

4. Agarwal S., Cunningham-Rundles C. Treatment of hypogammaglobulinemia in adults: a scoring system to guide decisions on immunoglobulin replacement. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2013, vol. 131, no. 6, pp. 1699-1701.
5. Сизякина Л.П., Андреева И.И. Дискордантность параметров адаптивного и врожденного иммунного ответа при заместительной терапии у больных X-сцепленной агаммаглобулинемией. *Иммунология*. 2014. Т. 35. №2. С. 89-91
6. Сизякина Л.П., Андреева И.И., Кролевец Д.И. Функциональная активность клеточных факторов врожденного иммунитета при первичной агаммаглобулинемии//*Иммунология*. - 2017. -Т38., №4.- С.223-226
7. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы: руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2009.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ МЕМБРАННЫХ МАРКЕРОВ В-ЛИМФОЦИТОВ ПРИ СЕРОНЕГАТИВНОМ ВАРИАНТЕ ТЕЧЕНИЯ СУСТАВНОЙ И ВИСЦЕРАЛЬНОЙ ФОРМЕ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Сизякина Л.П., Харитоновна М.В.

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет»,
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.

Sizyakina L. P., Kharitonova M. V.

State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Серопозитивный вариант ревматоидного артрита (РА) характеризуется потерей В - клеточной толерантности, приводящей к синтезу широкого спектра аутоантител, синтезу ревматоидного фактора (РФ), к активации системы комплемента, Т-лимфоцитов и развитию воспаления и деструкции тканей организма. Учитывая, что продуцентами РФ являются В-лимфоциты и что серонегативный вариант характеризуется отсутствием РФ, а также неоднородностью субпопуляций В - клеток актуальным является вопрос о динамике субпопуляций В-лимфоцитов их дифференцировки и созревания при серонегативном варианте РА, степени экспрессии мембранных маркеров их функциональной активности при серонегативном варианте.

Целью работы является изучение особенностей иммунофенотипа В-лимфоцитов на раз-

ных этапах иммуногенеза, при серонегативном варианте течения суставной и висцеральной формы ревматоидного артрита (РА).

Материалы и методы

Обследовано 38 пациентов с серонегативным вариантом и висцеральной формой РА, в стадии обострения, вторая степень активности, медленно прогрессирующее течение. Средний возраст обследуемых 54±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 23 больных, с суставной формой течения РА. Вторую группу - 15 больных с висцеральной формой. Контрольную группу составили 10 практически здоровых доноров в возрасте 40-50 лет.

Изучение иммунофенотипа В-лимфоцитов проводили по экспрессии мембранных антигенов: CD19+CD5+CD45+ (В-лимфоциты), CD19+CD5-CD45+ (зрелые В2 - лимфоциты), CD19+CD45RA+CD27-CD45+ (наивные В-2),

CD19+CD45RA-CD27+CD45+ (В2 - клетки памяти), CD19+CD23+CD45+, CD19+CD25+CD45+ (маркеры ранней активации), CD19+CD40+CD45+, CD19+CD86+CD45+ (костимулирующие 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), методом проточной цитометрии с использованием однопараметрических моноклональных антител, фирмы производителя Beckman Coulter. Функциональную активность В-лимфоцитов изучали по уровню содержания сывороточных иммуноглобулинов классов А,М,Г в реакции радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини, (Manchini et al., 1965г.), а также исследовали количество циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови 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 серонегативным вариантом суставной формы РА по сравнению с группой контроля, выявлено статистически достоверное увеличение популяции В1-лимфоцитов с фенотипом CD19+CD5+CD3-CD45+ ($0,58 \pm 0,09\%$ и $0,12 \pm 0,03\%$) и В2-клеток с иммунофенотипом CD19+CD5-CD3-CD45+ ($11,23 \pm 1,16\%$ и $8,0 \pm 0,45\%$). При этом в процентном соотношении субпопуляции В-клеток распределились следующим образом: В1 - лимфоциты 5,16%, В2- лимфоциты 94,8%.

При изучении степени зрелости В-клеток, выявлено увеличение количества наивных В2 - клеток с фенотипом CD19+CD45RA+CD27-CD45+ ($8,60 \pm 1,10\%$ и $5,65 \pm 0,46\%$), тогда как клетки

памяти CD19+CD45RA-CD27+ CD45+ не отличались от донорских значений. Данный факт иллюстрируется увеличением индекс соотношения наивных В-2 клеток к В-2лимфоцитам памяти ($3,0 \pm 0,36$ у.е. и $2,36 \pm 0,20$ у.е.).

