резервом продукции АФК в сравнении с контрольными показателями по данным КАХЛлл $9,0 (3,0-11,0) > 1,69 (0,9-3,3)$, при $p < 0,05$. У больных со средней функциональной активностью регистрируется увеличение продукции супероксидного аниона по данным сХЛлн $1,6 (0,7-2,1) > 0,55 (0,2-1,1)$, при $p < 0,05$.

При внутригрупповом сравнении наблюдается динамика постепенного повышения продукции супероксидного аниона от группы с низкой функциональной активностью к высокой. В группе с высокой биоцидностью нейтрофилов наблюдается снижение резерва образования АФК, в том числе супероксидного аниона в сравнении с показателями группы с низкой функциональной активностью по данным КАХЛлл $0,53 (0,1-1,0) < 9,0 (3,0-11,0)$, при $p < 0,05$ и КАХЛлн $0,17 (0,04-0,4) < 2,7 (0,5-7,8)$, при $p < 0,05$.

До настоящего момента точные механизмы, приводящие к эндотелиальному повреждению, воспалению и последующему развитию фиброза при ССД неясны. АФК, продуцируемые нейтрофилами, могут быть вовлечены в эндотелиальное повреждение и увеличить интенсивность воспалительного процесса и фиброза.

Эндотелиальные клетки микросудов несовершенны в синтезе каталазы, которая обеспечивает естественную защиту против окислительного повреждения [176]. Помимо каталазы существуют и другие активные молекулы, участвующие в противовоспалительной защите. Одним из таких веществ является аденозин.

Аденозин - важный эндогенный регулятор функционирования нейтрофила. Аденозин вырабатывается внутриклеточно и модулирует деятельность нейтрофила, взаимодействуя с определенными поверхностными рецепторами. Выделено 4 подтипа A1, A2A, A2B и A3 аденозиновых рецепторов. Низкие концентрации аденозина активируют A1 аденозиновый рецептор, который усиливает хемотаксис, фагоцитоз и адгезию нейтрофилов, а высокие концентрации – через взаимодействие с A2A и A2B рецепторы угнетают скопление нейтрофилов, продукцию АФК и медиаторов воспаления [91, 199]. Аденозин через активацию A2B рецептора ингибирует выделение эндотелиального фактора роста из нейтрофила. Поскольку активация аденозиновых рецепторов уменьшает и аутоиммунные и воспалительные реакции, предполагается, что увеличение выделение аденозина из нейтрофилов является возможным самозащитным механизмом клетки от активированных нейтрофилов [176].

Таким образом, низкие дозы аденозина потенцируют воспаление, а высокие концентрации эндогенного аденозина обладают противовоспалительным эффектом [6].

Известно, что при хроническом течении ССД плотность A2A и A2B рецепторов снижается, что приводит к потере контроля над функцией нейтрофила и соответственно неконтролируемому респираторному взрыву [90]. Исходя из полученных нами данных, можно предположить, что нейтрофилы с высокой ФА обладают наименьшей плотностью рецепторов к аденозину на своей поверхности.

Снижение резерва продукции АФК в группе с высокой ФА нейтрофилов, более активно, чем в группе с низким уровнем кислородзависимого метаболизма, продуцирующих супероксид-анион, вероятно, связано с истощением механизмов образования активных метаболитов кислорода.

Установлено, что иммунная реактивность более выражена у женщин, чем у мужчин, с чем связана более высокая распространенность аутоиммунных заболеваний среди женщин. Во многом это обусловлено эффектами половых гормонов, которые влияют на возникновение и тяжесть иммунноопосредованных патологических состояний посредством модуляции деятельности клеток. При этом механизмы действия половых гормонов на функциональную активность нейтрофилов до конца не выяснены.

Известно, что влияние стероидных гормонов опосредовано через суперсемейство ядерных рецепторов, расположенных на мембранах клеток. Влияние эстрогена реализуется через рецепторы двух типов: ER- α (ESR1) и ER- β (ESR-2), андрогенов – через AR рецептор [133].

В настоящем исследовании у больных СКВ и ССД обнаружено статистически значимое повышение уровня эстрадиола в сыворотке крови в сравнении с показателями группы контроля (285,0 (117,0-365,0)>115,0 (30,0-200,0), $p=0,004$) и 131,5 (94,5-164,2)>115,0 (30,0-200,0), $p<0,05$.

В многочисленных исследованиях было показано, что эстрогены принимают активное участие в развитии СКВ. Так, на фоне проведения заместительной гормональной терапии после беременности и родов значительно увеличивается риск развития СКВ [195].

Эстрогены способствуют гиперактивации клеток с увеличением продукции цитокинов и стимулируют иммунитет. Имеется предположение о том, что высокий уровень эстрадиола усиливает продукцию ИЛ-4 и подавляет продукцию ИЛ-2 [195, 52]. Взаимодействие между ФНО, ИНФ- γ , E2, и ИНФ- α может регулировать экспрессию ИФН-индуцируемых генов. E2 активирует шесть путей, которые контролируют функцию клеток, включая путь активации ИФН- α [133]. Также имеются данные о том, что эстрогены способны задерживать вход кальция в нейтрофилы, что способствует снижению их функциональной активности [89].

В настоящее время установлено, что повышение уровня эстрогенов в крови больных аутоиммунными заболеваниями, в том числе СКВ связано с ускоренным метаболизмом половых гормонов, а именно — усиленная конверсия андрогенов в

эстрогены. Синтез эстрогенов осуществляется путем преобразования гормонов-предшественников, в том числе ДНЕА, тестостерона и прогестерона под влиянием ферментов ароматаз. Многочисленными исследованиями доказано, что провоспалительные цитокины (ФНО- α , ИЛ-1, ИЛ-6), способны значительно увеличивать активность ароматаз в периферических тканях. Таким образом, индуцированная провоспалительными цитокинами высокая ароматазная активность объясняет гормональный дисбаланс (снижение уровня андрогенов и увеличение — эстрогенов). По данным Фоломеева М. Ю., «у пациентов с СКВ повышенная активность ароматаз, обнаруженная в коже и подкожной клетчатке, заметно отличалась от этого показателя в группе контроля [91]. Среди больных СКВ ароматазная активность всегда соотносится с активностью заболевания, а пациенты имеют сниженный уровень андрогенов и повышенный уровень эстрогенов» [32].

Повышение концентрации эстрадиола у пациентов с ССД может носить компенсаторный характер. Известно, что аномальная функция фибробластов кожи больных ССД и дефектность их мембранной рецепции, проявляется увеличением скорости транспорта Ca^{2+} через клеточную мембрану, нарушением внутриклеточного содержания циклических нуклеотидов (снижение цАМФ и повышение цГМФ), уменьшением чувствительности клеток к эстрадиолу, пониженной или парадоксальной реакцией на катехоламины. Снижение чувствительности клеток к эстрадиолу может по механизму обратной связи запускать усиленный синтез эстрогенов. Указанные нарушения свидетельствуют о выходе фибробластов из-под гуморального контроля и приобретении ими относительной автономии, что ведет к прогрессированию фиброза.

В группе больных ССД обнаружено достоверное снижение уровня эстрогенов при длительности заболевания более 5 лет ($0,19 (0,1-0,33) > 0,27 (0,23-0,32)$, $p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой.

Ранняя ССД характеризуется активным формированием основного клинического симптомокомплекса и сопровождается высокой иммунологической активностью, характерными сосудистыми изменениями и частыми обострениями

заболевания [4]. Хотя патогенез склеродермии до конца не изучен, очевидно, что эстрогены принимают активное участие в нарушении дифференцировки и созревании фибробластов, а, следовательно, изменении процесса коллагеннообразования. Снижение уровня эстрогенов, возможно, связано с адаптацией фибробластов и истощением гормонпродуцирующей функции. Для понимания причин повышения уровня эстрогенов при длительности заболевания более 5 лет необходимы дальнейшие исследования. В норме с возрастом уровень половых гормонов постепенно снижается, причем у женщин индекс эстрогенов смещается в сторону андрогенов, в том числе тестостерона [165].

Во всех группах больных СКВ в сравнении с группой контроля обнаруживалось достоверное повышение уровня эстрадиола в сравнении с контрольными показателями: при длительности менее 5 лет эстрадиол 293,0 (119,0-398,0) > 115,0 (30,0-200,0), при $p < 0,05$; при длительности более 5 лет 159,0 (117,0-346,0) > 115,0 (30,0-200,0), при $p < 0,05$. Увеличение концентрации эстрадиола сопровождалось снижением уровня эстрогенов в обеих группах: 0,18 (0,08-0,24) > 0,27 (0,23-0,32), при $p < 0,05$ у пациентов, страдающих СКВ менее 5 лет и 0,13 (0,08-0,19) > 0,27 (0,23-0,32), при $p < 0,05$ с продолжительностью более 5 лет.

Как уже отмечалось выше, у пациентов с СКВ на фоне аутоиммунного процесса увеличивается активность эндогенных ароматаз, способствующих конверсии андрогенов в эстрогены. Показано, что провоспалительные цитокины (ФНО- α , ИЛ-1, ИЛ-6) способны увеличивать активность ароматаз.

Больные СКВ с подострым течением заболевания демонстрируют достоверно более высокий уровень содержания эстрадиола в крови по сравнению с группой контроля (290,0 (125,0-412,0) > 115,0 (30,0-200,0), $p < 0,05$). Отмечается достоверное снижение уровня эстрогенов в группах СКВ с подострым и хроническим течением заболевания при сравнении с показателем контрольной группы (0,17 (0,1-0,24) < 0,27 (0,23-0,33), $p = 0,0006$ и 0,11 (0,07-0,18) < 0,27 (0,23-0,33), $p = 0,018$, соответственно).

Как было отмечено ранее, увеличение уровня эстрогенов является значимым фактором в развитии СКВ [56]. Основываясь на полученных

результатах, можно предположить, что повышение уровня эстрадиола сохраняется на протяжении всего заболевания, а, значит, коррекция гормонального фона у пациенток с СКВ должна осуществляться на всех этапах лечения.

У пациентов, страдающих СКВ, обнаружена прямая корреляционная взаимосвязь между концентрацией эстрадиола в сыворотке крови и уровнем кислородзависимого метаболизма нейтрофилов ($R=0,3$, $p<0,05$) и прямая корреляция между степенью функциональной активности нейтрофилов и уровнем тестостерона в сыворотке крови ($R=0,29$, $p<0,05$). У больных СКВ с высокой функциональной активностью нейтрофилов выявлена прямая корреляционная зависимость между концентрацией тестостерона и резервом продукции супероксидного анион-радикала ($R=0,68$, $p=0,009$). В группе пациентов со средней функциональной активностью клеток установлено наличие обратной корреляционной взаимосвязи между уровнем эстрадиола в сыворотке крови и резервом продукции супероксидного анион-радикала ($R=-0,38$, $p=0,04$).

Существует небольшое количество исследований влияния половых гормонов, в частности тестостерона на функциональную активность нейтрофилов. Данные этих исследований противоречивы. Тестостерон является стероидным гормоном, обладающим разносторонним регулирующим действием на организм, в том числе, влиянием на клеточный и гуморальный ответ иммунной системы. [12]. Известно, что даже непродолжительное стрессорное воздействие, при котором возрастает уровень стероидных гормонов, вызывает увеличение числа лейкоцитов в периферической крови экспериментальных животных. Имеется незначительное количество исследований, посвященных изучению взаимосвязи инфраниантных ритмов стероидных гормонов и колебаний числа нейтрофилов, самых многочисленных представителей лейкоцитов в периферической крови. В то же время, такие сведения важны при разработке хронобиологических подходов к диагностике и лечению ряда заболеваний [21, 30]. Эти данные подтверждаются результатами исследований на лабораторных животных, у которых после кастрации снижалась степень активности нейтрофилов [89]. С другой стороны, в

экспериментах на лабораторных мышах было показано снижение степени фагоцитоза нейтрофилов при введении тестостерона [180].

У пациентов, страдающих ССД, обнаружена прямая корреляционная взаимосвязь между резервом продукции активных форм кислорода и концентрацией тестостерона в крови ($R=0,45$, $p<0,05$).

