



Н. Е. Личковська, В. В. Чоп'як, З. Д. Воробець

Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького

Патогенетичні механізми виникнення ревматоїдного артриту та анкілозивного спондиліту за участю активізаційно- ензиматичних і фенотипічних особливостей лімфоцитів

Вступ. Упродовж останніх років спостерігається тенденція до зростання чисельності хворих із запальними хворобами суглобів. Значна поширеність запальних хвороб суглобів, тенденція до неухильного наростання їх важкості, високі показники внаслідок цього тимчасової втрати працездатності та інвалідності, особливо осіб середнього працездатного віку, визначають вагомє медико-соціальне значення цих хвороб. У структурі запальних хвороб суглобів вагомє місце посідають ревматоїдний артрит (РА) та анкілозивний спондиліт (АС) [8, 10].

РА – одне з найпоширеніших системних захворювань сполучної тканини нез'ясованої етіології, патологічний процес за наявності якого характеризується генералізованим аутоімунним запаленням, у результаті чого виникають ураження суглобів і широкий спектр позасуглобових системних проявів та метаболічних порушень. 0,50–2,00 % населення земної кулі страждає на РА. Щорічна захворюваність становить близько 0,02 %, впродовж наступних 10 років 50,00 % пацієнтів втрачають працездатність, із них 20,00 % стають прикутими до ліжка, потребуючи постійного стороннього догляду [2, 8, 12].

АС – хронічне системне запальне захворювання сполучної тканини з переважним ураженням суглобів і зв'язок хребта, а також периферійних суглобів, в основі якого лежить системна дезорганізація сполучної тканини внаслідок виражених аутоімунних змін в організмі й яке характеризується хронічним із наростанням важкості перебігом патологічного процесу. Поширеність АС в різних країнах становить 0,10–0,80 % [7].

На сучасному етапі РА та АС розглядають як захворювання, що мають в основі імунні порушення.

Відомо, що лімфоцити крові є ключовими клітинами імунної системи, що відіграють провідну роль у забезпеченні компенсаторно-приспосувальних реакцій організму. Оскільки внутрішньоклітинний метаболізм лімфоцитів ґрунтується на фізіологічно закріпленій здатності цих клітин швидко реагувати на будь-які зміни гомеостазу в організмі, то модуляція активності ензимів у лімфоцитах настає значно раніше, ніж змінюються їх морфологічні показники [4]. Показано, що лімфоцити периферійної крові можуть бути зручною й адекватною моделлю для вивчення патофізіологічних і патоморфологічних змін, які відбуваються за наявності низки захворювань [1, 9].

Різноманітність вісцеральних проявів запальних захворювань свідчить про участь універсальних механізмів реалізації системного патологічного процесу за участю поліпотентних месенджерів, які володіють мультифункціональними ефектами. До таких універсальних месенджерів належать оксид азоту (NO), йони кальцію Ca^{2+} (Ca^{2+}), які прямо чи опосередковано регулюють різноманітні фізіолого-біохімічні процеси. Дослідження останніх десятиріч у галузі біохімії та фізіології свідчать, що прецизійний контроль (NO) і (Ca^{2+}) забезпечується функціонуванням ензиматичних систем клітини. Серед останніх провідна роль у підтриманні NO- та йонного гомеостазу клітини належить NO-синтазі, аргіназі та АТФ-азам. Проте, незважаючи на значну кількість досліджень, присвячених вивченню ензиматичного спектра лімфоцитів, функціональна активність їх аргіназо-NO-синтазної та АТФ-азних систем вивчена недостатньо, а патофізіологічні та імунні механізми їх дисфункції не з'ясовані.

Саме тому розв'язання цих питань сприятиме визначенню нових ланок патогенезу запальних захво-

рювань, поліпшенню якості ранньої діагностики патологічного процесу, розробленню критеріїв прогнозування перебігу хвороби та ефективності фармакотерапії.

Мета дослідження. З'ясувати патофізіологічні механізми виникнення ревматоїдного артриту й анкілозивного спондиліту за участю аргіназо-NO-синтазної та АТФ-гідролазних систем лімфоцитів крові та клітинної ланки імунітету.

Матеріали й методи дослідження. Після отримання письмової згоди на проведення комплексного обстеження відповідно до принципів Гельсінкської декларації прав людини, Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину та відповідних законів України, а також комплексного клінічно-лабораторного й інструментального обстеження всіх органів і систем згідно з вимогами сучасної медицини у рандомізований спосіб у дослідження залучено 86 хворих (48 жінок (56,0 %) і 38 чоловіків (44,0 %) віком від 18 до 56 років), які перебували на стаціонарному лікуванні у ревматологічному відділі КЗ ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня» в 2012–2015 рр. із попередньою стратифікацією за наявністю у 50 хворих РА (39 жінок (78,0 %) і 11 чоловіків (22,0 %) віком від 18 до 56 років із діагнозом «Ревматоїдний артрит: поліартрит; серопозитивний варіант, anti-CCP (+); хронічний перебіг; із ураженням дрібних суглобів кистей, стіп, променезап'ясткових, колінних суглобів; Rtg II стадії; ФНС II ступеня») та у 36 хворих АС (9 жінок (25,0 %) і 27 чоловіків (75,0 %) із діагнозом «Анкілозивний спондиліт: акт. II ступеня; центральна форма; хронічний перебіг; із ураженням ілеосакральних з'єднань, кульшових, плечових суглобів, шийного відділу хребта; Rtg II стадія; ФНС II ступеня»).

Діагноз РА і АС поставлено згідно з наказом Міністерства охорони здоров'я України № 762 від 20.11.2015 р. «Про надання медичної допомоги хворим ревматологічного профілю», наказом № 263 від 11.04.2014 р. У дослідження включали хворих, у яких не було супутніх уражень сполучної тканини запального характеру, інших запальних захворювань, онкологічних хвороб на момент початку дослідження. Групу контролю сформували з практично здорових осіб ($n = 30$), репрезентативних за статтю і віком (57,0 % жінок, 43,0 % чоловіків, середній вік – $37,9 \pm 2,2$ року).

Моноядерні лімфоцити периферійної крові людини виділяли з гепаринізованої свіжоотриманої крові у градієнті густини фікол-тріумбразу [11]. Життєздатність лімфоцитів, яка в усіх дослідах становила не менше 95,0 %, оцінювали за забарвленням трипановим синім. Для пермеабілізації мембран лімфоцитів крові та розкриття латентної ензиматичної активності до суспензії лімфоцитів додавали 0,1–0,3 % сапонін [1, 5].

Кількість популяцій і субпопуляцій лімфоцитів фіксували методом непрямой імуофлуоресцентної реакції з моноклональними антитілами до диферен-

ційованих антигенів поверхні клітини. Фагоцитарну активність нейтрофілів щодо поглинальної здатності визначали методом, що ґрунтується на ендцитозі фагоцитами часток латексу, які віалізуються у цитоплазмі клітин у вигляді круглих синіх гранул [3, 6].