Процесс активации В2 - лимфоцитов определяется экспрессией мембранных структур, обеспечивающих восприятие и проведение сигнала внутрь клетки приводящий к изменениям её функциональной активности. Анализ активационных маркеров выявил увеличение экспрессии на В2-клетках маркеров ранней CD19+CD23+CD45 ($2,23 \pm 0,46\%$ и $0,91 \pm 0,14\%$), CD19+CD25+CD45+ ($0,58 \pm 0,15\%$ и $0,05 \pm 0,01\%$) активации и молекулы ко-стимуляции CD19+CD86+CD45+ ($1,07 \pm 0,24\%$ 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 серонегативного РА выявлено отсутствие изменений экспрессии костимулирующей молекулы CD19+CD40+CD45+ ($8,14 \pm 0,96\%$ и $7,02 \pm 0,42\%$) на В2 лимфоцитах, при этом увеличена экспрессия CD40L лиганда на Т-хелперах CD3+CD4+CD45+ ($0,63 \pm 0,12\%$ и $0,3 \pm 0,05\%$).

Угнетение и элиминация активированных клеток сопровождается запуском процессов апоптоза. Для восприятия апоптотического сигнала на мембране

В2- клеток имеется рецептор CD95, при его изучении выявлено увеличение экспрессии рецептора CD19+CD95-CD45+ готовности к апоптозу ($1,04 \pm 0,37\%$ и $0,33 \pm 0,03\%$ соответственно) и количеством апоптотирующих В-клеток CD19+An+CD45+ ($1,55 \pm 0,24\%$ 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 $2,17 \pm 0,13$ г\л и $1,13 \pm 0,01$ г\л, IgM - ($1,38 \pm 0,09$ г\л и $1,07 \pm 0,02$ г\л соответственно) и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) ($103,0 \pm 11,88$ у.е. и $65,15 \pm 1,83$ у.е.), что свидетельствует об активации плазматических клеток. При этом количество сывороточного иммуноглобулина класса IgG не отличалось от референтных значений, что может свидетельствовать о нарушениях процессов межклеточного взаимодействия.

Исследуя степень зрелости В2-лимфоцитов при серонегативном варианте висцеральной формы РА по сравнению с группой контроля, выявлено статистически достоверное увеличение популяции наивных В2 - клеток CD19+CD45RA+CD27-CD45+ ($8,18 \pm 1,80$ и $5,65 \pm 0,46$), тогда как В2 клетки памяти CD19+CD45RA-CD27+ CD45+ не отличались от показателей контрольной группы. Данную особенность отражает увеличение индекса соотношения наивных В-2 клеток к В-2лимфоцитам памяти ($3,70 \pm 0,50$ у.е. и $2,36 \pm 0,20$ у.е.). При этом общее содержание зрелых В-клеток CD3-CD19 +CD45+ не отличалось от показателей группы доноров.

Анализируя количество В1 - лимфоцитов с фенотипом CD19+CD5+CD45+ в данной группе, выявлено статистически достоверное их увеличение по сравнению с группой контроля ($0,75 \pm 0,11$ и $0,12 \pm 0,03$). От общего количества зрелых В-клеток минорная субпопуляция В1лимфоцитов CD19+CD5+CD45+ составила 7%, а В2- клеток 93%.

Исследуя активационный потенциал В2 - лимфоцитов выявлено увеличение экспрессии маркеров ранней активации CD19+CD23+CD45+ ($2,72 \pm 0,86$ и $0,91 \pm 0,14$), CD19+CD25+CD45+ ($0,31 \pm 0,17$ и $0,05 \pm 0,01$) и ко-стимулирующей молекулы CD19+CD86+CD45+ ($2,12 \pm 0,44$ и $0,13 \pm 0,01$), что отражает способность клетки к дифференцировке и пролиферации.

В2-лимфоциты в развитие иммунного ответа выступают в роли антиген представляющей клетки, и данная функция реализуется экспрессией мембранного антигена HLA DR. Степень экспрессии на CD19+CD5-CD45+ не отличалась от референтных значений ($9,78 \pm 1,3$ и $7,39 \pm 0,41$). Дальнейшая реализация иммунного ответа обеспечивается межклеточным взаимодействием мембранной молекулы В лимфоцитов CD40 с мембранной молекулой Т-хелперов CD40L, данное взаимодействие реализуется переключением иммуноглобулинов с класса IgM на IgA, IgG. При серонегативном варианте висцеральной формы РА экспрессия CD40 на В2-клетках не отличалась от показателей контрольной группы, тогда как экспрессия Т-хелперов CD3+CD4+CD45+ ($50,67 \pm 2,47$ и $42,05 \pm 0,35$) и

лиганда CD4+CD40L+CD45+ на них ($0,66 \pm 0,22$ и $0,29 \pm 0,05$) были статистически выше.

При оценке процесса элиминации активированных клеток выявлено увеличение экспрессии рецептора CD19+CD95-CD45+ готовности к апоптозу ($0,66 \pm 0,38\%$ и $0,33 \pm 0,03\%$) и количеством апоптозирующих В-клеток CD19+An+CD45+ ($1,11 \pm 0,10\%$ и $,50 \pm 0,03\%$) в реакции с анексином -V.