Тестостерон непосредственно регулирует продукцию АФК посредством НАДФ-оксидазы [78], однако механизмы воздействия тестостерона на НАДФ требуют дальнейших исследований. Эффекты тестостерона на развитие воспалительного процесса до конца не изучены: этот стероидный гормон обладает про- [190] и противовоспалительным [92] действием. Кроме того, неизвестно, может ли активированное тестостероном поколение АФК далее участвовать в воспалительных процессах. В дальнейших исследованиях подтверждено, что тестостерон вызывает миграцию лейкоцитов, увеличивая активность НАДФ-оксидазы, посредником в миграции лейкоцитов выступает ЦОГ (циклооксигеназа); ЦОГ требуется для активации НАДФ-оксидазы тестостероном [78].

При проведении дискриминантного анализа было установлено, что наибольшее влияние на активацию клеток оказывают С-реактивный белок и половые гормоны (соотношение тестостерона и эстрадиола).

Основываясь на результатах, полученных в настоящем исследовании, ниже предлагается возможная схема взаимосвязи между функциональной активностью нейтрофилов, половыми гормонами и наиболее значимыми клинико-лабораторными проявлениями СКВ и ССД (рисунок 11).

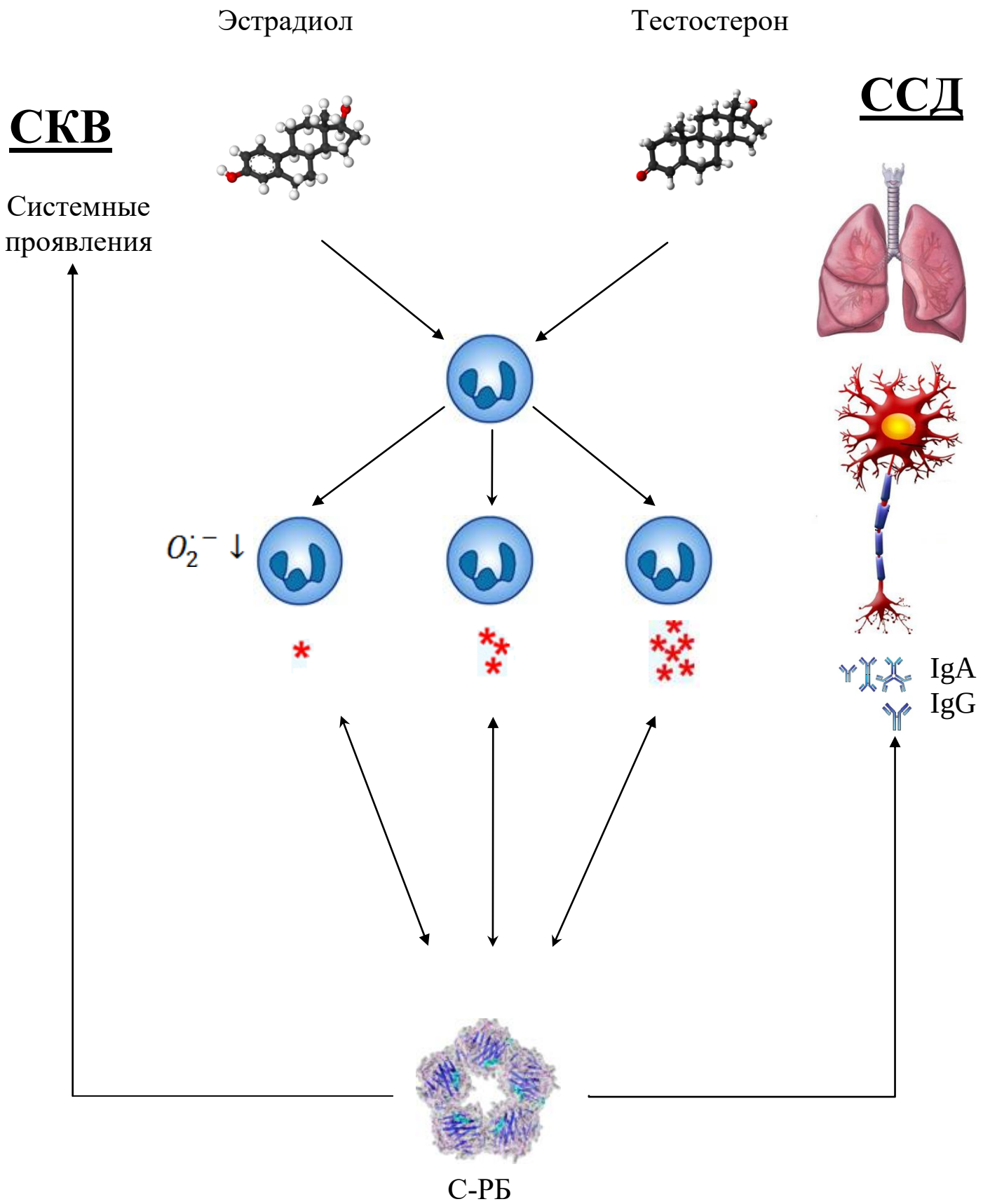


Рисунок 11 - Схема взаимосвязи между функциональной активностью нейтрофилов, половыми гормонами и наиболее значимыми клинико-лабораторными проявлениями СКВ и ССД

Как видно из данных рисунка 11 функциональные изменения нейтрофилов могут приводить к развитию патологических процессов. [187].

Свободные радикалы кислорода, продуцируемые полиморфноядерными нейтрофилами, инициируют воспалительный процесс, связанный с выделением пептидных факторов роста, молекул адгезии и противовоспалительных цитокинов. Повышенная продукция АФК характерная для СКВ активирует нуклеарный фактор и транскрипционный фактор (AP-1), вызывая тем самым циклооксигеназную экспрессию и перепрограммирование макрофагов, что приводит к индукции апоптоза нейтрофилов. Роль вторичных передающих элементов в данном случае выполняют активные формы кислорода. Они активируют NF-каппа В, регулирующий спектр генов, связанных с воспалительным ответом. Известно, что нейтрофилы связывают адаптивный и врожденный иммунитет. Для адаптивного иммунитета характерно возникновение антинуклеосомальных антител и развитием ауто толерантности, присущей СКВ. Получены данные о важной роли нейтрофильных гранулоцитов наравне с Т-и В-клетками в развитии системного воспаления, в том числе и при появлении тканевых повреждений [13].

В настоящее время интересен вопрос взаимосвязи между аутоиммунитетом и нейроэндокринной регуляцией, в частности половыми гормонами. Данные эпидемиологических исследований показывают, что женщины в репродуктивном возрасте в сравнении с мужчинами более подвержены аутоиммунным заболеваниям. Наиболее ярко половой диморфизм прослеживается на примере системной красной волчанки, так отношение числа женщин и к числу мужчин при СКВ в среднем составляет 9:1, по некоторым данным — 15:1 в период от наступления половой зрелости до менопаузы [32]. Значительную роль в ответе иммунной системы играют половые гормоны: эстрогены выступают как иммуномодуляторы, а андрогены — как иммуносупрессоры. Эстрогены в физиологических концентрациях приводят к повышению продукции Th1-цитокинов (ФНО-α, ИЛ-1, -6, -12), а в фармакологических концентрациях оказывают противоположный эффект. Эстрогены также повышают продукцию

антител активированными В-клетками. Низкие концентрации андрогенов гонад и надпочечников (тестостерона, дигидротестостерона, DHEA и DHEAS), как и снижение соотношения андрогены/эстрогены, обнаружены в сыворотке крови и в других жидкостных структурах организма (синовиальная жидкость, слюна) мужчин и женщин с СКВ [81]. Следует учитывать, что уровень эстрогенов меняется под влиянием различных физиологических, патологических и терапевтических воздействий: менструальный цикл, беременность, послеродовой период, менопауза, старение, хронический стресс, эффект воспалительных цитокинов, использование ГК, оральных контрацептивов и заместительной гормональной терапии [32]. Эстроген взаимодействует с нейтрофилами посредством эстрогенового рецептора, находящегося на мембране и в цитоплазме клеток в неактивном состоянии. Попад внутрь клетки эстроген, контактируя со своим рецептором, способен увеличивать фагоцитарную активность нейтрофилов, в тоже время, снижая уровень внутриклеточного кислородного метаболизма и способность нейтрофилов участвовать в образовании внутриклеточных нейтрофильных ловушек. Эстроген способен снижать активность миелопероксидазы, что так же приводит к снижению окислительного потенциала нейтрофильных гранулоцитов.

Как известно, высокая или резко увеличившаяся концентрация С-реактивного белка в крови может указывать на тот факт, что у пациента наблюдается острая инфекция или воспалительный процесс. Исследования последних лет убедительно доказали, что концентрация СРБ повышается не только при инфекционно-воспалительных заболеваниях, но и при различных аутоиммунных заболеваниях. СРБ участвует в связывании клеток, подвергшихся апоптозу и их дальнейшей элиминации, кроме того, СРБ может связывать антигены и предотвращать тем самым аутоиммунизацию организма. Так же доказано, что СРБ активно участвует в синтезе как провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1), так и противовоспалительных цитокинов (антагонист рецептора ИЛ-1, ИЛ-10) [175].

В настоящее время до конца неясен механизм повреждения периферических нервов при диффузных болезнях соединительной ткани (ДБСТ). Основным фактором традиционно называется ишемия, связанная с васкулитом или васкулопатией с вовлечением *vasa nervorum*. Помимо ишемии, в развитии полинейропатии при ДБСТ обсуждается участие аутоиммунных механизмов. В экспериментальных работах доказано участие нейротрофических факторов, в частности, фактора роста нервов (ФРН), не только в процессах дифференцировки и поддержании выживаемости клеток периферической и центральной нервной системы, но и в функционировании иммунной системы. Обсуждается патогенетическое значение антител к ФРН (аФРН) в связи с обнаружением повышенного их количества не только при психических и неврологических заболеваниях, но и при аутоиммунных болезнях [1].

Аутоиммунные процессы осуществляют информационный обмен между нейроэндокринной и иммунной системами, при этом главную роль играют аутоантитела к гормонам, медиаторам и их рецепторам. Продемонстрирован синтез нейропептидов в иммунокомпетентных клетках, а в клетках нейроэндокринной системы доказана возможность синтеза лимфокинов и монокинов. Потенциальными мишенями для аутоиммунной агрессии могут быть различные антигены нервной ткани, включая миелин, в том числе ассоциированный с гликопротеином, и его основной белок, ганглиозиды, белок ядер нейрональных клеток и другие [54]. Установлено, что в повреждении миелина важную роль играет нейтрофильная эластаза, которая расщепляет пептидные связи остатков лейцина со стороны аминогруппы и гидролизует, главным образом, фибриноген, фибронектин, иммуноглобулины класса G и основной белок миелина. С меньшей скоростью гидролизуются эластин, так как в этом белке много остатков валина, аланина и глицина, но мало остатков лейцина [7].

Теория оксидативного стресса объясняет развитие полинейропатии с позиций нарушений обмена оксида азота, который изменяет калий-натриевые механизмы, лежащие в основе формирования возбуждения и проведения

импульса по нерву [3]. Окислительный стресс запускает определенный "метаболический каскад", то есть совокупность взаимосвязанных патологических реакций, необратимо повреждающих клетку. Убедительно показано, что на фоне разворачивающегося окислительного стресса в механизмах гибели нейронов при различных заболеваниях начинают играть дополнительную роль нарушения митохондрий - "энергетических станций" клетки, избыточный поток ионов кальция внутрь клетки в результате гиперстимуляции рецепторов возбуждающим нейромедиатором глутаматом, а также недостаточность факторов роста нервных клеток - особых пептидов с модулирующими свойствами. Все эти нарушения приводят к запуску генетически запрограммированной гибели нейронов — апоптозу [9].