Активність NO-синтази визначали за специфічним розщепленням NADPH(H^+), активність аргінази лімфоцитів крові – за утворенням сечовини, Ca^{2+} , Mg^{2+} - і Na^+ , K^+ -АТФазу активність лімфоцитів крові – спектрофотометрично, реєструючи процес гідролізу АТФ за накопиченням P_i , вміст протеїну в лімфоцитарній суміші – за модифікованим методом О. Лоурі.

Варіаційно-статистичне опрацювання результатів дослідження здійснювали з використанням програмного пакета для персональних комп'ютерів Microsoft Excel. Достовірність змін з'ясовували за t -критерієм Стьюдента. Критичні показники достовірності під час перевірки статистичних гіпотез у дослідженнях брали рівними 0,95, 0,99 і 0,999. Для оцінки міри залежності між досліджуваними параметрами використовували кореляційний аналіз за К. Пірсоном.

Результати дослідження та їх обговорення. *Характеристика стану клітинної ланки імунітету за умов запальних уражень суглобів.* Беручи до уваги характеристику стану клітинної ланки імунітету за умов запального ураження суглобів, слід зазначити, що всі гіпотези щодо патогенезу РА сконцентровані навколо двох концепцій – Т-клітинно-цитокінової та неімунної. З огляду на це актуальним є вивчення клітинної ланки імунітету у хворих на РА та АС.

Загальний вміст лейкоцитів у крові хворих, яким діагностовано РА і АС, незважаючи на деяке збільшення, статистично не відрізняється від референтних показників у осіб контрольної групи (табл. 1).

У хворих на РА, порівняно з хворими на АС і здоровими особами, більш виражене зменшення кількості лімфоцитів за рахунок основних популяцій Т- і В-лімфоцитів ($p \leq 0,05$). У хворих на АС, порівняно з хворими на РА, вірогідно більша абсолютна кількість Т-цитотоксичних $CD8^+$ -лімфоцитів ($p \leq 0,05$) за наявності однакового числа $CD4^+$ -лімфоцитів ($p \geq 0,05$). Так, у хворих на РА абсолютне число $CD8^+$ -лімфоцитів було в 1,3 разу більшим, ніж у хворих на АС ($p \leq 0,05$). Порівняльний аналіз субпопуляційного складу Т-лімфоцитів і значення імунорегуляторного індексу (ІРІ) показав, що у хворих на РА значення ІРІ вірогідно більше, ніж у хворих на АС ($p \leq 0,05$). Це може свідчити про те, що у хворих на РА, порівняно з хворими на АС, більш виражене порушення гуморальних механізмів автоагресії за Т-хелперним механізмом. Водночас у хворих на РА активніше функціонували В-лімфоцити, що продукують автоагресивні антитіла. Так, абсолютна кількість $CD19^+$ -лімфоцитів у них була в 1,35 разу більша, ніж у хворих на АС ($p \leq 0,05$).

Таблиця 1

Особливості фенотипування лімфоцитів у хворих на ревматоїдний артрит і анкілозивний спондиліт
(n; M±m; p)

Показник	Групи		
	Здорові особи, n = 20	Хворі на РА, n = 48	Хворі на АС, n = 30
	M ± m	M ± m	M ± m
Лейкоцити, Г/л	7,21 ± 2,01	10,20 ± 3,51	7,32 ± 3,21 #
CD 45 ⁺	%	34,53 ± 1,20	21,94 ± 2,62
	Г/л	2,10 ± 0,23	2,29 ± 0,43
CD3 ⁺	%	75,77 ± 1,27	68,80 ± 1,03
	Г/л	1,60 ± 0,19	1,45 ± 0,05
CD3 ⁺ CD4 ⁺	%	34,23 ± 1,31	45,11 ± 2,76 *
	Г/л	0,63 ± 0,07	0,73 ± 0,09 *
CD3 ⁺ CD8 ⁺	%	22,15 ± 1,03	18,90 ± 1,63 *
	Г/л	0,46 ± 0,07	0,31 ± 0,04 *
CD16 ⁺ CD56 ⁺	%	9,96 ± 1,69	14,9 ± 1,77 *
	Г/л	0,21 ± 0,05	0,36 ± 0,08 *
CD19 ⁺	%	10,66 ± 2,43	13,15 ± 1,35
	Г/л	0,21 ± 0,01	0,35 ± 0,08
IRI		1,79 ± 0,03	1,89 ± 0,05 *
CD3 ⁺ /CDHLA-DR ⁺	%	6,70 ± 0,92	12,51 ± 1,07 *
	Г/л	0,12 ± 0,02	0,20 ± 0,02 *
CD3 ⁺ /CDHLA-DR ⁺	%	16,10 ± 1,71	18,17 ± 1,17
	Г/л	0,26 ± 0,07	0,28 ± 0,04
CD4 ⁺ /CD 25 ⁺	%	15,03 ± 1,43	18,19 ± 1,08 *
	Г/л	0,32 ± 0,05	0,38 ± 0,04
CD4 ⁺ /CD 25 ⁺	%	16,37 ± 2,56	17,19 ± 1,08
	Г/л	0,10 ± 0,04	0,38 ± 0,04 *

Примітки: * – p < 0,05 щодо величин у осіб групи контролю; # – p < 0,05 щодо величин у хворих на РА.

У хворих на РА, порівняно з хворими на АС, верифіковано вірогідно більшу абсолютну та відносну кількість CD16⁺/CD56⁺-клітин, що може вказувати на участь цих природних кілерних клітин у формуванні клітинно-опосередкованої цитотоксичної автоагресії.

У хворих на РА та АС, порівняно з особами контрольної групи, виявлено більшу абсолютну кількість CD3⁺/CDHLA-DR⁺-лімфоцитів. Такі активовані В-лімфоцити можуть продукувати не тільки різні типи цитотоксичних антитіл, а й широкий спектр медіаторів із цитотоксичними властивостями, що дозволяє цим клітинам здійснювати імунологічний нагляд, тобто чинити цитотоксичну дію на «клітини-мішені» (в нашому випадку – автоагресію).

У хворих на РА, порівняно з хворими на АС, у периферійній крові виявлено більшу відносну та абсолютну кількість активованих лімфоцитів, на поверхні яких були експресовані маркери пізньої активації (CD3⁺/CDHLA-DR⁺). Так, у хворих на РА кількість CD3⁺/CDHLA-DR⁺ була в 1,25 разу більша (p < 0,05), ніж у хворих на АС. Окрім цього, у хворих на АС, порівняно із хворими на РА, виявлено вірогідно більшу кількість клітин із супресивною активністю (CD4⁺/

CD25⁺). Так, у хворих на РА число вказаних клітин було в 1,9 разу більшим, ніж у хворих на АС (p < 0,05). Лімфоцити із вказаною фенотипічною характеристикою виступають маркерами посиленого імунозалежного запального процесу.

