

# ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИМФОЦИТОВ И ИММУНО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ Т-ЛИМФОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ ТЯЖЕЛОЙ СТЕПЕНИ ОБОСТРЕНИЯ

Беловолова Р.А.<sup>1</sup>

Мкртчян Л.С.<sup>2</sup>, Ткачев А.В.<sup>2</sup>

МБУЗ «Городская больница №20 г. Ростова-на-Дону»  
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, г. Ростов-на-Дону.

E-mail: rb2010@mail.ru

## PHENOTYPIC CHARACTERIZATION OF LYMPHOCYTES AND THE IMMUNOPATHOGENETIC SIGNIFICANCE OF CYTOTOXIC T-LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH ULCERATIVE COLITIS SEVERE EXACERBATION

Belovolova R.A.<sup>1</sup>, Mktrchyan L.S.<sup>2</sup>, Tkachev A.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> МРНИ «City Hospital № 20 of Rostov-on-Don»

<sup>2</sup> The Rostov State Medical University, Rostov-on-Don.

Этиопатогенез язвенного колита (ЯК) до настоящего времени четко не установлен. Нарушения иммунной системы является неотъемлемой составляющей этого процесса, причем, вовлекаются все звенья иммунной системы [1, 2]. Основным морфологическим субстратом ЯК является воспалительно-деструктивные процессы в слизистой толстой кишки [3]. Поскольку основные субпопуляции лимфоцитов, в силу присущим им эффектов действия, ответственны за формирования иммунного ответа (CD4+ в кооперации с другими иммунокомпетентными клетками через каскад цитокинов формирует воспалительные процессы [4], а CD8+-лимфоциты отвечают за развитие цитотоксичности через гранзим-перфориновый механизм [5, 6] и индукцию апоптоза через Fas – Fas L, важным представляется изучение количественного и качественного соотношения этих субпопуляций в динамике ЯК, выяснение их участия в иммунопатогенезе изучаемой патологии и возможности использования их в качестве диагностических иммунологических маркеров тяжести ЯК.

**Материал и методы исследования.** Обследована группа пациентов с тяжелым обострением хронического рецидивирующего ЯК (15 человек). Контрольная группа – 20 доноров. Диагноз верифицировался на основании данных анамнеза, клинической и эндоскопической картин. Тяжесть атаки определялась согласно индексу клиники Мейо и составляла 11-12 баллов. Определение субпопуляций лимфоцитов с маркерами CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3-CD16+, CD3-CD19+, CD4+CD25+, CD3+CD95+ проводили с помощью моноклональных антител производства Beckman Coulter с регистрацией результатов на проточном лазерном цитофлюориметре «FC-500» производства Beckman Coulter; концентрацию сывороточных иммуноглобу-

линов (Ig) – методом радиальной иммунодиффузии (Mancini G et al., 1965); уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) – в реакции преципитации в 4,16% раствора ПЭГ (Naskova et al. в модификации Ю.А. Гриневич и И.А. Алферовой, 1981). Для оценки аутоиммунного компонента дополнительно определяли наличие антител (Ат) к ДНК, кардиолипину методом ИФА-диагностики.

**Результаты исследования.** При тяжелой атаке ЯК у всех пациентов резко нарушается баланс Т-хелперов и Т-супрессоров за счет увеличения Т-супрессорно-цитотоксических лимфоцитов. Относительное содержание Т-лимфоцитов с маркерами CD4+ незначительно снижалось и составило 39,4±1,65 % (контроль – 41,92±0,35%). Абсолютное содержание CD3+CD4+-лимфоцитов было достоверно повышенным (0,82±0,02x10<sup>9</sup>/л при норме 0,65±0,05x10<sup>9</sup>/л). Относительное и абсолютное содержание Т-лимфоцитов с маркерами CD8+ значительно увеличивалось (37,6±1,73% при норме 21,88±0,33% и 0,78±0,23x10<sup>9</sup>/л при норме 0,31±0,02 x10<sup>9</sup>/л). ИРИ составлял 1,05 (в группе контроля – 1,95). Функциональная активность Т-хелперов была высокой, о чем свидетельствует увеличение количества Т-хелперов с маркерами ранней активации CD25+ до 4,79±0,28% (при норме 2,5±0,17%). Интересно отметить, что этот фенотип Т-лимфоцитов относят к Т-reg. Увеличение цитотоксического потенциала субпопуляций лимфоцитов проявлялось повышением количества Т-лимфоцитов с маркерами CD8+ до 37,6±1,73% (контроль 21,88±0,33%). Резко увеличивалось накопление в них гранзима В. Содержание лимфоцитов с маркерами CD8+Гр+ повышалось до 36,1±1,88% (в контрольной группе – 9,38±2,21%). Количество натуральных киллеров и процент гранзимсодержащих CD16+Гр+ клеток