Таким образом, дальнейшее изучение патогенеза, а также клинических, электрофизиологических и иммунологических аспектов поражения периферической нервной системы при ССД является теоретически и практически важным вопросом. [1]

Как уже отмечалось выше у пациентов, страдающих системной склеродермией, часто выявляется поражение легких. Одним из возможных путей в развитии данного состояния является нарушение баланса в системе эластин-эластаза. В деградации эластина принимают участие эластазы, в частности нейтрофильная эластаза. В результате окислительного стресса происходит повреждение клеточных мембран и внутриклеточных органелл не только окружающих клеток, но и самих нейтрофилов, что ведет к повышению уровня нейтрофильной эластазы в крови и тканях и усугубляет патологический процесс [38]. Нейтрофильная эластаза вызывает повышение матричной металлопротеиназы, которая, в свою очередь, способствует высвобождению ФНО- α макрофагами, что приводит к рекрутированию «новых» нейтрофилов и выработке ими нейтрофильной эластазы, а также усиливает процессы апоптоза и продукции АФК [18]. Более того, нейтрофилы способны создавать вокруг себя, так называемое «рабочее защищенное пространство», недоступное для ингибиторов; так же они продуцируют оксиданты, окисляющие активный центр

α 1-антитрипсина, делая его функционально неактивным [2]. Таким образом, замыкается «порочный круг».

Таким образом, функциональная неоднородность нейтрофилов, наблюдающаяся при системной красной волчанке и системной склеродермии, является одним из многих факторов, обуславливающих развитие патологического аутоиммунного процесса, и может стать перспективной целью терапевтического воздействия.

ВЫВОДЫ

1. При системной красной волчанке и системной склеродермии наблюдается феномен функциональной неоднородности нейтрофилов, характеризующийся преобладанием клеток со средней функциональной активностью. Популяция нейтрофилов при ССД представлена только клетками с низким и средним уровнем кислородзависимого метаболизма; клетки, обладающие высокой метаболической активностью, отсутствуют.

2. Особенностью функционирования нейтрофилов, обладающих низким уровнем кислородзависимого метаболизма при СКВ и ССД, в отличие от пула клеток, демонстрирующих средний и высокий уровни окислительного стресса, является значимое снижение резерва продукции супероксидного анион-радикала.

3. Функциональная неоднородность нейтрофилов у больных СКВ и ССД детерминирована содержанием эстрадиола и тестостерона вне зависимости от характера течения и продолжительности заболевания. При СКВ, наблюдается взаимосвязь между уровнем кислородзависимого метаболизма нейтрофилов (сХЛлл) и концентрацией эстрадиола ($r=0,31$, $p=0,034$). Резервный потенциал нейтрофилов у больных СКВ, а также резерв продукции супероксидного анион-радикала при ССД находятся в прямой корреляционной зависимости от коэффициента эстрогении ($r=0,51$; $p=0,005$ и $r=0,49$; $p=0,005$).

4. У больных СКВ образование активных форм кислорода нейтрофилами прямо взаимосвязано с концентрацией С-реактивного белка ($r=0,48$; $p=0,0003$), а продукция супероксидного анион-радикала обратно коррелирует с системными проявлениями заболевания ($r=-0,34$; $p=0,014$). При ССД уровень кислородзависимого метаболизма нейтрофилов прямо взаимосвязан с концентрацией СРБ ($r=0,48$; $p=0,009$) и поражением легких ($r=0,38$, $p=0,042$). Резервный потенциал нейтрофилов находится в прямой зависимости от концентрации IgA ($r=0,43$; $p=0,026$), IgG ($r=0,39$; $p=0,04$) и ассоциирован с поражением нервной системы ($r=0,41$; $p=0,029$).

5. Наибольшее влияние на активацию клеток при системной красной волчанке и системной склеродермии оказывают С-реактивный белок и соотношение концентрации тестостерона и эстрадиола (коэффициент эстрогении).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Наличие феномена функциональной неоднородности нейтрофилов при системной красной волчанке и системной склеродермии позволяет дифференцировать группы больных и реализовать персонифицированный подход к пациенту, что способствует оптимизации и повышению качества процесса диагностики.

2. Включение хемилюминесцентного метода исследования функциональной активности нейтрофилов с определением степени биоцидной активности нейтрофилов в комплексное обследование больных СКВ и ССД дает дополнительную информацию об иммуновоспалительной активности и характере течения патологического процесса.

3. Рекомендуется осуществлять мониторинг показателей биоцидного потенциала клеток (КА ХЛлл) и резерва продукции супероксидного анион-радикала (иХЛлн) нейтрофилов в группе больных СКВ и ССД с низкой функциональной активностью клеток не позднее, чем через три месяца после выписки из стационара в целях прогнозирования вероятности повторной госпитализации.

4. Необходимо определять уровень эстрогении (соотношения тестостерон/эстрадиол) у больных СКВ и ССД для коррекции гормонального дисбаланса, как одного из факторов, участвующих в механизмах развития данных заболеваний.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АФК	– активные формы кислорода
аФРН	– антитела к фактору роста нервов
ВОЗ	– всемирная организация здравоохранения
ГК	- глюкокортикоиды
ГКС	- глюкокортикостероиды
Г-КСФ	– гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
ГМ-КСФ	- гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
ДБСТ	– диффузные болезни соединительной ткани
ЖКТ	– желудочно-кишечный тракт
иАПФ	– ингибитор ангиотензинпревращающего фермента
ИБС	– ишемическая болезнь сердца
ИЛ	– интерлейкин
ИМТ	- индекс массы тела
ИНФ	– интерферон
иХЛлл	- индуцированная люминолзависимая хемилюминесценция
иХЛлн	- индуцированная люцигенинзависимая хемилюминесценция
КА ХЛлл	- коэффициент активации люминолзависимой ХЛ
КА ХЛлн	- коэффициент активации люцигенинзависимой ХЛ
НАДФ	- никотинамидадениндинуклеотидфосфат
НВЛ	– нейтрофильные внеклеточные ловушки
Нк	– нейтрофилы киллеры
Нс	– нейтрофилы кейджеры
НПВП	– нестероидные противовоспалительные препараты
Нф	- нейтрофил
ПТИ	– протромбиновый индекс
СКВ	– системная красная волчанка
СОЭ	– скорость оседания эритроцитов

С-РБ	- С - реактивный белок
ССД	– системная склеродермия
сХЛлл	- спонтанная люминолзависимая хемилюминесценция
сХЛлн	- спонтанная люцигенинзависимая хемилюминесценция
ТРФ-β	- трансформирующий ростовой фактор
ЦИК	- циркулирующий иммунный комплекс
ЦОГ	- циклооксигеназа
ФНО	– фактор некроза опухоли
ФРН	– фактор роста нервов
ФА	- функциональная активность
ХЛ	- хемилюминесценция
anti-ERα	- антитела к рецептору эстрогена
AR	– рецептор к андрогенам
AP-1	– транскрипционный фактор 1
CD	– кластер дифференцировки
CXCR4	– С-Х-С хемокиновый рецептор 4 типа
DHEA	- дигидроэпиандростерон
GPER	– специальный протеин G
eNOS	– эндотелиальная синтаза оксида азота
E2	- эстрадиол
ER	– рецептор к эстрогену
HNP	– антитела к α-дефензинам
ICAM-1	– молекула клеточной адгезии-1
Ig	- иммуноглобулин
iNOS	– индуцибельная синтаза оксида азота
LDG	– гранулоциты низкой плотности
LFA-1	- интегрин подсемейства β2-интегринов
MAPK	– митоген-активируемая протеинкиназа
MSCs	– стволовые мезенхимальные клетки
NET	– нейтрофильные внеклеточные ловушки

NETosis	- нетоз
NFkB	– транскрипционный фактор
nNOS	– нейрональная синтаза оксида азота
OLFM4	– ольфактомедин 4
PAK	– активированная киназа
PKC	– протеинкиназа C
p47phox	- цитозольный фактор активации НАДФН-зависимой оксидазы
p53	– транскрипционный фактор
PR3	– протеиназа 3
SHBG	– глобулин, связывающий половые гормоны
SLEDAI	– шкала оценки активности СКВ
TRAIL	- цитокин семейства факторов некроза опухоли, лиганд, вызывающий апоптоз
Th	- Т-лимфоциты хелперы
Ts	- Т- лимфоциты супрессоры

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абакумова, Т. В. Цитокиновый профиль и метаболическая активность нейтрофилов периферической крови при прогрессировании неоплазмы / Т.В. Абакумова, И.И. Антонеева, Т.П. Генинг, С.О. Генинг, Д.Р. Долгова, А.В. Фомина // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2014 – № 4 – С. 58–62.
2. Агапова, Ю. Р. Антитела к эластазе нейтрофилов на фоне гипоимуноглобулинемии у пациентов с обострением бронхиальной астмы и ХОБЛ / Ю. Р, Агапова, А. В. Гулин // Забайкальский медицинский вестник. – 2013. – №2. – С. 25 – 34.
3. Аджигайтканова, С. К. Диагностика и лечение отдельных форм ревматических заболеваний с позиции доказательной медицины / С. К. Аджигайтканова. – Учебно-методическое пособие. – М., ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова, 2013. – 52 с.
4. Ананьева, Л. П. Новые классификационные критерии системной склеродермии (лекция) / Л. П. Ананьева // Научно–практическая ревматология. – 2013. – Т.51. – №5. – С. 539 – 544.
5. Ананьева, Л. П. Основные формы системной склеродермии: особенности клиники и диагностики / Л. П. Ананьева // РМЖ. – 2013. – №6. – С. 322
6. Барбараш, О.Л. Аденозиновые механизмы положительных и нежелательных эффектов тикагрелора / О.Л. Барбараш, Е.В. Тавлуева // Consilium Medicum. 2014; 10: С. 92–94.
7. Белоусов, Ю. Б. Клиническая фармакология : национальное руководство / Ю. Б. Белоусов, В. К. Лепяхин, В. Г. Кулес, В. И. Петрова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. — 976 с.
8. Беляева, А. С. Нейтрофильные гранулоциты как регуляторы иммунитета / А.С. Беляева, Л.В. Ванько, Н.К. Матвеева, Л.В. Кречетова // Иммунология. – 2016. – Т.37. – №2. – С. 129 – 133.

9. Бойко, А. А. Внутриклеточное содержание белков теплового шока 70 КДА и его взаимосвязь с продукцией активных форм кислорода в нейтрофилах человека при старении: Автореф. дисс. канд. биол. наук: 14.03.09 / А. А. Бойко. – М., 2015. – 25 с.
10. Болатчиев, А. Д. Дефензины. Роль в патологии человека и перспективы применения / А.Д. Болатчиев, В.А. Батурин // Вестник молодого ученого. – 2016. – Т.15 – №4. – С. 17 – 22.
11. Боровиков, В. П. STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов. 2-е издание / В.П. Боровиков // СПб.: Питер, 2003, С.146 – 184.
12. Бурместер, Г. Р. Наглядная иммунология : учебник / Г. Р. Бурместер, А. Пецутто. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2018. – 320 с.
13. Випартене, Д. Показатели про- и антиоксидантной системы в крови больных ревматоидным артритом и системной красной волчанкой / Д. Випартене, Л. Ясуювеличуте, Б. Буткене и др. // Тер. арх. – 2006. – №6. – С. 10–14.
14. Вирясова, Г. М. Действие оксида азота на апоптоз и синтез лейкотриенов в фагоцитирующих нейтрофилах человека / Г. М. Вирясова, Г. Ф. Судьина, Е. А. Голенкина // Российский иммунологический журнал. – 2016. – Т. 10 – №2. – С. 67 – 69.
15. Воейков, В. Л. Использование жидкостного сцинтилляционного счетчика для анализа люминесценции клеточных суспензий. Дыхательный взрыв нейтрофилов как коллективный процесс / В.Л. Воейков, И.В. Баскаков // Доклады РАН.– 1994.– 334(2).– С.234–236
16. Воробьева Н. В. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, роль в норме и при патологии / Н.В. Воробьева, Б.В. Пинегин // Биохмия. – 2014. – Т.79 – Вып. 12 – С. 1580–1591.
17. Воробьева, Н. В. NADPH-оксидаза нейтрофилов и заболевания, связанные с ее дисфункцией / Иммунология. – 2013. – №4. – С. 227 – 232.