Функціональний стан Т-лімфоцитів оцінювали за допомогою верифікації регуляторних лімфоцитів (CD4⁺/CD25⁺), які пригнічують автоімунні процеси й здатні супресувати активність інших клітин, насамперед – Т-лімфоцитів. Ці клітини обмежують інтенсивність будь-яких імунних реакцій, запобігаючи формуванню автоагресії. Вони, власне, формують високодозовану толерантність, блокуючи ефекторну ланку імунної системи. Дослідження показали, що у хворих на РА число CD4⁺/CD25⁺-лімфоцитів в 1,4 разу більше, ніж у хворих на АС. Регуляторні лімфоцити CD4⁺/CD25⁺ послаблюють інтенсивність імунної реакції, спрямованої на масивне ушкодження власних клітин. Отже, ми з'ясували, що інтенсивність автоагресії була більш вираженою у хворих на РА.

Таким чином, у хворих на РА, порівняно з хворими на АС, виявлено більш виражені набуті імунодефіцитні порушення автоімунного генезу. У хворих на РА формувалася змішаний клітинно-гуморальний механізм автоагресії, тоді як у хворих на АС домінував гуморальний механізм автоагресії, вираженість якого значно менша. У хворих на РА, порівняно з хворими на АС, виявлено більш виражену імунозалежну автоагресію, на що вказувала вірогідно висока кількість активованих лімфоцитів (CD3⁺/CDHLA-DR⁺, CD25⁺) з малою кількістю регуляторних лімфоцитів CD4⁺/CD25⁺.

Характеристика NO-синтазної активності лімфоцитів крові пацієнтів із запальним ураженням суглобів. Відомо, що синтази оксиду азоту продукують NO в невеликій кількості під дією чинників, які діють або через рецептори, або незалежно від них. Водночас активність NO-синтаз виявляється не лише за умов фізіологічної норми, але й за наявності різних патологічних процесів.

У результаті проведених досліджень доведено, що в лімфоцитах крові практично здорових осіб NO-синтазна активність становила (74,6 ± 6,4) нмоль NADPH(H⁺)/хв на 1,0 мг протеїну (рис. 1). Оскільки іNOS за фізіологічної норми організму практично відсутня, можна стверджувати, що ця активність відповідає активності eNOS. У хворих на РА активність eNOS лімфоцитів крові статистично достовірно відрізнялась від показників у осіб контрольної групи і становила (48,6 ± 8,3) нмоль NADPH(H⁺)/хв на 1,0 мг протеїну, тобто показник eNOS активності у них достовірно (p < 0,05) менший на (34,9 ± 7,8) %, ніж у практично здорових осіб. Водночас активувалася іNOS, яка в цій групі осіб становила (90,1 ± 14,3) нмоль NADPH(H⁺)/хв на 1,0 мг протеїну. У хворих на АС ензиматична активність eNOS також менша, ніж у здорових осіб і становила (42,2 ± 4,35) нмоль NADPH(H⁺)/хв на 1,0 мг протеїну, тобто показник eNO-синтазної активності у них достовірно (p < 0,001) менший на (43,4 ±

6,2) % порівняно з практично здоровими особами. Одночасно активність iNOS дорівнювала ($64,2 \pm 6,2$) нмоль NADPH(H⁺)/хв на 1,0 мг протеїну.

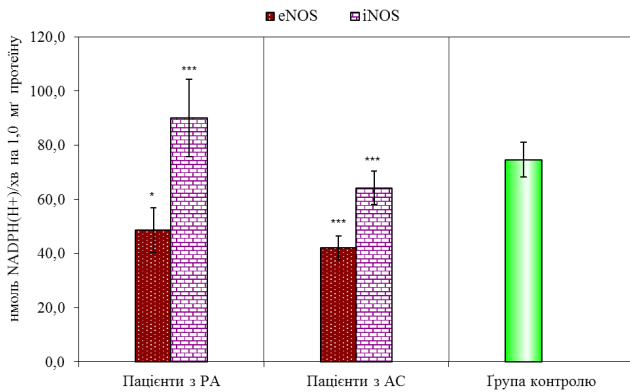


Рис. 1. NO-синтазна активність лімфоцитів крові пацієнтів з ревматоїдним артритом ($n = 50$) і анкілозним спондилітом ($n = 36$) та осіб групи контролю ($n = 30$), $M \pm m$.

Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ щодо величин у лімфоцитах крові осіб групи контролю.

Проте патофізіологічні механізми, що призводять до змін активності NO-синтазної системи, остаточно не з'ясовані. Шляхом лінеаризації отриманих залежностей активності eNOS та iNOS від концентрації субстрату в координатах Х. Лайнуївера – Д. Берка визначено основні кінетичні параметри NO-синтазної реакції лімфоцитів крові здорових осіб і пацієнтів з РА та АС. З'ясовано, що інгібування активності eNOS відбувалося за рахунок зниження числа обертів ензиму (максимальна швидкість NO-синтазної реакції знижувалася, а константа афінності NOS до аргініну не змінювалася). Синтез NO в лімфоцитах крові пацієнтів із запальними захворюваннями суглобів здійснювався, головним чином, індукційною формою NO-синтази, а за нормальних фізіологічних умов – за участю ендотеліальної форми ензиму.

Характеристика аргіназної активності лімфоцитів крові пацієнтів із запальним ураженням суглобів. У результаті проведених досліджень визначено, що активність аргінази лімфоцитів периферійної крові в осіб групи контролю становила ($106,0 \pm 6,7$) нмоль сечовини/хв на 1,0 мг протеїну (рис. 2).

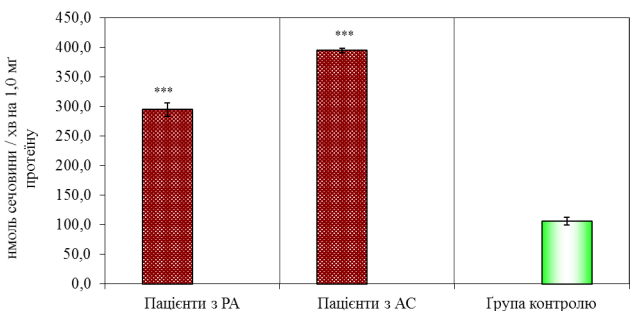


Рис. 2. Активність аргінази лімфоцитів крові пацієнтів з РА ($n = 50$) і АС ($n = 36$) та осіб групи контролю ($n = 30$), $M \pm m$.

Примітка. *** – $p < 0,001$ щодо величин у лімфоцитах крові осіб групи контролю.