практически соответствовал контрольной группе. Повышалось количество Т-лимфоцитов, несущих маркеры апоптоза CD3+CD95+ до  $7,14 \pm 0,67$  (норма  $5,08 \pm 0,22\%$ ). Увеличивалось количество В-лимфоцитов до  $8,71 \pm 0,75\%$  (в контрольной группе –  $6,20 \pm 0,24\%$ ), происходило нарушение их дифференцировки, о чем свидетельствовала дисиммуноглобулинемия с преимущественным увеличением уровня IgM ( $1,5 \pm 0,04$  г/л; в контроле –  $1,0 \pm 0,27$  г/л). Активировался процесс образования иммунокомплексов, что проявлялось повышением уровня ЦИК в периферической крови до 99,8 ед. Регистрировалось значительное увеличение уровня Ат к ДНК до  $45,1 \pm 1,25$  ед. и кардиолипину до  $12,4 \pm 2,2$  ед. (в контроле  $12,5 \pm 1,7$  и  $7,3 \pm 1,9$  соответственно). Такой характер изменений иммунологических показателей позволил охарактеризовать иммунный статус при ЯК как активацию клеточно-гуморальных факторов, преимущественно за счет увеличения цитотоксичности, апоптоза, нарушения процессов иммунорегуляции и активации аутоиммунного компонента.

С повышением количества и функциональной активности супрессорно-цитотоксических Т-лимфоцитов могут быть связаны деструктивные изменения в слизистой толстой кишки. При обострении ЯК в слизистой толстой кишки увеличивается количество интраэпителиальных цитотоксических CD8+-лимфоцитов и происходит нарушение кооперации CD4+- и CD8+-клеток, что рассматривается как дополнительный фактор агрессии при прогрессировании заболевания [7]. Предполагается, что цитотоксические клетки прямо или через свои хемокины и цитокины воздействуя на эпителиальные клетки, вызывают их цитолиз, приводя к формированию язв [8, 9]. Продукция гранзимов в Т-лимфоцитах в основном – это антиген-индуцированный процесс, хотя в кишечнике и в физиологических условиях обнаружена небольшая популяция специализированных Т-лимфоцитов, которые наряду с натуральными киллерами, постоянно продуцируют и накапливают гранзимы [10]. Зрелые эффекторские клетки экспрессируют на своей поверхности эффекторные молекулы – гранзимы и перфорины [11]. Причем, экспрессия перфорины и гранзимов увеличивается по мере дифференцировки Т-цитотоксических лимфоцитов с наибольшим накоплением их в терминально дифференцированных Т-эффекторах [5]. Основной функцией гранзима В является индукция апоптоза при помощи каспазно-зависимого и каспазно-независимого механизмов, перфорин способствует более эффективному проникновению различных гранзимов в цитоплазму клеток за счет формирования пор в поверхностной мембране клетки-мишени. [5, 6]. Кроме того, гранзимы могут индуцировать секрецию цитокинов, напрямую активировать цитокины и таким образом усиливать

некоторые виды воспаления [10]. Итак, полученные нами данные о выраженном увеличении количества CD3+CD8+ и гранзимосодержащих CD3+CD8+- лимфоцитов, увеличение готовности клеток к апоптозу (увеличение CD3+CD95+-лимфоцитов), подтверждают патогенетическую значимость гранзимного механизма как одного из ведущих иммунологических механизмов воспалительно- деструктивных изменений слизистой толстой кишки при тяжелом обострении ЯК. Увеличение количества и цитолитического потенциала Т-лимфоцитов вероятнее всего обусловлено воздействием антигенов комменсалов, другими внутриклеточными агентами [12-14] приводит к повышенной выработке и секреции гранзимов, которые обладают выраженной апоптогенной активностью. Продукты апоптоза и деструкции клеток могут усиливать аутоантгенную нагрузку, что приводит к накоплению аутоантител. Подтверждением чего служит регистрируемое увеличение титра антител к ДНК и кардиолипину.