18. Галкин, А. А. Нейтрофилы и синдром системного воспалительного ответа / А. А. Галкин, В. С. Демидова // Раны и раневые инфекции. Журнал имени профессора Б.М. Костючёнка. – 2015. – Т.2 – С. 25–28.
19. Герасимов, И. Г. Особенности активации нейтрофилов *in vitro* / И. Г. Герасимов, Д. Ю. Игнатов // Цитология. – 2004. – № 2. – С.155–158.
20. Герасимов, И. Г. Функциональная неоднородность нейтрофилов / И. Г. Герасимов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – № 2. – С.34–36
21. Диатроптов, М. Е. Анализ показателей инфрадианных ритмов стероидных гормонов и процентного содержания нейтрофилов периферической крови у крыс-самцов вистар / М. Е. Диатроптов, М. А. Диатроптова, М. В. Кондашевская // Фундаментальные исследования. – 2012. – №9. – С. 273 – 278.
22. Долгушин, И. И. Внутри- и внеклеточная бактерицидность фагоцитирующих клеток / И.И. Долгушин, А.Ю. Савочкина, В.Ф. Долгушина, Т.Г. Смирнова, И.В. Курносенко // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2013. – №1. – С. 85 – 87.
23. Долгушин, И. И. Роль ультраструктур нейтрофильных гранулоцитов в формировании внеклеточных ловушек / И.И. Долгушин, А.Ю. Савочкина, Т.Г. Смирнова, И.В. Курносенко, В.Б. Маякова, А.А. Савельева, О.Б. Прокопьева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – Т.159 – №4. – С. 464 – 466.
24. Земсков, В. М. Изучение функционального состояния фагоцитов человека (кислородный метаболизм и подвижность клеток). Методические рекомендации МЗ РФ / В.М. Земсков, А.М. Барсуков, А.А. Безносенко и др.– М., 1988.– 18 с.
25. Зурочка, А. В. Изучение латексиндуцированной люминолзависимой хемилюминесценции нейтрофилов / А.В. Зурочка, И.И. Долгушин, А.В. Власов // Лабораторное дело. – 1989. – №3. – С. 32–36.

26. Ильин, М. В. Взаимосвязь между показателями кислородзависимого метаболизма, апоптоза нейтрофилов и концентрацией половых гормонов у больных системной красной волчанкой и системной склеродермией / М. В. Ильин, Е. Ю. Капрельянц, П. А. Мальцева, В. А. Романов, О. А. Хрусталева // Уральский медицинский журнал. – 2010. – №1. – С.88–91.
27. Ильин, М. В. Взаимосвязь показателей функциональной активности 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 – 231.
28. Ильин, М. В. Изменение экспрессии фактора *bak* нейтрофилами у больных системной красной волчанкой / М. В. Ильин, В. В. Чмырь, Е. Ю. Капрельянц, В. А. Романов // Иммунология. – 2008. – Т.29. – №4. – С. 244.
29. Клюквина, Н. Г. Системная красная волчанка у мужчин / Н. Г. Клюквина // РМЖ. – 2014. – №28. – С. 2012.
30. Куземкина, С. В. Гендерные и сезонные количественные изменения популяции лейкоцитов у лиц разного возраста / С. В. Куземкина, Г. Н. Чупахина // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. – 2015. – №7. – С. 86 – 95.
31. Мазуров, Вадим Диффузные болезни соединительной ткани / В. Мазуров // Litres 2017 С. 238.
32. Маймакова, А. М. К вопросу о совершенствовании лабораторной диагностики аутоиммунных заболеваний / А. М. Маймакова, А. Д. Нурахова, Г. А. Косдаулетова // Вестник Алматинского государственного института усовершенствования врачей. – 2013. – №4. – С. 75 – 78.
33. Макарушин, А. А. Состояние функций кислородзависимого и кислоронезависимого метаболизма нейтрофилов у больных системной красной волчанкой и системными васкулитами : дис. ...канд. Мед. Наук : 14.00.39 / Макарушин Алексей Аркадьевич. – Ярославль, – 1996. – 168 с.
34. Москалёв, А. В. Роль нейтрофильных гранулоцитов в иммуновоспалительном процессе / А.В. Москалёв, А.С. Рудой, А.В. Апчел,

- А.Б. Шангин // Вестник российской военно-медицинской академии. – 2016. 4(56). – С. 191–195.
35. Насонов, Е.Л. Клинические рекомендации. Ревматология / под ред. Е.Л. Насонова.– М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017.– 464 с.
 36. Некрасова, И. В. Женские половые стероидные гормоны в регуляции ферментативной активности нейтрофилов / Некрасова И.В., Ширшев С.В. // Доклады академии наук. – 2013. – Т. 453 – №6. – С. 690–693.
 37. Нестерова, И. В. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Часть 1 / И.В. Нестерова, Н.В. Колесникова, Г.А. Чудилова, Л.В. Ломтатидзе, С.В. Ковалева, А.А. Евглевский, Т.З.Л. Нгуен // Инфекция и иммунитет. – 2017. – Т.7 – №3. – С. 219 – 230.
 38. Новиков, В. Е. Роль активных форм кислорода в физиологии и патологии клетки и их фармакологическая регуляция / В. Е. Новиков, О.С. Левченкова, Е. В. Пожилова //Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2014. – Т.12. – №4. – С. 13 – 20.
 39. Носарева О. Л. Роль окислительной модификации белков в редокс-регуляции активности каспазы-3 в лимфоцитах крови при окислительном стрессе *in vitro* / О. Л. Носарева, Е. А. Степовая, Н. В. Рязанцева, Е. В. Шахристова, О. Н. Веснина, В. В. Новицкий // Бюллетень сибирской медицины. – 2015. – Т 14. – № 6. – С. 61–67.
 40. Осипенко, А. А. Роль оксида азота в процессах адаптации организма к физической нагрузке / А. А. Осипенко // Наука в олимпийском спорте. – 2014. – Вып.1. – С. 23–27.
 41. Панафидина, Т.А. Обзор VI научно-образовательного курса eular, посвященного системной красной волчанке (италия, пиза, 1–6 сентября 2013 г.) / Т. А. Панафидина // Научно-практическая ревматология. – 2014. – Т. 52. – №2. – С. 230–237.
 42. Плескова, С. Н. Различия в функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов человека при их взаимодействии с полупроводниковыми квантовыми точками / С.Н. Плескова, И.В. Балалаева, Ю.Ю. Гущина, Е.А.

- Сергеева, Т.А. Здобнова, С.М. Деев и И.В. Турчин // Морфология. – 2009. – Т. 135. – №3. – С. 47–49.
43. Полеско, И. В. Иммунологические параметры у больных себорейным дерматитом / И. В. Полеско, А. В. Пичугин, Р. И. Атауллаханов // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2005. – №2. – С.26 – 30.
 44. Потекаев, Н. Н. Роль иммунных факторов в развитии склеродермии / Н. Н. Потекаев, И. М. Корсунская, С. Д. Гусева, З. А. Невозинская // Клиническая дерматология и венерология. – 2014. – 3.
 45. Ребров А. П. Значение цитокинов и факторов роста в сыворотке крови и моче у больных системной красной волчанкой / А.П. Ребров, Н.Б. Захарова, А.Н. Оксеньчук, О.Г. Карпова, Д.А.Патрикеева, Э.Б. Попыхова // Бюллетень медицинских интернет-конференций. Заочная конференция «Актуальные проблемы фундаментальной и клинической уронефрологии – 2014» – 2014 – № 1 – том 4.
 46. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М., Медиафера. – 2006. – 312 с.
 47. Роженцева, Д.А. Современный взгляд на этиологию, патогенез и лечение системной красной волчанки / Д. А. Роженцева, В. К. Данилова, М. И. Казанцева // Международный студенческий научный вестник. – 2017. – № 4. – С. 641 – 644.
 48. Сайгитов, Р. Т. Комплексный анализ миграции, эффекторной функции и апоптоза нейтрофилов: Автореф. дисс...канд. мед. наук: 14.00.36 / Р.Т. Сайгитов.– М., 2001.– 23 с.
 49. Смирнова, Е.В Особенности функционального статуса нейтрофилов у больных волчаночным нефритом / Е. В. Смирнова, Е. В. Проскурнина, Т. Н. Краснова // Здоровье и образование в XXI веке. – 2017. – т.19 – №.12 – С. 277 – 280.
 50. Тотолян, А. А. Клетки иммунной системы : учебное пособие / А. А. Тотолян, И. С. Фрейдлин. – СПб.: Наука, 2000. – 231 с.

51. Тотолян, А. А. 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, Е. П. Иливанова, А. В. Созина, А. М. Шульман, М. А. Шульман // Клиническая лабораторная диагностика. – 2008. – №5. – С.44 – 47.
52. Уразова, О.И. Апоптоз нейтрофилов и иммунорегуляторные цитокины при аутоиммунных тиреопатиях / О. И. Уразова, Е. Б. Кравец, В. В. Новицкий, В. Н. Кузнецова, А. В. Рогалева // Клиническая и экспериментальная тиреидология. – 2007. – Т.3. – №4.– С. 49–54.
53. Черняев, А. А. Цитохимическая активность нейтрофилов и моноцитов крови у больных метаболическим синдромом / А. А. Черняева, А. А. Демидов, Е. Н. Чернышева // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №1-1.
54. Шилкина Н. П. Диагностика и лечение поражений нервной системы при ревматических заболеваниях / Н.П. Шилкина, Н.Н. Спирин, И.В. Дряженкова // Лечащий врач. – 2009. – №4. – С.
55. Шуба, Н. М. Современный подход к лечению сосудистых поражений при ревматических болезнях / Н. М, Шуба // Здоровье Украины. – 2008. – №10 – С. 47 (Газета).
56. Эрдни-Горяева, Н. Э. Функциональное состояние нейтрофильных гранулоцитов и маркеры апоптоза при сахарном диабете I типа у детей : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.88 / Эрдни-Горяева Наталья Эдуардовна. – Ставрополь, 2013. – 18 с.
57. Aida-Yasuoka, Keiko. Estradiol promotes the development of a fibrotic phenotype and is increased in the serum of patients with systemic sclerosis / Keiko Aida-Yasuoka, Christine Peoples, Hidekata Yasuoka, Pamela Hershberger, Katelynn Thiel, Jane A Cauley, Thomas A Medsger Jr, Carol A Feghali-Bostwick // Arthritis Research & Therapy. – 2013 15:R10.
58. Akamata, K. SIRT3 is attenuated in systemic sclerosis skin and lungs, and its pharmacologic activation mitigates organ fibrosis / K. Akamata, J. Wei, M.

- Bhattacharyya, P. Cheres, M. Y. Bonner, J. L. Arbiser, K. Raparia, M. P. Gupta, D. W. Kamp, J. Varga // *Oncotarget*. 2016 Oct 25;7(43):69321–69336.
59. Alder, M. N. Olfactomedin-4 Is a Candidate Marker for a Pathogenic Neutrophil Subset in Septic Shock. / M. N. Alder, A. M. Opoka, P. Lahni, D. A. Hildeman, H. R. Wong. // *Crit Care Med* – 2017. – Apr; 45(4) : pp. 426 – 432.
 60. Allen, C. Neutrophil cerebrovascular transmigration triggers rapid neurotoxicity through release of proteases associated with decondensed DNA / C. Allen, P. Thornton, A. Denes, B. W. McColl, A. Pierozynski, M. Monestier, E. Pinteaux, N. J. Rothwell, S. M. Allan // *J. Immunol.* – 2013. – 189, pp. 381–392.
 61. Amirbeagi, F. Olfactomedin-4 autoantibodies give unusual c-ANCA staining patterns with reactivity to a subpopulation of neutrophils / F. Amirbeagi, P. Thulin, R. Pullerits, B. Pedersen, B. A. Andersson, C. Dahlgren, A. Welin, J. Bylund // *J Leukoc Biol*. 2015 Jan;97(1):181–9.
 62. Andrade, F. NETs: the missing link between cell death and systemic autoimmune diseases? / E. Darrah, F. Andrade // *Front Immunol.* – 2013 Jan 17;3:428
 63. 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 et al. // *Rheumatol Int.* – 2006 – 27(2) : 153-6.
 64. Arteni, A. Hormone replacement therapy and autoimmune diseases / A. Arteni G. Fabiani, D. Marchesoni // *Giorn. It. Ost. Gin. Giornale Italiano di Ostetricia e Ginecologia CIC Edizioni Internazionali.* – 2014. – Mar –Apr; 36(2) : pp. 322–327.
 65. Assad, Salman. Role of Sex Hormone Levels and Psychological Stress in the Pathogenesis of Autoimmune Diseases / Salman Assad, Hamza H Khan, Haider Ghazanfar, Zarak H Khan, Salman Mansoor, Muhammad A Rahman, Ghulam H Khan, Bilal Zafar, Usman Tariq, Shuja A Malik // *Cureus.* – 2017 Jun; 9(6): e1315.
 66. Azcutia, V. Role of negative regulation of immune signaling pathways in neutrophil function / V. Azcutia, C.A. Parkos, J.C. Brazil JC // *J Leukoc Biol*. 2017 Dec 19.