У пацієнтів з РА активність аргінази лімфоцитів периферійної крові істотно відрізнялася від показників у осіб групи контролю і становила ($295,0 \pm 11,6$) нмоль сечовини/хв на 1,0 мг протеїну, тобто показник аргіназної активності був більший ($p < 0,001$) на ($178,3 \pm 22,3$) %, ніж у практично здорових осіб. У пацієнтів із АС активність аргінази посилювалася більш суттєво і становила ($395,0 \pm 3,9$) нмоль сечовини/хв на 1,0 мг протеїну, тобто показник аргіназної активності у них був більший ($p < 0,001$) на ($272,6 \pm 30,2$) %, ніж у осіб групи контролю. Посилення аргіназної активності лімфоцитів свідчило про зміни функціональної активності в лімфоцитах крові, зокрема, про активацію неокисного шляху метаболізму *L*-аргініну. Ці зміни можуть бути опосередкованими через інші регуляторні механізми клітини (йони Ca²⁺, цАМФ) та свідчити про порушення метаболічних процесів у імунокомпетентних клітинах крові.

Доведено, що в разі запального ураження суглобів посилення активності аргінази відбувається за рахунок збільшення кількості обертів ензиму (максимальна швидкість аргіназної реакції зростає). Водночас константа афінності аргінази лімфоцитів крові пацієнтів з РА та АС до *L*-аргініну зростає.

Характеристика Ca²⁺, Mg²⁺-АТФазної активності лімфоцитів крові пацієнтів із запальним ураженням суглобів. Зміни активності мембрано-зв'язаних ензимів, зокрема АТФазних систем, можуть бути як віддзеркаленням різноманітних змін у біологічних мембранах за наявності патологічних процесів, так і причиною змін стану біологічних мембран і клітини загалом. Ca²⁺, Mg²⁺-АТФазна активність плазматичної мембрани і мембран ендоплазматичного ретикулуму (ЕПР) лімфоцитів крові практично здорових осіб становила ($2,97 \pm 0,26$) і ($2,25 \pm 0,17$) мкмоль P_i/хв на 1,0 мг протеїну відповідно (рис. 3, а, б).

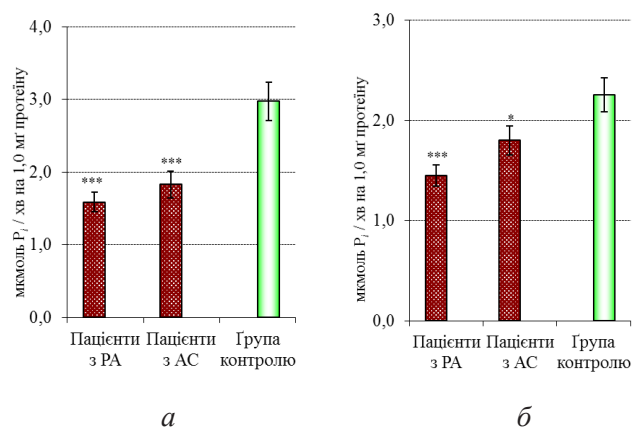


Рис. 3. Ca²⁺, Mg²⁺-АТФазна активність плазматичної мембрани (а) та мембран ендоплазматичного ретикулуму (б) лімфоцитів крові пацієнтів з РА ($n = 50$) і АС ($n = 36$) і осіб групи контролю ($n = 30$), $M \pm m$.

Примітка. * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$ щодо величин у лімфоцитах крові осіб групи контролю.

У пацієнтів з РА $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФазна активність плазматичної мембрани та мембран ЕПР лімфоцитів крові статистично достовірно відрізнялася від аналогічних показників у осіб контрольної групи й становила ($1,58 \pm 0,14$) і ($1,45 \pm 0,10$) мкмоль $\text{P}_i/\text{хв}$ на 1,0 мг протеїну відповідно. Показник $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФазної активності плазматичної мембрани і мембран ЕПР лімфоцитів крові пацієнтів з РА менший на ($46,8 \pm 5,7$) % ($p < 0,001$) і ($35,6 \pm 4,8$) % ($p < 0,001$) відповідно порівняно з практично здоровими особами. Пригнічення АТФ-гідролазної активності $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази плазматичної мембрани лімфоцитів крові було більш виражене, ніж $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази мембран ЕПР.

В іншій досліджуваній групі (пацієнти з АС) зафіксовано дещо менше відхилення значень $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФазної активності щодо практично здорових осіб. Так, $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФазна активність плазматичної мембрани та мембран ЕПР лімфоцитів крові була нижчою відповідно на ($39,4 \pm 6,4$) % ($p < 0,001$) й ($20,0 \pm 3,8$) % ($p < 0,001$), ніж у практично здорових осіб, і становила ($1,8 \pm 0,2$) і ($1,8 \pm 0,1$) мкмоль $\text{P}_i/\text{хв}$ на 1,0 мг протеїну. Зниження $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФазної активності плазматичної мембрани і мембран ЕПР лімфоцитів крові пацієнтів з РА та АС свідчило про збільшення $[\text{Ca}^{2+}]_i$ у цитозолі кількості лімфоцитів.

Інгібування активності $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази відбувається як за рахунок зменшення кількості обертів ензиму (максимальна швидкість Ca^{2+} -активованої АТФазної реакції зростає), так і за рахунок зниження афінності $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази до субстрату.

Характеристика Na^+, K^+ -АТФазної активності лімфоцитів крові пацієнтів із запальним ураженням суглобів. Na^+, K^+ -АТФазна активність лімфоцитів практично здорових осіб становила ($6,3 \pm 0,4$) мкмоль $\text{P}_i/\text{хв}$ на 1,0 мг протеїну (рис. 4). У пацієнтів з РА Na^+, K^+ -АТФазна активність лімфоцитів крові статистично достовірно відрізнялася від цієї величини у практично здорових осіб і становила ($3,6 \pm 0,3$) мкмоль $\text{P}_i/\text{хв}$ на 1,0 мг протеїну. У пацієнтів із АС гідролазна активність Na^+, K^+ -АТФази лімфоцитів крові також статистично достовірно відрізнялася від величини у практично здорових осіб і становила ($3,8 \pm 0,3$) мкмоль $\text{P}_i/\text{хв}$ на 1,0 мг протеїну, тобто показник Na^+, K^+ -АТФазної активності лімфоцитів крові пацієнтів з РА та АС був меншим на ($42,8 \pm 7,2$) % ($p < 0,001$) і ($39,7 \pm 6,5$) % ($p < 0,001$) відповідно порівняно з практично здоровими особами. Зниження гідролазної активності Na^+, K^+ -АТФази у пацієнтів із АС мало менш виражений характер, ніж у пацієнтів з РА.

