

Талако Т. М.

СОДЕРЖАНИЕ Т-РЕГУЛЯТОРНЫХ КЛЕТОК В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С АНТИФОСФОЛИПИДНЫМ СИНДРОМОМ

*Белорусский государственный медицинский университет
2-я кафедра внутренних болезней*

Антифосфолипидный синдром (АФС) характеризуется наличием антифосфолипидных антител (АФЛА), которые связываются с фосфолипидами, преимущественно посредством $\beta 2$ -гликопротеина-1, что приводит к тромбозам и эмболизации кровеносных сосудов и последующим клиническим проявлениям [5]. Значение клеточного иммунитета в патогенезе АФС остается до конца не раскрытым. Среди Т-лимфоцитов особое внимание уделяется в последнее время Т регуляторным клеткам (Трег), которые контролируют иммунный гомеостаз посредством супрессии пролиферации и продукции цитокинов иными Т клетками, подавляя (ауто)иммунный ответ [3]. Изменение количества и функциональной активности Трег в периферической крови пациентов обнаружены при таких аутоиммунных заболеваниях как рассеянный склероз, ревматоидный артрит, сахарный диабет типа 1 [2, 3]. Изменения других субпопуляций Т-лимфоцитов в периферической крови также описаны у пациентов с АФС [4].

Цель работы — изучить взаимосвязь между Т-регуляторными клетками, CD4+ Т-клетками-хелперами, CD8+ Т-клетками-супрессорами и антифосфолипидными антителами в периферической крови пациентов с АФС.

Материалы и методы

Пациенты с АФС ($n = 13$) в возрасте от 26 до 35 лет, женского пола, без эпизодов тромбоемболий в анамнезе составили группу исследования. Практически здоровые лица ($n = 11$) в возрасте от 28 до 33 лет, женского пола составили контрольную группу. В обеих группах проводилось исследование общего анализа крови, определение уровня Трег клеток (фенотипа CD4+CD25+CD127-), CD3+CD4+ Т-клеток, CD3+CD8+ Т-клеток в периферической крови методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител, меченных флуоресцентными красителями, и аппарата FACScan (Beckton Dickinson, США). У пациентов группы исследования проводили также изучение уровня АФЛА иммуноферментным методом — антител к кардиолипину (анти-КЛ) класса G и класса M; к β 2-гликопротеину-1 (анти- β 2-гп-1) класса G и класса M; волчаночного антикоагулянта (ВА) — в коагуляционных тестах. Статистическую обработку данных проводили в программах Microsoft Excel 2000 и Statistica 8.0 с использованием непараметрических тестов. Для сравнения двух независимых групп использовали критерий Манна–Уитни, для выявления корреляционных связей — коэффициент R Спирмена. Данные представлены значениями медианы (25–75 квартили). При $p < 0,05$ различия считались достоверными.

Результаты и обсуждение

В сыворотке крови пациентов группы исследования (пациентов с АФС) средний уровень анти-КЛ антител класса G составил 13,7 (5,0–63,95) GPL (при норме до 7) и класса M — 19,35 (4,88–45,89) MPL (при норме до 10). Содержание анти- β 2-гп-1 антител класса G составило 6,24 (6,24–11,3) ME/мл (при норме до 7), класса M — 30,39 (16,71–63,0) ME/мл (при норме до 7). ВА в сыворотке крови пациентов с АФС определялся на уровне 1,345 (1,17–1,85) единиц (при норме $< 1,2$). Группа исследования характеризовалась незначительным повышением уровням анти- β 2-гп-1 антител класса G и повышением уровня анти- β 2-гп-1 антител класса M и анти-КЛ антител класса G и класса M и ВА по сравнению с нормой, однако статистической достоверности получено не было.

Относительное содержание CD4+ Т-клеток, CD8+ Т-клеток, а также Трег в периферической крови пациентов групп исследования и контроля находилось в пределах нормы. Абсолютное содержание CD4+ Т-клеток и CD8+ Т-клеток пациентов изучаемых групп достоверно не различалось. Отмечена тенденция к более низкому абсолютному содержанию Трег у пациентов с АФС ($p = 0,05$) (табл. 1). Наиболее низкое абсолютное содержание Трег ($0,001–0,003 \times 10^9$ л) ($p < 0,05$) обнаружено у 6 пациентов группы исследования с уровнем ВА $\geq 1,6$ единиц.

Полученные данные согласуются с проведенным недавно исследованием E. R. Dal Ben et al. [2], в ходе которого было показано достоверное

снижение количества Трег в периферической крови у пациентов с АФС по сравнению с практически здоровыми лицами.