67. Bai, M. CD177 modulates human neutrophil migration through activation-mediated integrin and chemoreceptor regulation / M. Bai, R. Grieshaber-Bouyer, J. Wang, A. B. Schmider, Z. S. Wilson, L. Zeng, O. Halyabar, M. D. Godin, H. N. Nguyen, A. Levescot, P. Cunin, C. T. Lefort, R. J. Soberman, P. A. Nigrovic PA // *Blood*. 2017 Nov 9;130(19): pp. 2092–2100.
68. Baillargeon, Jacques. Hypogonadism and the risk of rheumatic autoimmune disease / Jacques Baillargeon, Soham Al Snih, Mukaila A. Raji, Randall J. Urban, Gulshan Sharma, Melinda Sheffield-Moore, David S. Lopez, Gwen Baillargeon, Yong-Fang Kuo // *Clin Rheumatol.* – 2016; 35(12): pp. 2983–2987.
69. Barnes, T. C. Neutrophil-derived reactive oxygen species in SSc / T. C. Barnes, M. E. Anderson, S. W. Edwards, RJ Moots // *Rheumatology (Oxford)*. – 2012 Jul;51(7).
70. Bengtsson, Anders A. Low production of reactive oxygen species in granulocytes is associated with organ damage in systemic lupus erythematosus / Anders A Bengtsson, Åsa Pettersson, Stina Wichert, Birgitta Gullstrand, Markus Hansson, Thomas Hellmark, Åsa CM Johansson // *Arthritis Res Ther.* – 2014; 16(3): R120.
71. Bove, Riley. Autoimmune diseases and reproductive aging / Riley Bove // *Clinical Immunology*. – 2013. – Volume 149. – Issue 2. – P. 251–264.
72. Brunasso, A. M. Update on the pathogenesis of Scleroderma: focus on circulating progenitor cells / A. M. Brunasso, C. Massone // *F1000Res*. – 2016 Apr 22;5.
73. Cabas, I. Estrogen signaling through the G protein-coupled estrogen receptor regulates granulocyte activation in fish / I. Cabas, M. C. Rodenas, E. Abellán, J. Meseguer, V. Mulero, A. García-Ayala // *J Immunol.* – 2013.– Nov 1;191(9):4628–39.
74. Cai, Zhenming. The Role of Estrogen Membrane Receptor (G Protein-Coupled Estrogen Receptor 1) in Skin Inflammation Induced by Systemic Lupus Erythematosus Serum IgG / Zhenming Cai, Changhao Xie, Wei Qiao, Xibin Fei, Xuanxuan Guo, Huicheng Liu, Xiaoyan Li, Xiang Fang, Yacong Guo, Guangqiong Xu, Hui Dou, and Guo-Min Deng // *Front Immunol*. 2017; 8: 1723.

75. Cannarile, F. Cardiovascular disease in systemic sclerosis / F. Cannarile, V. Valentini, G. Mirabelli, A. Alunno, R. Terenzi, F. Luccioli et al // *Ann Transl Med.* – 2015;3:1–11/
76. Carmona-Rivera, C. Low-density granulocytes: a distinct class of neutrophils in systemic autoimmunity. / C. Carmona-Rivera, M. J. Kaplan. // *Semin Immunopathol.* – 2013. – Jul; 35(4) : 455–63.
77. Chauhan, S.K. Differential clearance mechanisms, neutrophil extracellular trap degradation and phagocytosis, are operative in systemic lupus erythematosus patients with distinct autoantibody specificities / SK Chauhan, R Rai, VV Singh, M Rai, G Rai // *Immunol Lett.* – 2015 Dec;168(2):254–9.
78. Chignalia, Andreia Z. Testosterone induces leukocyte migration by NADPH oxidase-driven ROS- and COX2-dependent mechanisms / Andreia Z Chignalia, Maria Aparecida Oliveira, Victor Debbas, Randall O Dull, Francisco R M Laurindo, Rhian Touyz // *Clinical Science* – 2015 – 129(1).
79. Collison, J. Autoimmunity: The ABCs of autoimmune disease / J. Collison // *Nat Rev Rheumatol.*–2018 Mar 15.
80. Cordiali-Fei, P. Assessment of T regulatory cells and expanded profiling of autoantibodies may offer novel biomarkers for the clinical management of systemic sclerosis and undifferentiated connective tissue disease / P. Cordiali-Fei, A. Mussi, G. D'Agosto, E. Trento, V. Bordignon, S. Trincone, A. Vento, I. Sperduti, A. Cristaudo, F. Ensoli // *Clin Dev Immunol.* 2013.
81. Cutolo M. Sex steroids and immunity / M. Cutolo, A. Calva // *Robert Ader's. Psychoneuroimmunology.* Academic press – 2007 – 1 – p. 207–16
82. Cutolo, M. Androgens and estrogens modulate the immune and inflammatory responses in rheumatoid arthritis / M. Cutolo, B. Seriola, B. Villaggio, C. Pizzorni, C. Craviotto, A. Sulli // *Ann N Y Acad Sci.* – 2002. – Jun; 966 : 131–42.
83. Dai, Rujuan. Neutrophils and neutrophil serine proteases are increased in the spleens of estrogen-treated C57BL/6 mice and several strains of spontaneous lupus-prone mice / Rujuan Dai, Catharine Cowan, Bettina Heid, Deena Khan, Zhihong Liang, Christine T. N. Pham, S. Ansar Ahmed // *Plos One.* – 2017.

84. Darrah, Erika. NETs: the missing link between cell death and systemic autoimmune diseases? / Erika Darrah, Felipe Andrade // *Front Immunol.* – 2013; 3: p. 428.
85. Delgado-Rizo V. Neutrophil Extracellular Traps and Its Implications in Inflammation: An Overview / V. Delgado-Rizo, M. A. Martínez-Guzmán, L. Iñiguez-Gutierrez, A. García-Orozco, A. Alvarado-Navarro, M. Fafutis-Morris // *Front Immunol.* – 2017;8:81.
86. Denton, Christopher P. BSR and BHPR guideline for the treatment of systemic sclerosis / Christopher P. Denton, Michael Hughes, Nataliya Gak, Josephine VilaMaya, Buch Kuntal, Chakravarty Kim, Fligelstone Luke L., Gompels Bridget, Griffiths Ariane L. Herrick // *Rheumatology.* – 2016. – V. 55. – Issue 10. – pp. 1906–1910.
87. Elloumi, N. Differential reactive oxygen species production of neutrophils and their oxidative damage in patients with active and inactive systemic lupus erythematosus / N Elloumi, Ben Mansour R, S Marzouk, M Mseddi, R Fakhfakh, B Gargouri, H Masmoudi, S Lassoued // *Immunol Lett.* – 2017 Apr;184:1–6.
88. Farage, Miranda A. Effects of menopause on autoimmune diseases / Miranda A Farage, Kenneth W Miller, Howard I Maibach // *Expert Rev. Obstet. Gynecol.* – 2015 7(6), pp. 557–571.
89. Fedotcheva, T. A. Effect of steroid hormones on production of reactive oxygen species in mitochondria / T. A. Fedotcheva, A. G. Kruglov, V. V. Teplova, N. I. Fedotcheva, V. M. Rzheznikov, N. L. Shimanovskii // *Biophysics.* – 2013\/. – V. 57. – I. 6. – pp. 792–795
90. Fernández, P. Extracellular generation of adenosine by the ectonucleotidases CD39 and CD73 promotes dermal fibrosis / P. Fernández, M. Perez-Aso, G. Smith, T. Wilder, S. Trzaska, L. Chiriboga, A. Jr. Franks, S. C. Robson, B. N. Cronstein, E. S. L. Chan // *Am J Pathol.* – 2013 Dec;183(6): pp. 1740–1746.

91. Folomeev, M. Y. Plasma sex hormones and aromatase activity in tissues of patients with systemic lupus erythematosus / M.Y. Folomeev, M. Dougados, J. Beaune // *Lupus* – 1992 – 1(3):191—5.
92. Ganesan, K. Effects of testosterone, estrogen and progesterone on TNF- α mediated cellular damage in rat arthritic synovial fibroblasts / K. Ganesan, C. Balachandran, B.M. Manohar, R. Puvanakrishnan // *Rheumatol. Int.* – 2013 – № 32 – pp. 3181–3188.
93. Giacomelli, R. Interstitial lung disease in systemic sclerosis: current and future treatment / R. Giacomelli, V. Liakouli, O. Berardicurti, P. Ruscitti, P. Di Benedetto, F. Carubbi, G. Guggino, S. Di Bartolomeo, F. Ciccia, G. Triolo, P. Cipriani P // *Rheumatol Int.* 2017 Jun;37(6): pp. 853–863.
94. Giardino, G. NADPH Oxidase Deficiency: A Multisystem Approach / G. Giardino, M. P. Cicalese, O. Delmonte, M. Migliavacca, B. Palterer, L. Loffredo, E. Cirillo, V. Gallo, F. Violi, C. Pignata // *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:4590127.
95. Giovannetti, Antonello. Autoantibodies to Estrogen Receptor α in Systemic Sclerosis (SSc) as Pathogenetic Determinants and Markers of Progression / Antonello Giovannetti, Angela Maselli, Tania Colasanti, Edoardo Rosato, Felice Salsano, Simonetta Pisarri, Ivano Mezzaroma, Walter Malorni, Elena Ortona, Marina Pierdominici // *PLoS One.* 2013; 8(9).
96. Gordon, C. Testosterone patches in the management of patients with mild/moderate systemic lupus erythematosus / C. Gordon, D. J. Wallace, S. Shinada, K. C. Kalunian, L. Forbess, G. D. Braunstein, M. H. Weisman // *Rheumatology (Oxford).* – 2008. – Mar; 47(3):334–8.
97. Gorjestani, S. Extracellular signal-regulated kinase 1/2 signalling in SLE T cells is influenced by oestrogen and disease activity / S. Gorjestani, V. Rider, B. F. Kimler, C. Greenwell, N. I. Abdou // *Lupus.* – 2008;17(6) : 548–54.
98. Greenfield, Julia. A comparison of health-related quality of life (HRQoL) across four systemic autoimmune rheumatic diseases (SARDs) / J. Greenfield, M.