За умов виникнення запального ураження суглобів інгібування активності Na^+, K^+ -АТФази відбувається не за рахунок зменшення числа обертів ензиму (максимальна швидкість гідролізу АТФ пацієнтів з РА та АС і осіб контрольної групи майже однакова), а внаслідок зниження афінності Na^+, K^+ -АТФази до АТФ (константа афінності зростає).

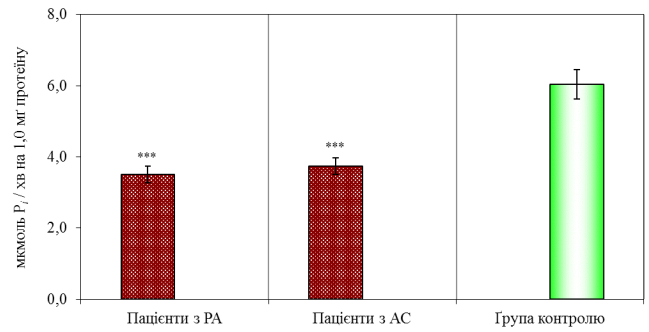


Рис. 4. Активність Na^+, K^+ -АТФази лімфоцитів крові пацієнтів з ревматоїдним артритом ($n = 50$) і анкілозним спондилітом ($n = 36$) та осіб групи контролю ($n = 30$).

Примітка. *** – $p < 0,001$ щодо величин у лімфоцитах крові осіб групи контролю.

Ми запропонували гіпотетичну модель (рис. 5), яка ілюструє причинно-наслідкові зв'язки між порушенням аргіназо-NO-синтазної, АТФазних систем і дисфункцією лімфоцитів у пацієнтів із запальним ураженням суглобів.



Рис. 5. Схема причинно-наслідкових зв'язків між порушенням аргіназо-NO-синтазної, АТФазних систем та дисфункцією лімфоцитів у пацієнтів із ревматоїдним артритом і анкілозним спондилітом.

У результаті досліджень виявлено зміни активності аргіназо-NO-синтазної системи лімфоцитів крові, порушення функціональної активності клітин фагоцитарної системи та зміну співвідношень субпопуляцій Т-лімфоцитів у пацієнтів із запальними захворюваннями суглобів. Зростання активності iNOS у цих пацієнтів супроводжується компенсаторним інгібуванням активності ендотеліальної ізоформи NOS. Значна активація iNOS активності призводить до надлишкового утворення NO в лімфоцитах крові. NO у високих концентраціях ініціює процеси оксидативного та нітрозивного стресу, внаслідок чого порушується прооксидантно-антиоксидантна рівновага. Відбувається активація апоптичних механізмів та ініціація деструктивних процесів у клітинах, а отже, наростає дисфункція. Водночас пригнічення активності АТФазних систем свідчить про перевантаження цитозолу лімфоцитів йонами Na^+ і Ca^{2+} та пору-

шення йонного гомеостазу, що спричинює виникнення клітинних порушень.

Висновки. У хворих на ревматоїдний артрит унаслідок зменшеної кількості Т-цитотоксичних лімфоцитів вірогідно збільшується кількість Т-хелперів, натуральних кілерних клітин, активованих і регуляторних Т-лімфоцитів, клітин із супресивною активацією, що вказує на активацію клітинної ланки автоагресії з включенням регуляторних механізмів, а у хворих на анкілозивний спондиліт відбувається активація натуральних кілерних клітин, активованих Т-лімфоцитів, лімфоцитів із супресивною активацією та зниження числа регуляторних лімфоцитів, що свідчить про посилення імунологічного запального процесу.

Більш виражені зміни хелперно-цитотоксичних ($CD4^+$ і $CD8^+$), активованих ($CD3^+/CDHLA-DR^+$), супресивних ($CD4^+/CD25^+$) Т-лімфоцитів і В-лімфоцитів ($CD19^+$), регуляторних клітин ($CD4^+/CD25^+$) верифіковані у хворих на ревматоїдний артрит, порівняно з хворими на анкілозивний спондиліт, що свідчить про наявність більш потужної імунозалежної автоагресії у хворих на ревматоїдний артрит.

Порушення клітинної ланки імунітету супроводжується пригніченням активності ендотеліальної NO-синтази лімфоцитів крові пацієнтів із ревматоїдним артритом на $34,9 \pm 7,8\%$ ($p < 0,05$), у пацієнтів із анкілозивним спондилітом – на $43,4 \pm 6,2\%$ ($p < 0,001$) порівняно з практично здоровими особами із одночасною активацією її індукційної ізоформи.

Активність аргінази лімфоцитів крові пацієнтів із ревматоїдним артритом зростає на $178,3 \pm 22,3\%$ ($p < 0,001$), з анкілозивним спондилітом – на $272,6 \pm 30,2\%$ ($p < 0,001$) порівняно з практично здоровими особами.

Порушення синтезу NO супроводжується пригніченням активності Ca^{2+}, Mg^{2+} -АТФази плазматичної мембрани лімфоцитів крові пацієнтів із ревматоїдним артритом (знижується на $46,8 \pm 5,7\%$ ($p < 0,001$)), у пацієнтів із анкілозивним спондилітом – на $39,4 \pm 6,4\%$ ($p < 0,001$); активність Ca^{2+}, Mg^{2+} -АТФази мембран ендоплазматичного ретикулулу лімфоцитів крові пацієнтів у обох випадках знижується на $35,6 \pm 4,8\%$ ($p < 0,001$) і $20,0 \pm 3,8\%$ ($p < 0,05$) відповідно; активність Na^+, K^+ -АТФази лімфоцитів крові у них знижується на $42,8 \pm 7,2\%$ ($p < 0,001$) і $39,7 \pm 6,5\%$ ($p < 0,001$) відповідно порівняно з практично здоровими особами).

Зміни активності аргіназо-NO-синтазної та АТФазних систем лімфоцитів крові у пацієнтів із ревматоїдним артритом більш виражені, ніж у пацієнтів із анкілозивним спондилітом, однак найчутливішим параметром є активність iNOS, що свідчить про визначальну роль порушень у цій регуляторній системі для формування та наростання запального ураження суглобів.

