

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ МЕМБРАННЫХ МАРКЁРОВ В-ЛИМФОЦИТОВ ПРИ СЕРОПОЗИТИВНОМ ВАРИАНТЕ ТЕЧЕНИЯ СУСТАВНОЙ И ВИСЦЕРАЛЬНОЙ ФОРМЕ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Харитоновна М.В.¹, Сизязкина А.П.¹, Соболева Т.Н.²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону,

² Министерство здравоохранения Ростовской области Государственное бюджетное учреждение Ростовской области «Областная клиническая больница №2», отделение ревматологии, г. Ростов-на-Дону.

ESPECIALLY THE EXPRESSION OF MEMBRANE MARKERS OF B-LYMPHOCYTES IN SEROPOSITIVE OPTION, THE CURRENT ARTICULAR AND VISCERAL FORM OF RHEUMATOID ARTHRITIS

Kharitonova M. V.¹, Sizyakina L. P.¹, Soboleva T. N.²

¹ Federal State budget institution of higher education «Rostov State Medical University» of the Russian Federation Ministry of Health, Rostov-on-Don, Russia;

² The Ministry of health of the Rostov region's State budgetary institution of Rostov region «Regional clinical hospital №2», Department of rheumatology, Rostov-on-don.

Ревматоидный артрит (РА) – хроническое прогрессирующее заболевание, связанное с персистенцией аутоиммунного воспаления в синовиальной оболочке и прогрессирующим поражением суставов в виде деструкции хрящевой ткани. [1].

В основе РА лежат сложные нарушения иммунного ответа, вследствие которых развивается самоподдерживающееся хроническое воспаление. Развитие и поддержание воспалительной реакции происходит в результате нарушения скоординированности процессов активации и супрессии иммунокомпетентных клеток. Одним из ключевых моментов в развитии иммунопатогенеза РА отводится роли В-лимфоцитам. Данные клетки характеризуются дефектом процесса толерантности, регулируют активность Т-лимфоцитов, продуцируют цитокины, антитела, в частности аутоантитела, которые, активируя систему комплемента и лимфоциты, индуцируют воспаление и деструкцию тканей организма. [1,3,4].

Целью работы является изучение особенностей иммунофенотипа В-лимфоцитов на разных этапах иммуногенеза, при серопозитивном варианте течения суставной и висцеральной формы

РА.

Материалы и методы. Обследовано 28 пациентов с серопозитивным вариантом суставной и висцеральной формой РА, в стадии обострения, вторая степень активности, медленно прогрессирующее течение. Средний возраст обследуемых 53±5 года. Диагноз устанавливался на основании диагностических критериев Американской ревматологической ассоциации 1987 года и классификации Ассоциации ревматологов России 2007 года. Пациенты были разделены на две группы по вариантам течения. Первую группу составили 17 больных, с суставной формой течения РА.

Вторую группу - 11 больных с висцеральной формой, находившихся на стационарном лечении в кардиологическом отделении клиники ФГБУ ВО «РосГМУ». Контрольную группу составили 10 практически здоровых доноров в возрасте 40-50 лет.

Фенотипический анализ В-лимфоцитов включал в себя определение экспрессии мембранных антигенов: CD19+CD5+CD45+ (В-1лимфоциты), CD19+CD5-CD45+ (зрелые В-2), CD19+CD45RA+CD27-CD45+ (наивные В-2), CD19+CD45RA-CD27+CD45+ (В-клетки памяти),

CD19+CD23+CD45, CD19+CD25+CD45+ (маркеры ранней активации), CD19+CD40+CD45+, CD19+CD86+CD45+ (ко-стимулирующие молекулы), CD19+An+CD45, CD19+CD95+CD45+ (готовность В-лимфоцитов к апоптозу), а также CD3+CD4+CD40L+CD45+ (лиганд для взаимодействия Т-лимфоцитов с В-клетками), в реакции непрямой иммунофлуоресценции, с учетом результатов на проточном лазерном цитофлуориметре марки «FC 500». Уровень сывороточных иммуноглобулинов классов А,М,Г оценивали в реакции радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини, (Manchini et al., 1965г.) и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) методом селективной преципитации в полиэтиленгликоле 6000 (ПЭГ) (Гриневиц Ю.А. с соавт., 1981). Математическую обработку полученных данных проводили на ПК Microsoft Windows XP professional, используя программу «Statistica 7.0». Достоверность различий в группах оценивали с помощью непараметрических критериев Манна-Уитни и Вилкоксона. Достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. При анализе содержания В-лимфоцитов в группе пациентов с серопозитивным вариантом суставной формы РА по сравнению с группой контроля, выявлено статистически достоверное увеличение популяции В1-лимфоцитов с фенотипом CD19+CD5+CD3-CD45+ ($0,47 \pm 0,08\%$ и $0,12 \pm 0,03\%$), тогда как содержание В2-клеток с иммунофенотипом CD19+CD5-CD3-CD45+ у данных пациентов не отличалось от репрезентативных значений.