- Hudson, E. Vinet, P. R. Fortin, C. A. Pineau, M. Wang, S. Bernatsky, M. Baron // *PLoS One*. 2017; 12(12): e0189840.
99. Gubbels Bupp M.R. Cell Sex, the aging immune system, and chronic disease / M. R. Gubbels Bupp // *Immunol.* – 2015. – 294(2):102–10
 100. Gupta, Sarthak The role of neutrophils and NETosis in autoimmune and renal diseases / Sarthak Gupta, Mariana J. Kaplan // *Nat Rev Nephrol.* – 2016. – Jul; 12(7): pp. 402–413.
 101. Heasman, S. J. Glucocorticoid-mediated regulation of granulocyte apoptosis and macrophage phagocytosis of apoptotic cells: implications for the resolution of inflammation / S. J. Heasman, K. M. Giles, C. Ward, A. G. Rossi, C. Haslett, I. Dransfield // *Endocrinol.* – 2003;178(1): pp. 29–36.
 102. Hu, N. Coexpression of CD177 and membrane proteinase 3 on neutrophils in antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated systemic vasculitis: anti-proteinase 3-mediated neutrophil activation is independent of the role of CD177-expressing neutrophils / N. Hu, J. Westra, M. G. Huitema, M. Bijl, E. Brouwer, C. A. Stegeman, P. Heeringa, P. C. Limburg, C. G. M. Kallenberg // *Arthritis Rheum.* – 2009.– 60, pp. 1548–1557.
 103. Iriyoda, T. M. V. Reduction of nitric oxide and DNA/RNA oxidation products are associated with active disease in systemic lupus erythematosus patients / T. M. V. Iriyoda, N. Stadtlober, M. A. B. Lozovoy, F. Delongui, N. T. Costa, E. M. V. Reiche, I. Dichi, A. N. C. Simão // *Lupus.* – 2017 Sep;26(10): pp. 1106–1111
 104. Jaillon S. Sexual Dimorphism in Innate Immunity / S. Jaillon, K. Berthenet, C. Garlanda // *Clin Rev Allergy Immunol.* – 2017. Sep 30.
 105. Jerke, Uwe. Characterization of the CD177 interaction with the ANCA antigen proteinase 3 / Uwe Jerke, Stephen F. Marino, Oliver Daumke, Ralph Kettritz // *Scientific Reports.* – 2017. – V. – 7.
 106. Jog, N.R. Biomarkers in connective tissue diseases / N. R. Jog, J. A. James // *J Allergy Clin Immunol.*–2017 Dec;140(6): pp. 1473–1483

107. Jonsson, F. Neutrophils in local and systemic antibody-dependent inflammatory and anaphylactic reactions / F. Jonsson, DA Mancardi, M. Albanesi, P. Bruhns // *J Leukoc Biol.* – 2013;94: pp. 643–656.
108. Kanda, N. Estrogen enhancement of anti-double-stranded DNA antibody and immunoglobulin G production in peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic lupus erythematosus / N. Kanda, T. Tsuchida, K. Tamaki // *Arthritis Rheum.* – 1999. – Feb; 42(2):328–37.
109. Kaplan, Mariana J. Arthritis Role of neutrophils in systemic autoimmune diseases / Mariana J Kaplan // *Res Ther.*–2013; 15(5): p. 219.
110. Khan, A. Nanomedical studies of the restoration of nitric oxide/peroxynitrite balance in dysfunctional endothelium by 1,25-dihydroxy vitamin D3 - clinical implications for cardiovascular diseases.. / A. Khan, H. Dawoud, T. Malinski. // *Int J Nanomedicine.* – 2018. – Jan; 13 : pp. 455–466.
111. Khan, Deena. The Immune System Is a Natural Target for Estrogen Action: Opposing Effects of Estrogen in Two Prototypical Autoimmune Diseases / Deena Khan, S. Ansar Ahmed // *Front Immunol.* – 2015. – Jan; 6 : p. 635.
112. Khan, M. F. Environmental Agents, Oxidative Stress and Autoimmunity / M. F. Khan, G. Wang // *Curr Opin Toxicol.* – 2018;7: pp. 22–27.
113. Khan, W. A. Binding characteristics of SLE anti-DNA autoantibodies to Catecholesterol-modified DNA / W. A. Khan // *Scand J Immunol.* – 2006. – Dec; 64(6):677–83.
114. Kilinc, F. Oxidative stress parameters in localized scleroderma patients / F. Kilinc, S. Sener, A. Akbaş, A. Metin, S. Kirbaş, S. Neselioglu, O. Erel // *Arch Dermatol Res.* 2016 Nov;308(9): pp. 625–629.
115. Knight, J. S. Lupus neutrophils: 'NET' gain in understanding lupus pathogenesis / J. S. Knight , M. J. Kaplan // *Curr Opin Rheumatol.* – 2012. – Sep; 24(5) : 441–50.
116. Kolaczowska, E. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation / E. Kolaczowska, P. Kubes // *Nat Rev Immunol.* – 2013 – №13(3): 159–75.
117. Kruger, Philipp Neutrophils: Between Host Defence, Immune Modulation, and Tissue Injury / Philipp Kruger, Mona Saffarzadeh, Alexander N. R. Weber,

- Nikolaus Rieber, Markus Radsak, Horst von Bernuth, Charaf Benarafa, Dirk Roos, Julia Skokowa, and Dominik Hartl // PLoS Pathog. – 2015. – 11(3). pp. 181 – 218.
118. Kruger, Philipp. Neutrophils: Between Host Defence, Immune Modulation, and Tissue Injury / Philipp Kruger, Mona Saffarzadeh, Alexander N. R. Weber, Nikolaus Rieber, Markus Radsak, Horst von Bernuth, Charaf Benarafa, Dirk Roos, Julia Skokowa, Dominik Hartl // PLOS Medicine – 2015. – Mar 12; 1004651.
 119. Kyungho, Kim. NOX2 is critical for heterotypic neutrophil-platelet interactions during vascular inflammation / Kim Kyungho, Li Jing, Alan Tseng, Robert K. Andrews, Jaehyung Cho // Blood. – 2015; 126(16): pp. 1952–1964.
 120. Lahita, R. G. The immunoendocrinology of systemic lupus erythematosus / R. G. Lahita // Clin Immunol. 2016 Nov;172: pp. 98–100.
 121. Lee, H. T. The pathogenesis of systemic lupus erythematosus - From the viewpoint of oxidative stress and mitochondrial dysfunction / H. T. Lee, T. H. Wu, C. S. Lin, C. S. Lee, Y. H. Wei, C. Y. Tsai, D.M. Chang // Mitochondrion. 2016 Sep;30: pp. 1–7.
 122. Lee, KH Neutrophil extracellular traps (NETs) in autoimmune diseases: A comprehensive review / KH Lee, A Kronbichler, DD Park, Y Park, H Moon, H Kim, JH Choi, Y Choi, S Shim, IS Lyu, BH Yun, Y Han, D Lee, SY Lee, BH Yoo, KH Lee, TL Kim, H Kim, JS Shim, W Nam, H So, S Choi, S Lee, JI Shin // Autoimmun Rev. – 2017 Nov;16(11): pp. 1160–1173.
 123. Li, L. Research advances in the role of neutrophil extracellular traps in childhood-onset systemic lupus erythematosus // L. Li, H. D. Fu // Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi. 2018 Mar;20(3): pp. 251–254.
 124. Liu, W. Olfactomedin 4 inhibits cathepsin C-mediated protease activities, thereby modulating neutrophil killing of Staphylococcus aureus and Escherichia coli in mice / Liu W, Yan M, Liu Y, McLeish KR, Coleman WG, Rodgers GP. // J. Immunol. – 2012 – p. 189, 2460–2467.
 125. Lu, J. Increased expression of latent TGF- β -binding protein 4 affects the fibrotic process in scleroderma by TGF- β /SMAD signaling / J Lu, Q Liu, L Wang, W Tu, H

- Chu, W Ding, S Jiang, Y Ma, X Shi, W Pu, X Zhou, L Jin, J Wang, W Wu // *Lab Invest.*—2017;97(9):1121.
126. Luo, D. The roles of integrins in function of human neutrophils after their migration through endothelium into interstitial matrix / D Luo, HM McGettrick, PC Stone, GE Rainger, GB Nash // *PLoS One.* – 2015;10(2).
 127. Luo, J. Y. Oxidative stress markers in blood in systemic sclerosis: A meta-analysis / J. Y. Luo, X. Liu, M. Jiang, H. P. Zhao, J. J. Zhao // *Mod Rheumatol.* 2017 Mar;27(2): pp. 306–314.
 128. MacDonald, K. G. Regulatory T cells produce profibrotic cytokines in the skin of patients with systemic sclerosis / K. G. MacDonald, N. A. Dawson, Q. Huang, J. V. Dunne, M. K. Levings, R. Broady // *J Allergy Clin Immunol.* – 2015 Apr; 135(4):946–e9.
 129. Mackay, Ian R. *The Autoimmune Diseases.* Ian R. Mackay, Noel R Rose // Academic Press; 5 edition. – 2014; p. 1304.
 130. Marczell I. 17- β -estradiol Decreases Neutrophil Superoxide Production through Rac1 / I. Marczell, A. Hrabak, G. Nyiro, A. Patocs, J. Stark, E. Dinya, Z. Kukor, S. Toth, Z.S. Tulassay, K. Racz, G. Bekesi // *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* – 2016. – 124(10): pp. 588–592.
 131. Marczell, I. 17- β -estradiol Decreases Neutrophil Superoxide Production through Rac1 / I. Marczell, A. Hrabak, G. Nyiro, A. Patocs, J. Stark, E. Dinya, Z. Kukor, S. Toth, Z. S. Tulassay, K. Racz, G. Bekesi // *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes.* – 2016. – Vol. – 124 – №4. – pp. 588 – 592
 132. Marder, Wendy. *Rheumatic autoimmune diseases in women and midlife health* / Wendy Marder, Évelyne Vinet, Emily C. Somers // *Women's Midlife Health.* – 2015. – 1:11.
 133. Martocchia, Antonio. *Sex Steroids Hormones and Autoimmune Disease Activity* / Antonio Martocchia, Silvia Raja, Manuela Stefanelli, Anna Cocca and Paolo Falaschi // *Neuroendocrine Immunology of Autoimmunity.* – 2013. – pp. 234 – 239.

134. Matsuyama, W. TNF-related apoptosis-inducing ligand is involved in neutropenia of systemic lupus erythematosus / W. Matsuyama, M. Yamamoto, I. Higashimoto, K. Oonakahara, M. Watanabe, K. Machida, T. Yoshimura, N. Eiraku, M. Kawabata, M. Osame, K. Arimura // *Blood*. – 2004 Jul 1;104(1):184–91.
135. Mayadas, Tanya N. The Multifaceted Functions of Neutrophils / Tanya N. Mayadas, Xavier Cullere, and Clifford A. Lowell // *Annu Rev Pathol*. – 2014. – 9. pp. 181–218.
136. McCombe, P.A. Female reproductive issues in multiple sclerosis / P.A. McCombe, J.M. Greer // *Multip. Scler*. – 2013. – 19. pp. 392–402.
137. McCombe, P.A. Sexual dimorphism in the immune system / P.A. McCombe, J.M. Greer, N.R. Rose, I.R. Mackay // *The Autoimmune Diseases*. – 2013. P. 319 – 328.
138. Mocsai, A. Diverse novel functions of neutrophils in immunity, inflammation, and beyond / A. Mocsai // *JEM*. – 2013. – Vol. 210, №.7. – pp. 1283 –1299.
139. Mohan, Chandra Genetics and pathogenesis of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis / Chandra Mohan, Chaim Putterman // *Nature Reviews Nephrology*. – 2015. – 11, pp. 329–341.
140. Mok, C. C. Profile of sex hormones in male patients with systemic lupus erythematosus / C. C. Mok, C. S. Lau // *Lupus*. – 2000; 9(4):252–7.
141. Morell, M. Myeloid Populations in Systemic Autoimmune Diseases / M Morell M, N Varela, C Marañón // *Clin Rev Allergy Immunol*. – 2017 Oct; 53(2): 198–218.
142. Mozes, E. A novel tolerogenic peptide, hCDR1, for the specific treatment of systemic lupus erythematosus / E. Mozes, Sharabi // *Autoimmun Rev*. – 2010 Nov;10(1):22–6.
143. Naffah de Souza, C. Alkaline pH Promotes NADPH Oxidase-Independent Neutrophil Extracellular Trap Formation: A Matter of Mitochondrial Reactive Oxygen Species Generation and Citrullination and Cleavage of Histone / C. Naffah de Souza, L. C. D. Breda, M. A. Khan, S. R. de Almeida, N. O. S. Câmara, N. Sweezey, N. Palaniyar // *Front Immunol*. 2018 Jan 9;8: p. 1849.