Список літератури

1. Воробець ДЗ. Активність іон-транспортних систем лімфоцитів периферичної крові у чоловіків з еректильною дисфункцією та можливість її корекції. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2011;1:36-42 (Vorobets DZ. Activity of ion-transport systems of peripheral blood lymphocytes in men with erectile dysfunction and the possibility of its correction. Experimental and Clinical Physiology and Biochemistry. 2011;1:36-42) (Ukrainian).
2. Коваленко ВМ, Корнацький ВМ. Демографія і стан здоров'я народу України: аналітично-статист. посіб. Національний науковий центр «Інститут кардіології ім. М. Д. Стражеска». К., 2010. 143 с. (Kovalenko VM, Kornatsky VM. Demography and state of health of the people of Ukraine: analytical and statistical manual. National Research Center "M.D. Strazhesko Institute of Cardiology". Kyiv, 2010. 143 p.) (Ukrainian).
3. Лаповець Л, Луцьк Б. Лабораторна імунологія. К.: Арал, 2004. 173 с. (Lapovets L, Lutsyk B. Laboratory Immunology. Kyiv: Aral, 2004. 173 p.) (Ukrainian).
4. Луговський СП. Зміни активності ферментного спектра лімфоцитів периферичної крові при свинцевій інтоксикації (цитохімічне дослідження). Лабораторна діагностика. 2002;2:29–32 (Lugovsky SP. Changes in the activity of the enzyme spectrum of peripheral blood lymphocytes in lead intoxication (cytochemical study). Laboratory Diagnostics. 2002;2:29-32) (Ukrainian).
5. Підковка НО, Воробець ЗД, Зіменковський АБ. Дослідження деяких властивостей АТФаз у лімфоцитах крові людини. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2002;7(1):38–41 (Porkovna NO, Vorobets ZD, Zimenkovsky AB. Investigation of some ATPase properties in human lymphocytes. Experimental and Clinical Physiology and Biochemistry. 2002;7(1):38-41) (Ukrainian).
6. Прилуцький АС, Лесниченко ДА, Майлян ЭА. Метод определения интенсивности фагоцитоза с использованием частиц латекса. Лабораторная диагностика. 2005;2:43–7 (Prilutsky AS, Lesnichenko DA, Maylyan EA. Method of determining the intensity of phagocytosis using latex particles. Laboratory Diagnostics. 2005;2:43-7) (Russian).
7. Свінціцький АС. Анкілозивний спондилоартрит: актуальні питання діагностики та лікування. Здоров'я України. 2008;5(1):75–9 (Svintsitsky AS. Ankylosing spondylitis: topical issues of diagnosis and treatment. Health of Ukraine. 2008;5(1):75-9) (Ukrainian).
8. Чоп'як ВВ, Потьомкіна ГО, Синенька МЮ, Гаврилюк АМ, Синенький ОВ, Вальчук ІВ та ін. Системні хвороби сполучної тканини: досвід роботи. Український ревматологічний журнал. – 2009. – № 2 (36). – С. 15-20. (Chopyak VV, Potomkina GO, Synenka MYu, Gavrylyuk AM, Synenkyu OV, Valchuk IV et al. Systemic connective tissue diseases: experience. Ukrainian Rheumatologist Journal. 2009;2(36):15-20) (Ukrainian).
9. Якубець ОІ, Фафула РВ, Воробець ДЗ, Воробець ЗД. Особливості аргіназного та NO-синтазного шляхів метаболізму L-аргініну в лімфоцитах периферичної крові у хворих на рак яєчника. Український біохімічний журнал. 2013;85(5):105-13 (Yakubets OI, Fafula RV, Vorobets DZ, Vorobets ZD. Features of arginase and NO-synthase pathways of metabolism of L-arginine in peripheral blood lymphocytes in patients with ovarian cancer. Ukr Biochem J. 2013;85(5):105-13) (Ukrainian). <https://doi.org/10.15407/ubj85.05.105>

10. Gabriel SE, Michaud K. Epidemiological studies in incidence, prevalence, mortality, and comorbidity of the rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther.* 2009;11(3):229. <https://doi.org/10.1186/ar2669>
11. Rathbun W, Betlach V. Estimation of enzymically produced orthophosphate in the presence of cysteine and adenosine triphosphate. *Anal Biochem.* 1969;28:436-47. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(69\)90198-5](https://doi.org/10.1016/0003-2697(69)90198-5)
12. Rudan I, Sidhu S, Papana A. Prevalence of rheumatoid arthritis in low- and middle-income countries: A systematic review and analysis. *J Glob Health.* 2015;5(1):010409.

Стаття надійшла до редакції журналу 15.03.2018 р.

Патогенетичні механізми виникнення ревматоїдного артриту та анкілозивного спондиліту за участю активізаційно-ензиматичних і фенотипічних особливостей лімфоцитів

Н. Е. Личковська, В. В. Чоп'як, З. Д. Воробець

Вступ. Значна поширеність запальних хвороб суглобів, тенденція до неухильного наростання їх важкості, високі показники внаслідок цього тимчасової втрати працездатності та інвалідності, особливо осіб середнього працездатного віку, визначають вагоме медико-соціальне значення цих хвороб. На сучасному етапі РА та АС розглядаються як захворювання, в основі яких лежать імунні порушення. Відомо, що лімфоцити крові є ключовими клітинами імунної системи, що відіграють провідну роль у забезпеченні компенсаторно-приспосувальних реакцій організму.

Різноманітність вісцеральних проявів запальних хвороб захворювань свідчить про участь універсальних механізмів реалізації системного патологічного процесу за участю поліпотентних месенджерів, які володіють мультифункціональними ефектами. До таких універсальних месенджерів належать оксид азоту (NO), йони кальцію Ca^{2+} (Ca^{2+}), які прямо чи опосередковано регулюють різноманітні фізіолого-біохімічні процеси. Дослідження останніх десятиріч в галузі біохімії та фізіології свідчать, що прецизійний контроль (NO) і (Ca^{2+}) забезпечується функціонування ензиматичних систем клітини. Серед останніх провідна роль у підтриманні NO- та йонного гомеостазу клітини належить NO-синтазі, аргіназі та АТФ-азам. Проте, незважаючи на значну кількість робіт, присвячених вивченню ензиматичного спектра лімфоцитів, дослідження функціональної активності їх аргіназо-NO-синтазної та АТФ-азних систем є вкрай обмеженими, а патофізіологічні та імунні механізми їх дисфункції – нез'ясованими.

Мета. З'ясувати патофізіологічні механізми виникнення ревматоїдного артриту та анкілозивного спондиліту за участю аргіназо-NO-синтазної й АТФ-гідролазних систем лімфоцитів крові та клітинної ланки імунітету.

Матеріали й методи. Після отримання письмової згоди на проведення комплексного обстеження, відповідно до принципів Гельсінкської декларації прав людини, Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину та відповідних законів України, а також комплексного клінічно-лабораторного та інструментального обстеження всіх органів та систем згідно з вимогами сучасної медицини у рандомізований спосіб залучено у дослідження 86 хворих (48 жінок (56,0 %) і 38 чоловіків (44,0 %) віком від 18 до 56 років), які перебували на стаціонарному лікуванні у ревматологічному відділі КЗ ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня» в 2012–2015 рр. із попередньою стратифікацією за наявністю у 50 хворих РА (39 жінок (78,0 %) і 11 чоловіків (22,0 %) віком від 18 до 56 років, з діагнозом «Ревматоїдний артрит: поліартрит; серопозитивний варіант, anti-CCP (+); хронічний перебіг; з ураженням дрібних суглобів кистей, стіп, променезап'ясткових, колінних суглобів; Rtg II стадії; ФНС II ступеня») та у 36 хворих АС (9 жінок (25,0 %), 27 чоловіків (75,0 %) із діагнозом «Анкілозивний спондиліт: акт. II ступеня; центральна форма; хронічний перебіг; з ураженням ілеосакральних з'єднань, кульшових, плечових суглобів, шийного відділу хребта; Rtg II стадія; ФНС II ступеня»).