Изучение функции антителообразования В2-лимфоцитами показало увеличение содержания сывороточных иммуноглобулинов классов IgA, IgM (IgA $1,99 \pm 0,23$ г\л и $1,13 \pm 0,01$ г\л), IgM- ($1,57 \pm 0,19$ г\л и $1,07 \pm 0,02$ г\л соответственно), при этом количество ЦИК и сывороточного иммуноглобулина класса Ig G не имело статистически достоверных изменений.

Таким образом при сравнительном анализе относительного количества и иммунофенотипа В1 и В2 - лимфоцитов, в группах с различными формами РА установлено, что относительное количество В1-клеток имеет тенденцию к увеличению при серонегативной висцеральной форме РА, а количество В2-клеток при серонегативной суставной форме РА. Популяция клеток с фенотипом В1 лимфоцитов обладает рядом свойств: долгоживущие, самовозобновляющиеся, синтезируют аутоантитела, имеют низкое сродство своих иммуноглобулиновых рецепторов к антигенам, что позволяет им перекрестно реагировать со многими сходными детерминантами. [3,5]. При анализе процессов созревания выявлено нарушение процессов дифференцировки в сторону увеличения наивных В2-клеток при висцеральной форме РА, что свидетельствует о повышенной готовности распознавать антиген с последующей дифференцировкой их в плазматические клетки и синтезу иммуноглобулинов и поддержанию пула аутореактивных антител. Процесс активации В-2 клеток характеризуется статистически достоверным усилением экспрессии ко-стимулирующей молекулы CD86, при этом процесс межклеточной кооперации характеризуется снижением экспрессии CD40 и одновременно усилением экспрессии CD40L и проявляется нарушением полноценного взаимодействия В и Т-лимфоцитов, отсутствием переключе-

ния изотипов иммуноглобулинов при серонегативном варианте висцеральной формы РА. Данный факт в исследовании иллюстрируется отсутствием изменения количества иммуноглобулинов класса G. Выявлено статистически достоверное снижение процесса апоптоза при висцеральной форме РА, что свидетельствует о нарушении процессов угнетения чрезмерной активации и элиминации поликлональных В-клеток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Ревматология. Национальное руководство. Под редакцией Е.Л. Насонова, В.А. Насоновой. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010; 720с.
2. Цинкернагель Р. Основы иммунологии. М.: Мир, 2008; 135с.
3. Насонов Е.Л., ред. Анти-В-клеточная терапия в ревматологии: фокус на ритуксимаб. Монография. М.: ИМА-ПРЕСС; 2012. 344 с.
4. Сизякина Л.П. Критерии прогноза эффективности терапии инфликсимабом пациентов с серопозитивным вариантом суставной формы ревматоидного артрита /Сизякина Л.П., Калашникова Т.А. // Иммунология, аллергология, инфектология. -2011. -№2,- С 20-25.
5. Сизякина Л.П. Характеристика В-2 лимфоцитов у пациентов с серопозитивным ревматоидным артритом суставной формы. / Сизякина Л.П., Харитоновна М.В. //Иммунология . – 2017. - № 4, - С226-228

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ – АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У МУЖЧИН С ХРОНИЧЕСКИМ АТРОФИЧЕСКИМ ГАСТРИТОМ НА ФОНЕ HELICOBACTER PYLORI – ИНФЕКЦИИ

Синяков А.А.¹, Смирнова О.В.^{1,3}, Даренская М.А.², Титова Н.М.³

¹ ФГБНУ ФИЦ КНЦ НИИ медицинских проблем Севера СО РАН

² ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ

³ Сибирский Федеральный Университет

CONDITION OF THE LIPID PEROXIDANT OXIDATION SYSTEM – ANTIOXIDANT PROTECTION IN MEN WITH CHRONIC ATROPHIC GASTRITIS AGAINST OF HELICOBACTER PYLORI – INFECTION

Sinyakov A.A.¹, Smirnova O.V.^{1,3}, Darenskaya M.A.², Titova N.M.³

¹ Research Institute of Medical Problems of the North Krasnoyarsk, Russia

² Federal State Budget Scientific Institution “Scientific Center for Family Health and Human Reproduction” Irkutsk, Russia

³ Siberian Federal University Krasnoyarsk, Russia

Инфекция *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) – один из ключевых факторов развития хронического атрофического гастрита (ХАГ) [1,3,4,6], который, в свою очередь, является предраковым заболеванием желудка [9,11]. В настоящее время механизмы трансформации атрофического гастрита в рак желудка до конца не выяснены [2,5]. Известно, что дисрегуляция системы “липเปอร์оксидация - антиоксидантная

защита” может способствовать возникновению патологических процессов в клетке и органе, так как избыточное накопление токсических ТБК – активных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) приводит к истощению резервов системы антиоксидантной защиты (АОЗ), [8] запуская развитие и прогрессирование аномальных патофизиологических изменений. Роль окислительного стресса в трансфор-