144. Nagy, György Aspects in the Pathogenesis of Autoimmune Diseases / György Nagy, Peter C. Huzsthy, Even Fossum, Yrjö Konttinen, Britt Nakken and Peter Szodoray // *Mediators Inflamm.* – 2015. – 1.
145. Navegantes, Kely Campos. Immune modulation of some autoimmune diseases: the critical role of macrophages and neutrophils in the innate and adaptive immunity / Kely Campos Navegantes, Rafaelli de Souza Gomes, Priscilla Aparecida Tártari Pereira, Paula Giselle Czaikoski, Carolina Heitmann Mares Azevedo and Marta Chagas Monteiro // *Journal of Translational Medicine.* – 2017. – 15:36.
146. Nazareth, M. Altered Bax expression and decreased apoptosis in bone marrow cells of lupus-susceptible NZB/W mice / M. Nazareth, P. Fanti, C. Schwach, K. Poppenberg, K. Janis, S. M. Aronica // *Lupus.* – 2001;10(11):785–93.
147. Ngo, S.T. Gender differences in autoimmune disease / S.T. Ngo, F.J. Steyn, P.A. McCombe // *Frontiers in Neuroendocrinology* – 2014 – vol 35 – pp. 347 – 369.
148. Nguyen Dinh Cat, A. Angiotensin II, NADPH oxidase, and redox signaling in the vasculature / A. Nguyen Dinh Cat , A. C. Montezano, D. Burger, R. M. Touyz // *Antioxid Redox Signal.* – 2013 1;19(10):1110–20.
149. Nomellini, V. Aging and animal models of systemic insult: trauma, burn, and sepsis / V. Nomellini, C. R. Gomez, R. L. Gamelli, E. J. Kovacs // *Shock.* – 2009. – 31, pp. 11–20.
150. Olsen, Nancy J. Variation in the androgen receptor gene exon 1 CAG repeat correlates with manifestations of autoimmunity in women with lupus / Nancy J Olsen, Ann L Benko, William J Kovacs // *Endocr Connect.* 2014 Jun 1; 3(2): pp. 99–109.
151. Omair, M. A. Low bone density in systemic sclerosis. A systematic review / M. A. Omair, C. Pagnoux, H. McDonald-Blumer, S. R. Johnson // *J Rheumatol.* – 2013;40:1881–90.
152. Orciani, M. Alterations of ROS pathways in scleroderma begin at stem cell level / M. Orciani, S. Svegliati, S. Gorbi, T. Spadoni, R. Lazzarini, F. Regoli, Di Primio R, A. Gabrielli // *J Biol Regul Homeost Agents.* – 2013;27(1):211–24.

153. Papayannopoulos, V Neutrophil extracellular traps in immunity and disease / V Papayannopoulos // *Nat Rev Immunol.* – 2017 Oct 9.
154. Perl, A. Oxidative stress in the pathology and treatment of systemic lupus erythematosus / A. Perl // *Nat Rev Rheumatol.* – 2013;9: p. 674.
155. Petri B. Neutrophil chemotaxis / B. Petri, M.J. Sanz // *Cell Tissue Res.* – 2018. – 371(3): pp. 425–436.
156. Pierdominici, M. Estrogen impact on autoimmunity onset and progression: the paradigm of systemic lupus erythematosus / M. Pierdominici, E. Ortona // *Int. Trends Immun.* – 2013. – Volume 1. – №2. pp. 24–34.
157. Piotrowski, P. Asp327Asn polymorphism of sex hormone-binding globulin gene is associated with systemic lupus erythematosus incidence / P. Piotrowski, R. Gasik, M. Lianeri, D. Cieślak, M. Wudarski, P. Hrycaj, J. K. Łacki, P. P. Jagodziński // *Mol Biol Rep.* – 2010. – Jan; 37(1):235–9.
158. Prame, Kumar K Partners in crime: neutrophils and monocytes/macrophages in inflammation and disease / Prame Kumar K, A. J. Nicholls, C. H. Y. Wong // *Cell Tissue Res.* – 2018 Mar; 371(3): pp. 551–565.
159. Quast, S.-A. ROS-dependent phosphorylation of Bax by wortmannin sensitizes melanoma cells for TRAIL-induced apoptosis / S.-A. Quast, A. Berger, and J. Eberle // *Cell Death Dis.* – 2013. – Okt.; 4(10). P. 2344 – 45.
160. Ramanathan K. Neutrophil activation signature in juvenile idiopathic arthritis indicates the presence of low-density granulocytes / K. Ramanathan, A. Glaser, H. Lythgoe, J. Ong, M. W. Beresford, A. Midgley, H.L. Wright // *Rheumatology (Oxford).* – 2018;57(3): pp. 488–498.
161. Ramos, T. N ICAM-1: isoforms and phenotypes / TN Ramos, DC Bullard, SR Barnum // *J Immunol.* – 2014;192(10): pp. 4469–4474.
162. Renshaw, S. A. Acceleration of human neutrophil apoptosis by TRAIL / S. A. Renshaw, J. S. Parmar, V. Singleton, S. J. Rowe, D. H. Dockrell, S. K. Dower, C. D. Bingle, E. R. Chilvers, M. K. Whyte // *Immunol.* – 2003 Jan 15;170(2):1027–33.

163. Robeva, R. Androgen receptor (CAG)_n polymorphism and androgen levels in women with systemic lupus erythematosus and healthy controls / R Robeva, D Tanev, S Andonova, G Kirilov, A Savov, M Stoycheva, A Tomova, P Kumanov, R Rashkov, Z Kolarov // *Rheumatology International*. – 2013;33: pp. 2031–2038
164. Rodenas M. C. G Protein-Coupled Estrogen Receptor 1 Regulates Human Neutrophil Functions / M. C. Rodenas, N. Tamassia, I. Cabas, F. Calzetti, J. Meseguer, M. A. Cassatella, A. García-Ayala, V. Mulero // *Biomed Hub*. – 2017; 2:454981.
165. Salmon, M. The role of apoptosis in SLE / M. Salmon, C. Gordon *Reumatology*. – 1999; 38; pp. 1177–1183.
166. Sambo, P. Monocytes of patients with systemic sclerosis (scleroderma) spontaneously release in vitro increased amounts of superoxide anion / P. Sambo, L. Jannino, M. Candela // *J Invest Dermatol*. – 1999; 112: pp. 78—84.
167. Sambo, P. Oxidative stress in scleroderma: Maintenance of scleroderma fibroblast phenotype by the constitutive upregulation of reactive oxygen species generation through the NADPH oxidase complex pathway / P. Sambo, S. S. Baroni, M. Luchetti et al // *Arthritis Rheum*. – 2001; 44: pp. 2653—2664.
168. Sawako, Shindo. Serine 216 Phosphorylation of Estrogen Receptor α in Neutrophils: Migration and Infiltration into the Mouse Uterus / Sawako Shindo, Rick Moore, Masahiko Negishi // *PLoS One*. – 2013; 8(12): e84462.
169. Scapini, Patrizia. Social networking of human neutrophils within the immune system / Patrizia Scapini, Marco A. Cassatella // *Department of Pathology and Diagnostics, Section of General Pathology, School of Medicine, University of Verona – Verona, Italy., 2014 – 46.*
170. Scavuzzi, B. M. Increased lipid and protein oxidation and lowered anti-oxidant defenses in systemic lupus erythematosus are associated with severity of illness, autoimmunity, increased adhesion molecules, and Th1 and Th17 immune shift / B. M. Scavuzzi, A. N. C. Simão, T. M. V. Iriyoda, M. A. B. Lozovoy, N. P. Stadtlober, S. Franchi, T. Flauzino // *Immunol Res*. 2018 Feb;66(1): pp. 158–171.

171. Schwartzman-Morris, Julie. Gender Differences in the Pathogenesis and Outcome of Lupus and of Lupus Nephritis / Julie Schwartzman-Morris and Chaim Putterman // Clin Dev Immunol. – 2012; 2012: 604892.
172. Shah, D. Altered redox state and apoptosis in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus / D. Shah, S. Sah, A. Wanchu, MX Wu, A. Bhatnagar // Immunobiology. – 2013;218: pp. 620–627.
173. Shah, Dilip. Oxidative stress and its biomarkers in systemic lupus erythematosus / Dilip Shah, Nidhi Mahajan, Sangita Sah, Swapan K Nath, and Bishnuhari Paudyal // J Biomed Sci. – 2014; 21(1): p. 23.
174. Singh, Namrata. Genomic alterations in abnormal neutrophils isolated from adult patients with systemic lupus erythematosus / Namrata Singh, Pamela Traisak, Kayla A Martin, Mariana J Kaplan, Philip L Cohen, Michael F Denny // Arthritis Res Ther. – 2014. – Aug; 16(4) : p. 165.
175. Son, Chang-Nam. The relationship between anti-C-reactive protein and disease activity in patients with systemic lupus erythematosus / Chang-Nam Son, Tae-Han Lee, Ji-Hye Bang, Hye-Jin Jeong, Jin-Nyeong Chae, Won-Mok Lee, Ji-Min Kim, Sang-Hyon Kim // Korean J Intern Med. – 2017. – Mar; 065.
176. Srivastava, S. Role of enzymatic free radical scavengers in management of oxidative stress in autoimmunedisorders / S. Srivastava, D. Singh, S. Patel, M. R. Singh // Int J Biol Macromol. 2017 Aug;101: pp. 502–517
177. Starkebaum, G. Chronic neutropenia associated with autoimmune disease / G. Starkebaum // Semin Hematol. – 2002 Apr;39(2):121–7.
178. Stefanescu, M. Pycnogenol efficacy in the treatment of systemic lupus erythematosus patients / M. Stefanescu, C. Matache, A. Onu, S. Tanaseanu, C. Dragomir, I. Constantinescu, F. Schönlaue, P. Rohdewald, G. Szegli // Phytother Res. – 2001 Dec;15(8): pp. 698–704.
179. Stojkov D. ROS and glutathionylation balance cytoskeletal dynamics in neutrophil extracellular trap formation / D. Stojkov, P. Amini, K. Oberson, C. Sokollik, A. Duppenhaler, H. U. Simon, S. Yousefi // J Cell Biol. – 2017;216(12): pp. 4073–4090.

180. Stubelius, A. Ovarian hormones in innate inflammation / A. Stubelius, A. Andersson, U. Islander, H. Carlsten H // *Immunobiology*. – 2017 Aug; 222(8–9): pp. 878–883.
181. Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee: Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma) // *Arthritis Rheum*. – 1980. – 23. – pp. 581–590
182. Sun, L. Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in severe and refractory systemic lupus erythematosus / L. Sun, D. Wang, J. Liang, H. Zhang, X. Feng, H. Wang, B. Hua, B. Liu, S. Ye, Hu X, Xu W, Zeng X, Hou Y, G. S. Gilkeson, R. M. Silver, Lu L, Shi S // *Arthritis Rheum*. – 2010 Aug; 62(8):2467–75.
183. Sundqvist, M. Elevated Mitochondrial Reactive Oxygen Species and Cellular Redox Imbalance in Human NADPH-Oxidase-Deficient Phagocytes / M. Sundqvist, K. Christenson, H. Björnsdóttir, V. Osla, A. Karlsson, C. Dahlgren, D. P. Speert, A. Fasth, K. L. Brown, J. Bylund // *Front Immunol*. 2017 Dec 21; 8:1828.
184. Sylvain-Prévost, S. Activation of TAK1 by Chemotactic and Growth Factors, and Its Impact on Human Neutrophil Signaling and Functional Responses / S. Sylvain-Prévost, T. Ear, F. A. Simard, C. F. Fortin, C. M. Dubois, N. Flamand, P. P. McDonald // *J Immunol*. – 2015; 195(11): 5393–403.
185. Tecchio, C. IFN α -stimulated neutrophils and monocytes release a soluble form of TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL/Apo-2 ligand) displaying apoptotic activity on leukemic cells / C. Tecchio, V. Huber, P. Scapini, F. Calzetti, D. Margotto, G. Todeschini, L. Pilla, G. Martinelli, G. Pizzolo, L. Rivoltini, M. A. Cassatella // *Blood*. – 2004 May 15; 103(10):3837–44.
186. Tedeschi, Sara K. Sexual disparities in the incidence and course of SLE and RA / Sara K. Tedeschi, Bonnie Bermas, Karen H. Costenbader // *Clinical Immunology*. – 2013. – Volume. – 149. – Issue – 2. P. – pp. 211–218.