Моноядерні лімфоцити периферійної крові людини виділяли з гепаринізованої свіжоотриманої крові у градієнті густини фікол-тріумбразу. Життєздатність лімфоцитів, яка в усіх дослідах сягала не менше 95,0 %, оцінювали за забарвленням трипановим синім. Для пермеабілізації мембран лімфоцитів крові та розкриття латентних ензиматичних активностей до суспензії лімфоцитів додавали 0,1–0,3 % сапонін.

Кількісне визначення популяцій та субпопуляцій лімфоцитів визначали методом непрямой імуофлуоресцентної реакції з моноклональними антитілами до диференціувальних антигенів поверхні клітини. Фагоцитарну активність нейтрофілів щодо поглинальної здатності визначали на основі методу, що ґрунтується на ендцитозі фагоцитами часток латексу, які віалізуються в цитоплазмі клітин у вигляді круглих гранул синього кольору.

Активність NO-синтази визначали за специфічним розщепленням NADPH(H^+), активність аргінази лімфоцитів крові – за утворенням сечовини, Ca^{2+} , Mg^{2+} - та Na^+ , K^+ -АТФазну активність лімфоцитів крові – спектрофотометрично, ресструючи процес гідролізу АТФ за накопиченням P_i . Вміст протеїну в лімфоцитарній суміші визначали за модифікованим методом О. Лоурі.

Результати. Виявлено зміни активності аргіназо-NO-синтазної системи лімфоцитів крові, порушення функціональної активності клітин фагоцитарної системи та зміну співвідношень субпопуляцій Т-лімфоцитів у пацієнтів із запальними захворюваннями суглобів. Зростання активності iNOS у цих пацієнтів супроводжується компенсаторним інгібуванням активності ендотеліальної ізоформи NOS. Значна активація iNOS активності призводить до надлишкового утворення NO в лімфоцитах крові. NO у високих концентраціях ініціює процеси оксидативного та нітрозивного стресу, внаслідок чого порушується прооксидантно-антиоксидантна рівновага. Відбувається активація апоптичних механізмів та ініціація деструктивних процесів у клітинах, а отже, наростає дисфункція. Водночас пригнічення активності АТФазних систем свідчить про переважання цитозолу лімфоцитів йонами Na^+ і Ca^{2+} та порушення йонного гомеостазу, що сприяє виникненню клітинних порушень.

Висновки. У хворих на ревматоїдний артрит внаслідок зменшеної кількості Т-цитотоксичних лімфоцитів вірогідно збільшується кількість Т-хелперів, натуральних кілерних клітин, активованих і регуляторних Т-лімфоцитів, клітин із супресивною активацією, що вказує на активацію клітинної ланки автоагресії з включенням регуляторних механізмів, а у хворих на анкілозивний спондиліт – активація натуральних кілерних клітин, активованих Т-лімфоцитів, лімфоцитів із супресивною активацією та зниження числа регуляторних лімфоцитів, що вказує на посилення імунологічного запального процесу. Більш виражені зміни хелперно-цитотоксичних (CD4^+ і CD8^+), активованих ($\text{CD3}^+/\text{CDHLA-DR}^+$), супресивних ($\text{CD4}^-/\text{CD25}^+$) Т-лімфоцитів і В-лімфоцитів (CD19^+), регуляторних клітин ($\text{CD4}^+/\text{CD25}^+$) верифіковані у хворих на ревматоїдний артрит порівняно з хворими на анкілозивний спондиліт, що свідчить про наявність більш потужної імунозалежної автоагресії у хворих на ревматоїдний артрит.

Порушення клітинної ланки імунітету супроводжується пригніченням активності ендотеліальної NO-синтази лімфоцитів крові пацієнтів з ревматоїдним артритом на $34,9 \pm 7,8 \%$ ($p < 0,05$), у пацієнтів із анкілозивним спондилітом – на $43,4 \pm 6,2 \%$ ($p < 0,001$) порівняно з практично здоровими особами з одночасною активацією її індукційної ізоформи.

Активність аргінази лімфоцитів крові хворих на ревматоїдний артрит зростає на $178,3 \pm 22,3 \%$ ($p < 0,001$), на анкілозивний спондиліт – на $272,6 \pm 30,2 \%$ ($p < 0,001$) порівняно з практично здоровими особами.

Порушення синтезу NO супроводжувалось пригніченням активності $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази плазматичної мембрани лімфоцитів крові пацієнтів з РА на $46,8 \pm 5,7 \%$ ($p < 0,001$), у пацієнтів з АС – на $39,4 \pm 6,4 \%$ ($p < 0,001$), активності $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФази мембран ЕПП лімфоцитів крові пацієнтів з обома патологіями – на $35,6 \pm 4,8 \%$ ($p < 0,001$) і $20,0 \pm 3,8 \%$ ($p < 0,001$) відповідно; активності Na^+, K^+ -АТФази лімфоцитів крові пацієнтів із обома патологіями на $42,8 \pm 7,2 \%$ ($p < 0,001$) і $39,7 \pm 6,5 \%$ ($p < 0,001$) відповідно порівняно з практично здоровими особами.

Зміни активностей аргіназо-NO-синтазної та АТФазних систем лімфоцитів крові у пацієнтів з ревматоїдним артритом більш виражені, ніж із анкілозивним спондилітом, однак найчутливішим параметром є активність iNOS, що свідчить про визначальну роль порушень у цій регуляторній системі для формування та наростання запального ураження суглобів.

Ключові слова: ревматоїдний артрит, анкілозивний спондиліт, лімфоцити, NO-синтаза, аргіназа, Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФ-аза, Na^+ , K^+ -АТФ-аза.

Pathogenetic Mechanisms of the Occurrence of Rheumatoid Arthritis and Ankylosing Spondylitis with the Activation-Enzymatic and Phenotypic Features of Lymphocytes

N. Lychkovska, V. Chopyak, Z. Vorobets

Introduction. Significant prevalence of inflammatory diseases of the joints, the tendency to steady increase in their severity, high indicators due to this temporary disability and disability, especially those of middle-aged, determine the important medical and social importance of these diseases. At the present stage, RA and AU are considered as diseases based on immune disorders. It is known that blood lymphocytes are the key cells of the immune system that play a leading role in providing compensatory and adaptive responses of the organism.