При изучении степени зрелости В-клеток, выявлено увеличение количества наивных В2 - клеток с фенотипом CD19+CD45RA+CD27-CD45+ ($7,7 \pm 0,7\%$ и $5,6 \pm 0,46\%$), тогда как клетки памяти CD19+CD45RA-CD27+ CD45+% не отличались от донорских значений.

Процесс активации В2 - лимфоцитов определяется экспрессией мембранных структур, обеспечивающих проведение сигнальных путей для медиаторов, обладающих активирующим воздействием. Анализ активационных маркеров выявил увеличение экспрессии на В2-клетках маркеров ранней CD19+CD23+CD45 ($1,64 \pm 2\%$ и $0,91 \pm 0,14\%$), CD19+CD25+CD45+ ($0,5 \pm 0,1\%$ и $0,05 \pm 0,01\%$) активации и молекул адгезии CD19+CD86+CD45+ ($0,70 \pm 0,2\%$ и $0,1 \pm 0,01\%$).

При анализе Т-В-клеточной кооперации осуществляющейся через костимулирующий сигнал и представленный системой CD40L и CD40 при суставной форме серопозитивного РА выявлено увеличение экспрессии костимулирующей молекулы CD19+CD40+CD45+ ($9,3 \pm 0,74\%$ и $7,02$

$\pm 0,42\%$) на В2 лимфоцитах и CD40L лиганда на Т-хелперах CD3+CD4+CD45+ ($0,80 \pm 0,17\%$ и $0,3 \pm 0,05\%$).

При оценке процесса элиминации активированных клеток выявлено увеличение экспрессии рецептора CD19+CD95-CD45+ готовности к апоптозу ($0,80 \pm 0,13\%$ и $0,33 \pm 0,03\%$ соответственно) и количеством апоптотирующих В-клеток CD19+An+CD45+ ($0,9 \pm 0,10\%$ и $0,50 \pm 0,03\%$) в реакции с анексинном -V.

Суммарная интеграция работы В-1и В-2 клеток привела к повышению синтеза сывороточных иммуноглобулинов классов IgA, IgM (IgA $2,3 \pm 0,10$ г\л и $1,13 \pm 0,01$ г\л, IgM- ($1,3 \pm 0,06$ г\л и $1,07 \pm 0,02$ г\л соответственно).

При висцеральной форме серопозитивного варианта течения РА установлено увеличение относительного количества минорной субпопуляции с фенотипом

В1- лимфоцитов CD19+CD5+CD3-CD45+ ($0,6 \pm 0,01\%$ и $0,12 \pm 0,03$ соответственно).

При изучении процессов дифференцировки и созревания В2 - клеток выявлено статистически достоверное увеличение относительного количества зрелых CD19+CD5-CD3-CD45+ ($16,4 \pm 1,2\%$ и $7,9 \pm 0,5\%$ соответственно) и наивных В2 клеток CD19+CD45RA+CD27-CD45+ ($11,8 \pm 0,9\%$ и $5,7 \pm 0,5\%$) по сравнению с группой контроля. Исследование поверхностных маркеров В2 - лимфоцитов ответственных за восприятие и проведение активационных сигналов было выявлено увеличение экспрессии маркеров ранней активации CD19+CD23+CD45+ ($2,9 \pm 0,08\%$ и $0,91 \pm 0,14\%$), CD19+CD25+CD45+ ($1,6 \pm 0,4\%$ и $0,05 \pm 0,01\%$ соответственно). При этом отмечается усилением экспрессии костимулирующей CD19+CD40+ ($19 \pm 1,3\%$ и $7,0 \pm 0,42\%$) молекулы на В-клетках и CD40L ($0,9 \pm 0,2\%$ и $0,3 \pm 0,05\%$ соответственно) лиганда на субпопуляции Т-лимфоцитов с фенотипом CD3+CD4+CD45+.

Процесс удаления активированных клеток при висцеральной форме РА характеризовался усилением экспрессии на В-2 лимфоцитах молекул апоптоза CD19+CD95+CD45+ ($1,1 \pm 0,2\%$ и $0,3 \pm 0,03\%$ соответственно).

В гуморальном звене иммунной системы наблюдается статистически достоверное повышение содержания сывороточных иммуноглобулинов классов IgA ($2,3 \pm 0,1$ г\л и $1,13 \pm 0,01$ г\л) и IgM- ($1,3 \pm 0,08$ г\л и $1,07 \pm 0,02$ г\л), а также количество циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) $107,5 \pm 11,1$ у.е. (70 ± 10 у.е.), что свидетельствует об активации плазматических клеток.

Таким образом при сравнительном анализе относительного количества и иммунофенотипа