187. Thanadetsuntorn, C. The model of circulating immune complexes and interleukin-6 improves the prediction of disease activity in systemic lupus erythematosus / C. Thanadetsuntorn, P. Ngamjanyaporn, C. Setthaudom, K. Hodge, N. Saengpiya, P. Pisitkun // *Sci Rep*. 2018 Feb 8;8(1):2620.
188. Thieblemont, N Human neutrophils in autoimmunity / N Thieblemont, HL Wright, SW Edwards, V Witko-Sarsat // *Semin Immunol*. – 2016 Apr; 28(2):159–73.
189. Tiniakou, Eleni. Sex-specific environmental influences on the development of autoimmune diseases / Eleni Tiniakou, Karen H. Costenbader, Martin A. Kriegel // *Clin Immunol*. – 2013; 149(2): pp. 182–191.
190. Tipton, A. J. Sex differences in T cells in hypertension. / A. J. Tipton, J. C. Sullivan. // *Clin Ther*. – 2014. – Dec; 36(12) : pp. 1882–1900.
191. Tomczyńska M. The role of gender in the pathogenesis and development of autoimmune diseases / M. Tomczyńska, I. Salata, J. Saluk // *Pol Merkur Lekarski*. – 2016. – 29;41(243): pp. 150–155.
192. Tsilidis, K. K. Association between endogenous sex steroid hormones and inflammatory biomarkers in US men / KK Tsilidis, S Rohrmann, KA McGlynn, et. all // *Andrology*. – 2013;1: pp. 919–928.
193. Urowitz, M. B. The effect of menopause on disease activity in systemic lupus erythematosus / M. B. Urowitz, D. Ibañez, D. Jerome, D. D. Gladman // *J Rheumatol*. – 2006 Nov;33(11):2192–8.
194. Verneret, M. Relative Contribution of C1q and Apoptotic Cell-Surface Calreticulin to Macrophage Phagocytosis / M. Verneret, P. Tacnet-Delorme, R. Osman, R. Awad, A. Grichine, J.-P. Kleman, P. Frachet // *J Innate Immun*. – 2014. – Jun; 6(4) : pp. 426–434.
195. Verthelyi, D. / Disassociation of sex hormone levels and cytokine production in SLE patients / D. Verthelyi, M. Petri, M. Ylamus and D. M. Klinman // *Lupus*. – 2001. – №10, pp. 352–358
196. Volarevic, V. Interleukin–1 receptor antagonist (IL-1Ra) and IL-1Ra producing mesenchymal stem cells as modulators of diabetogenesis / V. Volarevic, A. Al-

- Qahtani, N. Arsenijevic, S. Pajovic, M. L. Lukic // *Autoimmunity*. – 2010 Jun;43(4):255–63.
197. Wang, C. H. Oxidative stress response elicited by mitochondrial dysfunction: implication in the pathophysiology of aging / C. H. Wang, S. B. Wu, Y. T. Wu, Y. H. Wei // *Exp Biol Med (Maywood)*. – 2013 May;238(5):450–60.
 198. Wang, X Neutrophil Chemotaxis in One Droplet of Blood Using Microfluidic Assays / X. Wang, D. Irimia // *Methods Mol Biol*. – 2018;1749: pp. 351–360.
 199. Wang, X. Purinergic Regulation of Neutrophil Function / X. Wang, D. Chen // *Front Immunol*. 2018 Mar 1;9:399.
 200. Wang, Xiaoliang. Necroptosis and neutrophil-associated disorders / Xiaoliang Wang, Shida Yousefi, and Hans-Uwe Simon // *Cell Death Dis.*–2018 Feb; 9(2): p. 111.
 201. Weidenbusch, M. The innate immune system in human systemic lupus erythematosus / M Weidenbusch, OP Kulkarni, HJ Anders // *Clin Sci (Lond)*. 2017 Apr 25; 131(8): pp. 625–634.
 202. Wieliczko, M Systemic lupus erythematosus – news 2017 / M. Wieliczko, J. Matuszkiewicz-Rowińska // *Wiad Lek*. 2017;70(6 pt 2): pp. 1201–1204.
 203. Yacoub Wasef SZ. Gender differences in systemic lupus erythematosus / Yacoub Wasef SZ // *Gend Med*. – 2004 Aug; 1(1):12–7.
 204. Yangsheng, Yu. Neutrophil Extracellular Traps and Systemic Lupus Erythematosus / Yu Yangsheng, Su Kaihong // *J Clin Cell Immunol*. – 2013 Apr; 4: p. 139.
 205. Yasui, K. Superoxide dismutase (SOD) as a potential inhibitory mediator of inflammation via neutrophil apoptosis / K. Yasui, N. Kobayashi, T. Yamazaki, K. Agematsu, S. Matsuzaki, S. Ito, S. Nakata, A. Baba, K. Koike // *Free Radic Res*. – 2005 Jul;39(7):755–62.
 206. Zaieni, S. H. Alternations of salivary antioxidant enzymes in systemic lupus erythematosus / S. H. Zaieni, Z. Derakhshan, R. Sariri // *Lupus*. – 2015 Nov;24(13):1400–5.

207. Zhang, Y. Endogenous sex hormones and C-reactive protein in healthy Chinese men / Y. Zhang, Y. Gao, A. Tan, et al // Clin Endocrinol. – 2013;78:1365–2265.
208. Zhao, T. The molecular basis for adhesion-mediated suppression of reactive oxygen species generation by human neutrophils / T. Zhao, V. Benard, B. P. Bohl, G. M. Bokoch // J. Clin. Invest. – 2003. – Vol. 112. – pp. 1732–1740.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

(информационное)

Таблица 2 - Клиническая характеристика больных системной красной волчанкой

Показатели	Число пациентов	
	абс.	%
Общее число больных	50	100,0
Возраст, годы	39,9 ± 11,3	
Пол		
мужчины	0	0
женщины	50	100
Индекс массы тела, кг/м ²		
<25,9	35	70
>25,9	15	30
Характеристика течения системной красной волчанки		
Длительность заболевания, годы	8,2 ± 7,4	
Возраст дебюта заболевания		
до 20 лет	2	4,0
20 - 50 лет	42	84,0
после 50 лет	6	12,0
Предшествующая госпитализация		
менее 1 года	22	44,0
1 – 3 года	19	38,0
3 – 5 лет	9	18,0
Варианты течения		
подострое	31	62,0
хроническое	19	38,0

Клинико-иммунологические варианты		
СКВ в пожилом возрасте	6	12,0
подострая кожная красная волчанка	9	18,0
антифосфолипидный синдром	7	14,0
Степень активности		
I	26	52,0
II	24	48,0
Клинические проявления		
конституциональные симптомы	11	22,0
поражение кожи	14	28,0
поражение суставов	33	66,0
поражение легких	4	8,0
поражение сердца	15	30,0
поражение почек	23	46,0
поражение нервной системы	6	12,0
феномен Рейно	9	18,0
тромбообразование	8	16,0
лимфаденопатия	16	32,0
васкулопатии	10	20,0
Лабораторные проявления		
анемия	16	32,0
лейкоцитоз	18	36,0
лейкопения	16	32,0
повышение СОЭ	17	34,0
положительный АНФ	48	96,0
антитела к - ДНК	17	34,0
LE-клеточный феномен	33	66,0
повышение уровня ЦИК	27	54,0
антитела к кардиолипину	6	12,0

Данные анамнеза		
артериальная гипертензия	29	58,0
нарушения ритма сердца		
- наджелудочковая экстрасистолия	5	10,0
- желудочковая экстрасистолия	8	16,0
- мерцательная аритмия	5	10,0
дислипопротеидемия	31	62,0
курение	2	4,0
заболевания щитовидной железы	7	14,0
заболевания желудочно-кишечного тракта	14	28,0
менопауза	36	72
постменопауза	14	28
Терапия		
НПВП	9	18,0
ГК	46	92,0
цитотоксические/цитостатические препараты	47	94,0
иммунодепрессанты	50	100,0
Конечные точки исследования		
Общая летальность	0	0
Повторная госпитализация <12 мес. после выписки	23	46,0

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

(информационное)

Таблица 3 - Клиническая характеристика больных системной склеродермией

Показатели	Число пациентов	
	абс.	%
Общее число больных	28	100,0
Возраст, годы (M $\pm$ SD)	45,5 $\pm$ 16,2 (18-72)	
Пол		
мужчины	0	0
женщины	28	100,0
Индекс массы тела, кг/м ²		
<25,9	24	85,7
>25,9	4	14,3
Характеристика течения системной склеродермии		
Длительность заболевания, годы 8,63 $\pm$ 5,21 (1-26)		
Предшествующая госпитализация		
менее 1 года	14	50,0
1 – 3 года	11	39,2
3 – 5 лет	3	10,7
Форма заболевания		
Диффузная	11	39,2
Лимитированная	17	60,8
Вариант течения		
Острое	0	0
Подострое	5	17,9
Хроническое	23	82,1

Стадия системной склеродермии		
I	0	0
II	28	100,0
III	0	0
Клинические проявления		
поражение сосудов	17	60,8
поражение сердца	21	75,0
поражение легких	9	32,1
поражение почек	3	10,7
поражение ЖКТ	8	28,6
поражение кожи	19	67,9
поражение мышц	4	14,3
поражение костей и суставов	15	53,6
поражение нервной системы	2	7,1
Данные анамнеза		
артериальная гипертензия	19	67,9
Наличие ИБС, в том числе перенесенный инфаркт миокарда	1	3,6
нарушения ритма сердца		
наджелудочковая экстрасистолия	6	21,4
желудочковая экстрасистолия	9	32,1
пароксизмальная мерцательная аритмия	3	10,7
постоянная мерцательная аритмия	0	0
дислипотеидемия	12	42,9
курение	0	0
пременопауза	11	40
постменопауза	17	60
Терапия		
Блокаторы медленных кальциевых	27	96,4

каналов		
Ангиопротекторы	24	85,7
НПВП	4	14,3
ГК	17	60,7
Цитостатики	1	3,6
Аминохинолины	1	3,6
Антиагреганты/ антикоагулянты	2	7,1
Ингибиторы АПФ	4	14,3
Конечные точки исследования		
Общая летальность	0	0
Повторная госпитализация <12 мес. после выписки	12	42,9

ПРИЛОЖЕНИЕ В

(информационное)

Таблица 9 - Функциональная неоднородность нейтрофилов и активность СКВ, Ме (Q25–Q75)

Показатель	Контроль (n=25)	Активность I			Активность II		
		Низкая ФА нейтрофилов (n=6)	Средняя ФА нейтрофилов (n=15)	Высокая ФА нейтрофилов (n=5)	Низкая ФА нейтрофилов (n=5)	Средняя ФА нейтрофилов (n=11)	Высокая ФА нейтрофилов (n=8)
иХЛлл, 10 ⁴ , имп/мин	1,1 (0,2-3,0)	0,85 (0,1-1,3)	1,0 (1,0-3,2)	1,3 (1,0-4,8)	0,6 (0,3-0,6)	1,0 (1,0-4,0)	12,5 (0,6-20,5)
сХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,55 (0,2-1,1)	0,25 (0,1-0,5)	1,5* (0,5-3,0)	1,3 (0,8-1,6)	0,4 (0,4-0,5)	2,0* (0,9-2,8)	2,1 (1,3-2,9)
иХЛлн, 10 ⁴ , имп/мин	0,3 (0,1-0,9)	0,1* (0,1-0,4)	1,0 (0,3-1,0)	1,0 (0,5-1,2)	0,1* (0,1-0,1)	1,0 (0,7-1,0)	0,9 (0,5-1,0)
КА ХЛлл, Ед	1,69 (0,9-3,3)	1,81 (1,0-11)	1,0 (0,2-1,4)	0,15 (0,03-4,8)	1,5 (0,9-3,0)	0,59* (0,3-1,0)	1,4 (0,04-1,5)
КА ХЛлн, Ед	0,75 (0,3-1,5)	0,66 (0,2-2,0)	0,55 (0,3-1,0)	0,75 (0,71-0,75)	0,25 (0,2-1,0)	0,5 (0,4-1,0)	0,36 (0,2-0,6)
NO ₃ /NO ₂ , мкМ/л	3,6 (3,3-4,1)	2,65 (1,6-5,0)	1,5* (1,0-2,5)	0,62 (0,5-1,4)	2,5 (2,0-3,6)	1,35* (0,8-2,2)	1,65 (1,0-2,3)

Примечание:* - $p < 0,05$ по сравнению с контролем