The variety of visceral manifestations of inflammatory diseases testifies to the participation of universal mechanisms for the implementation of the systemic pathological process involving polypotent messengers with multifunctional effects. These universal messengers include nitrogen oxide (NO), calcium ions Ca^{2+} , which directly or indirectly regulate various physiological and biochemical processes. Studies of biochemistry and physiology in recent decades have shown that precision control (NO) and (Ca^{2+}) and the functioning of cellular enzymatic systems are provided. Among the latter, the leading role in maintaining NO- and ionic homeostasis of the cell belongs to NO synthase, arginase and ATP-bases. However, despite a significant number of studies devoted to the problem of the enzymatic

spectrum of lymphocytes, the study of the functional activity of their arginase-NO-synthase and ATP-systems is extremely limited, and the pathophysiological and immune mechanisms of their dysfunction are unclear.

The aim of the study. To find out the pathophysiologic mechanisms of the occurrence of rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis with the participation of arginase-NO-synthase and ATP-gidrolase systems of blood lymphocytes and cellular immunity.

Materials and methods. The study involved in randomized manner with the preliminary stratification the presence of 86 patients, [48 women (56.0 %) and 38 men (44.0 %); aged 18 to 56 years old], who were treated in Lviv Regional Clinical Hospital during 2012-2015. The study involved individuals with a diagnosis of RA or AS without the presence of concomitant lesions of connective tissue of inflammatory nature, other inflammatory diseases, oncological pathology at the time of the beginning of the study. The comparison (control) group consisted of practically (clinically) healthy persons ($n = 30$), representative by age and gender (57 % women, 43 % men, average age - 37.9 ± 2.2 years).

Mononuclear lymphocytes of human peripheral blood were isolated from heparinized freshly-received blood in a density gradient of the ficol triumbas. The viability of lymphocytes, which in all experiments was not less than 95.0 %, was evaluated by the color of trypan blue. In order to permeabilize the blood lymphocyte membranes and to reveal latent enzymatic activity to the suspension of lymphocytes, 0.1-0.3 % saponin was added.

Quantitative determination of the populations and subpopulations of lymphocytes was determined by the method of indirect immunofluorescence reaction with monoclonal antibodies to differentiating antigens of cell surface. Determination of phagocytic activity of neutrophils by absorption capacity was carried out on the basis of the method based on endocytosis with phagocytes of latex particles, which digitized cells in the cytoplasm in the form of round granules of blue color.

The activity of NO-synthase was determined by the specific cleavage of NADPH(H⁺). The activity of blood lymphocytes arrhiza was determined by the formation of urea. Ca²⁺, Mg²⁺, and Na⁺, K⁺ -ATPase activity of blood lymphocytes were determined spectrophotometrically by recording the process of hydrolysis of ATP on the accumulation of Rh. The protein content of the lymphocyte mixture was determined using the modified O. Lowry method.

Results. As a result of the conducted studies, changes in the activity of the arginase-NO-synthase system of the lymphocytes of the blood, the violation of the functional activity of the cells of the phagocytic system, and the change in the ratio of T-lymphocyte subpopulations in patients with inflammatory diseases of the joints have been detected. The growth of iNOS activity in these patients is accompanied by compensatory inhibition of the activity of the endothelial isoform NOS. Significant activation of iNOS activity leads to excessive NO formation in blood lymphocytes. NO in high concentrations triggers oxidative and nitrosic stress, which leads to a disturbance of the antioxidant-antioxidant balance. As a result, activation of apoptotic mechanisms and initiation of destructive processes in the cells occur, leading to an increase in dysfunction. At the same time, inhibition of the activity of ATPase systems indicates an overload of lymphocyte cytosol by Na⁺ and Ca²⁺ ions and a violation of ionic homeostasis, which contributes to the occurrence of cellular disturbances.

Conclusions. In patients with rheumatoid arthritis, due to the reduced number of T-cytotoxic lymphocytes, the number of T-helper cells, natural killer cells, and regulatory T-lymphocytes, cells with suppressive activation, activated, which indicates the activation of the cellular link of autoagression with the inclusion of regulatory mechanisms, and in patients for ankylosing spondylitis - activation of natural killer cells, activated T-lymphocytes, lymphocytes with suppressive activation and a decrease in the number of regular lymphocytes, indicating an increase in them. More pronounced changes in helper-cytotoxic (CD4⁺ and CD8⁺), activated (CD3⁺/CDHLA-DR⁺), suppressive (CD4⁺/CD25⁺) T-lymphocytes and B-lymphocytes (CD19⁺), regulatory cells (CD4⁺/CD25⁺) were verified in patients with rheumatoid arthritis, as compared to patients with ankylosing spondylitis, indicating that there is a more powerful immune-dependent autoagression in patients with rheumatoid arthritis.

Violation of the cellular level of immunity is accompanied by suppression of the activity of endothelial NO-synthase of blood lymphocytes in patients with rheumatoid arthritis by $34,9 \pm 7,8$ % ($p < 0,05$), in patients with ankylosing spondylitis - by $43,4 \pm 6,2$ % ($p < 0,001$) compared to practically healthy subjects with the simultaneous activation of its inducible isoform.

The activity of the blood lymphocyte arrhythmias in rheumatoid arthritis patients increases by $178,3 \pm 22,3$ % ($p < 0,001$), with ankylosing spondylitis - by $272,6 \pm 30,2$ % ($p < 0,001$), compared with practically healthy subjects.

NO synthesis was accompanied by suppression of the activity of Ca²⁺, Mg²⁺ -ATPases of the plasma membrane of blood lymphocytes in patients with RA by $46,8 \pm 5,7$ % ($p < 0,001$), in patients with AS - by $39,4 \pm 6,4$ % ($p < 0,001$), activity of Ca²⁺, Mg²⁺ -ATPase of membranes of EPR of lymphocytes in patients with both pathologies by $35,6 \pm 4,8$ % ($p < 0,001$) and $20,0 \pm 3,8$ % ($p < 0,001$) respectively. The activity of Na⁺, K⁺ -ATPase of blood lymphocytes in patients with both pathologies was $42,8 \pm 7,2$ % ($p < 0,001$) and $39,7 \pm 6,5$ % ($p < 0,001$), respectively, compared with practically healthy subjects.

Changes in the activity of arginase-NO-synthase and ATPase system of lymphocytes in patients with rheumatoid arthritis are more pronounced than with ankylosing spondylitis, but the most sensitive parameter is the activity of iNOS, which indicates the crucial role of disorders in this regulatory system for the formation and increase of inflammatory joint damage.

Keywords: rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis, lymphocytes, NO-synthase, arginase, Ca²⁺, Mg²⁺-ATP-ase, Na⁺, K⁺-ATP.