Таблица 1

Содержание Т клеток и их субпопуляций в периферической крови пациентов с антифосфолипидным синдромом

Субпопуляции Т клеток	Содержание клеток в периферической крови	
	Контрольная группа	Группа исследования (пациенты с АФС)
CD4+CD25+CD127- клетки, %	0,6 (0,5–0,8)	0,45 (0,2–0,6)
CD4+CD25+CD127- клетки, $\times 10^9$ л	0,0138 (0,0109–0,0152)	0,0054 (0,0038–0,0099)*
CD3+CD4+ клетки, %	44,7 (34,4–45,5)	42,25 (32,6–47,5)
CD3+CD4+ клетки, $\times 10^9$ л	0,8028 (0,6124–1,0500)	0,6502 (0,5790–0,9450)
CD3+CD8+ клетки, %	25,3 (25,1–28,5)	28,7 (25,1–33,2)
CD3+CD8+ клетки, $\times 10^9$ л	0,5216 (0,4276–0,5426)	0,4598 (0,3876–0,7689)
CD3+ клетки, %	72,4 (68,8–78,8)	74,0 (66,4–76,6)
CD3+ клетки, $\times 10^9$ л	1,68 (1,36–2,12)	1,46 (1,28–1,98)

Примечание: * $p = 0,05$.

При проведении корреляционного анализа выявлена высокая степень корреляционной зависимости уровня Трег в периферической крови пациентов группы исследования и содержания анти- $\beta 2$ -гп-1 антител класса М (табл. 2). Существует мнение о том, что при АФС анти- $\beta 2$ -гп-1 антитела класса М могут выполнять защитную функцию, способствуя сохранению иммунологического гомеостаза, чем можно объяснить взаимосвязь между ними и Трег в периферической крови пациентов группы исследования [1].

Таблица 2

Связь содержания субпопуляций Т клеток и антител у пациентов с антифосфолипидным синдромом

Параметры сравнения		Показатели анализа	
Субпопуляции Т клеток	Содержание антител	Коэффициент корреляции Спирмена (R)	Достоверность зависимости (p)
CD4+CD25+CD127- клетки, %	Анти- $\beta 2$ -гп-1 класс М	0,74	0,008
CD4+CD25+CD127- клетки, $\times 10^9$ л	Анти- $\beta 2$ -гп-1 класс М	0,72	0,018
CD3+CD4+ клетки, %	Анти-КЛ класс G	-0,82	0,04
CD3+CD8+ клетки, %	Анти-КЛ класс G	0,88	0,02

Примечание: показаны корреляционные связи с высокой степенью достоверности. Данные с недостоверным уровнем связи не представлены

Нами также обнаружена корреляционная зависимость между количеством CD4+ Т-клеток (обратная) и CD8+ Т-клеток (прямая) в периферической крови и уровнем анти-КЛ антител класса G (табл. 2). М. Karakantza et al. [4] также наблюдали в периферической крови пациентов с АФС сниженное количество активированных CD4+ Т-клеток и повышенное количе-

ство активированных CD8⁺ Т-клеток, что связывали с развитием клинических проявлений АФС [4].

Выводы. У пациентов с антифосфолипидным синдромом показана тенденция к снижению количества циркулирующих Т-регуляторных клеток в периферической крови по сравнению со здоровыми лицами. Выявлена корреляционная связь уровня Т-регуляторных клеток и содержания антителам к β 2-гликопротеину-1 класса М.

ЛИТЕРАТУРА

1. Калашникова, Л. А. Антитела к фосфолипидам и ишемические нарушения мозгового кровообращения в молодом возрасте / Л. А. Калашникова, Е. Л. Насонов, Е. Н. Александрова // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 1997. Т. 97. № 6. С. 59–65.

2. *Decreased levels of circulating CD4⁺25⁺Foxp3⁺ regulatory cells in patients with primary antiphospholipid syndrome* / E. R. Dal Ben [et al.] // Journal of Clinical Immunology. 2013, January 29. doi: 10.1007/s10875-012-9857-y.

3. *Fontenot, J. D. A well adapted regulatory contrivance: regulatory T cell development and the forkhead family transcription factor FoxP3* / J. D. Fontenot, A. Y. Rudensky // Natural Immunology. 2005. Vol. 4, N 6. P. 331–337.

4. *Type 1 and type 2 cytokine-producing CD4⁺ and CD8⁺ T cells in primary antiphospholipid syndrome* / M. Karakantza [et al.] // Annals of Hematology. 2004. Vol. 11, № 83. P. 704–711.

5. *Prevalence and clinical correlations of antibodies against six beta2-glycoprotein-I-related peptides in the antiphospholipid syndrome* / Y. Shoenfeld [et al.] // Journal of Clinical Immunology. 2003. P. 23377–23383.

Talako T. M.

T regulatory cells in patients with antiphospholipid syndrome

Antiphospholipid syndrome (APS) is an autoimmune disease with unknown multifactorial immunopathogenesis. Objective: to evaluate T cell subpopulations and antiphospholipid antibodies in peripheral blood of APS patients. 13 patients with APS and 11 healthy subjects were enrolled in study. Absolute numbers of CD4⁺ and CD8⁺ T cells were slightly decreased and number of CD4⁺CD25⁺CD127⁻Tregulatory cells showed a tendency to be decreased in APS patients in compare to healthy people ($p = 0,05$). The level of anti- β 2-glycoprotein-1 (anti- β 2-gp-1) immunoglobulin (Ig) M was normal and levels of anti- β 2-gp-1 IgG, anticardiolipin IgG and M, and lupus anticoagulant were elevated in patients with APS. Strong correlative link between content of CD4⁺25⁺127⁻ Treg cells and anti- β 2-gp-1 IgM ($R = 0,74$; $p = 0,008$) was found. Conclusion: down regulation of T regulatory cells contributes to autoantobodies production in APS.