Таким образом, выявленные нами иммунологические изменения характеризуют и дополняют патогенетическую цепочку формирования воспалительно-деструктивных изменений при тяжелой атаке ЯК, т. е. его иммунопатогенез и могут быть использованы в качестве дополнительных диагностических маркеров тяжести патологического процесса и обоснования разработки принципов таргетной терапии.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Е. А. Конович, И. Л. Халиф, М. В. Шапина Иммунопатогенез воспалительных заболеваний кишечника // Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2013. – Том 23, № 4. – С. 69-78.
2. Focchi C. Etiopathogenesis of inflammatory bowel disease / пер. с англ. Головенко А.О. // Колопроктология. – 2015. – 1 (51). – С. 5-20.
3. Клинические рекомендации по диагностике и лечению взрослых больных язвенным колитом. Экспертная комиссия ООО «Российская гастроэнтерологическая ассоциация», ООО «Ассоциация колопроктологов России», Общество по изучению воспалительных заболеваний кишечника при Ассоциации колопроктологов России. М.: 2013.
4. Fuss I. J., Heller F., Boirivant M. et al. Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis // J. Clin. Invest. – 2004. – 113. – P. 1490-1497.
5. Кудрявцев И.В., Борисов А.Г., Васильева Е.В., Коробинцев И.И., Савченко А.А., Серебрякова М.К., Тотолян А.А. Фенотипическая характеристика цитотоксических Т-лимфоцитов: регуляторные и эффекторные молекулы // Мед. иммунол. – СПб. – 2018. – Т. 20, №2. – С. 227–240.

6. Barry M., Bleackley R. C. Cytotoxic T-lymphocytes: all roads lead to death // *Nat. Rev. Immunol.* – 2002. – Vol. 2, №6 – P. 401-409.
7. Ботина А.В. Иммуноморфологическая характеристика стромы и эндокринного аппарата слизистой оболочки толстой кишки у больных неспецифическим язвенным колитом: автореф. дисс. к.м.н. / С.-Петербург. гос. мед. ун-т им. И.П. Павлова. – СПб. – 2005. – 19 с.
8. Fuss J.J. The adaptive immune responses in Inflammatory bowel disease. In *IBD. Falk Sympos.* 153/Dignass A. et al/ – 2006: 12-20.
9. Maillard M.H., Snapper S.B. Cytokines and chemokines in mucosal homeostasis. In: Targan S.R., Shanahan F., Karp L.C., eds. // *Inflammatory bowel disease. Translating basic science into clinical practice.* – Chichester: WileyBlackwell. – 2010. – P. 119-56.
10. Joseph A Trapani/ Granzymes: a family of lymphocyte granule serine proteases/ *Genome Biology.* – 2001 2 (12): reviews3014.1-3014.7.
11. Takata H., Takiguchi M. Three memory subsets of human CD8+ T cells differently expressing three cytolytic effector molecules // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 177, №7. – P. 4330-4340.
12. Sartor R.B. Microbial influences in inflammatory bowel disease // *Gastroenterology.* – 2008. – 134. – P. 577-594.
13. Abraham C., Medzhitov R. Interactions between the host innate immune system and microbes in inflammatory bowel disease // *Gastroenterol.* – 2011. – 140. – P. 1729-1737.
14. Денисов Н. Л., Иванов А. В., Иванова Н. В. Клинические, иммунологические, генетические и микробиологические аспекты патогенеза синдрома раздраженного кишечника и язвенного колита // *В. Нац. мед.-хирург. Центра им. Н.И. Пирогова.* – 2013. – Т. 8, № 3. – С. 94-98.

## **ВОПРОСЫ ЛЕКАРСТВЕННОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ В АЛЛЕРГОЛОГИЧЕСКОМ ОТДЕЛЕНИИ СТАЦИОНАРА**

**Биккина Г.М.**

**Макарова Г.У., Сапронова Л.Ю.**

ФГБУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Уфа

ФГБУ «Республиканская детская клиническая больница», г. Уфа

## **QUESTIONS OF MEDICAL SUPPORT IN THE ALLERGOLOGICAL DEPARTMENT OF THE HOSPITAL**

**Bikkinina G.M., Makarova G.U., Sapronova L.Yu.**

FSBEI of HE «Bashkir State Medical University» Ministry of Health of Russia, Ufa

GBUZ RB «Republican Children's Clinical Hospital», Ufa

E-mail: bikkinina.ru@mail.ru

Аллергические болезни относятся к числу наиболее распространенных заболеваний в детском возрасте. Широкий спектр аллергических заболеваний, их клиническое течение, многообразие этиологических факторов, иммунологических нарушений в патогенезе, возрастающая роль экологии, изменений климата, миграции населения и, как следствие, снижение качества жизни: ограничения, связанные с обучением, занятиями спортом пациентов превратили аллергопатологию в глобальную проблему. Современная стратегия лечения аллергических заболеваний основана на следующих принципах: элиминации аллергена, контроля над окружающей средой и адекватной фармакотерапии для

достижения высокого уровня контроля над симптомами заболевания и качественной жизни. В нашей стране доступны практически все фармацевтические препараты для контроля над аллергическими заболеваниями, зарегистрированные в мире, но, к сожалению, имеющие возрастные ограничения. Важно не только целенаправленное применение этих препаратов, но и их доступность для больных с аллергическими заболеваниями органов дыхания, прежде всего с бронхиальной астмой и аллергическим ринитом. Обеспечение детского населения лекарствами, включенными в Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов, (Распоряжение Правительства Российской Федерации