

## СПОНТАННОЕ И СТИМУЛИРОВАННОЕ КОЛИЧЕСТВО РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-КЛЕТОК И АКТИВИРОВАННЫХ Т-ХЕЛПЕРОВ У ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ЮВЕНИЛЬНОГО ИДИОПАТИЧЕСКОГО АРТРИТА

© 2019 г. И. А. Пашнина<sup>1,2</sup>

E-mail: [irina\\_pashnina@list.ru](mailto:irina_pashnina@list.ru)

<sup>1</sup>Государственное автономное учреждение здравоохранения «Областная детская клиническая больница», Екатеринбург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» УрО РАН, Екатеринбург, Россия

Поступила: 04.03.2019. Принята: 19.03.2019

Обследованы дети 6–17 лет с ювенильным идиопатическим артритом: 42 больных в стадии активности заболевания, 11 пациентов с медикаментозной ремиссией, 10 детей – со стойкой ремиссией (без лечения) и 27 здоровых детей (контроль). Методом проточной цитометрии выявлено, что после 24-часовой инкубации (37 °С, 5% CO<sub>2</sub>) спонтанное и стимулированное фитогемагглютинином количество регуляторных Т-клеток (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low/neg</sup>) у всех пациентов с ЮИА было снижено по сравнению с контролем. Количество активированных Т-хелперов (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>+</sup>) не различалось.

**Ключевые слова:** ювенильный артрит, регуляторные Т-клетки, дети

DOI: 10.31857/S102872210006931-9

**Адрес:** 620149 Екатеринбург, ул. С. Дерябиной, 32, ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», клиничко-диагностическая лаборатория, Пашнина Ирина Александровна. Тел.: 8(343) 272-91-39, +79226004686 (моб.).

E-mail: [irina\\_pashnina@list.ru](mailto:irina_pashnina@list.ru)

**Автор:**

**Пашнина И. А.**, д.б.н., заведующая клиничко-диагностической лабораторией ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», Екатеринбург, Россия; с.н.с. лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» УрО РАН, Екатеринбург, Россия.

Ювенильный идиопатический артрит (ЮИА) – одно из наиболее часто встречающихся аутоиммунных-аутовоспалительных заболеваний у детей [1]. Оценка активности воспаления и эффективности терапии при аутоиммунной патологии в целом, и при ЮИА в частности, представляет значительную сложность. Лабораторные методы, используемые для этих целей, включая определение скорости оседания эритроцитов и концентрации С-реактивного белка, не всегда коррелируют с клинической картиной заболевания. Одной из возможных альтернатив может служить исследование субпопуляций активированных и супрессорных лимфоцитов

периферической крови. Снижение количества или функциональной активности регуляторных Т-клеток (Treg), основной ролью которых является подавление и ограничение иммунного ответа, наблюдается при различных аутоиммунных заболеваниях [2].

**Целью** работы явилась оценка спонтанного и стимулированного в условиях *in vitro* количества регуляторных Т-клеток и активированных Т-хелперов у детей с различной активностью ювенильного идиопатического артрита.

Обследованы дети 6–17 лет с ювенильным идиопатическим артритом: 42 больных в стадии активности заболевания (ЮИА-а) и 11 пациентов в стадии ремиссии (медикаментозная ремиссия, ЮИА-мр) получали болезнь-модифицирующую терапию (метотрексат и/или сульфасалазин и/или циклоспорин А); пациенты со стойкой ремиссией (10 детей, ЮИА-р) не принимали лекарственных препаратов. В качестве контрольной группы обследовано 27 условно здоровых детей. Образцы цельной периферической крови разводили глутаминсодержащей средой RPMI-1640 (Пан-Эко, Россия) в соотношении

1:9 и инкубировали в течение 24-х часов (37 °С, 5% CO<sub>2</sub>) без стимулятора и при стимуляции фитогемагглютинином (ФГА, Sigma) в конечной концентрации 20 мкг/мл. Оценку спонтанного и индуцированного количества Treg (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low/neg</sup>) и активированных Т-хелперов (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>+</sup>) проводили методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter, USA). Данные анализировали с помощью ковариационного анализа в рамках теории общих линейных моделей.

Спонтанное количество Treg у клинически здоровых детей составило 11,01%, во всех группах с ЮИА среднее значение не превышало 7% и было значимо ниже, чем в контроле (p<0,001). После стимуляции ФГА во всех исследованных группах число Treg увеличилось, наибольшее значение наблюдалось у здоровых детей: 57,76%. В группе с ЮИА-а число этих клеток достигло 36,21% (различия с контролем: p<0,01), в группе с ЮИА-мр — 41,21%, в группе с ЮИА-р — 28,23 (p<0,05). Как спонтанное, так и стимулированное количество CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>+</sup> во всех исследованных группах было менее 2% и не различалось.

Следует отметить, что количество регуляторных Т-клеток в периферической крови (без инкубации и стимуляции) у обследованных нами детей с ЮИА также было ниже контрольного при любой активности заболевания [3]. С.-М. Wei с соавт. в своем исследовании также выявили, что у детей с неактивной формой ювенильного идиопатического артрита количество регуляторных Т-клеток было снижено по сравнению со здоровыми детьми соответствующего возраста [4].

Таким образом, снижение числа Treg является стойким изменением в функционировании иммунной системы при ЮИА и не нормализуется даже в ремиссии заболевания. Дефицит су-

прессорных клеток, очевидно, является одним из ключевых механизмов развития ювенильного идиопатического артрита. Отсутствие восстановления количества регуляторных Т-клеток при ремиссии ЮИА может служить обоснованием длительного наблюдения за детьми со стойкой ремиссией заболевания. При этом целесообразно контролировать численность этой субпопуляции. Проведение длительных катамнестических наблюдений у пациентов со стойкой ремиссией должно дать ответ на вопрос, может ли количество Treg восстановиться до нормальных величин.

Работа выполнена в рамках госзадания ИИФ УрО РАН (Регистрационный номер НИОКТР № АААА-А18-118020590108-7).

Автор искренне благодарит врачей Областной детской клинической больницы (г. Екатеринбург) Козлову Е. С., Скоробогатову О. В. за подбор пациентов для исследования.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Rypdal V., Arnstad E. D., Aalto K., Berntson L., Ekelund M., Fasth A., Glerup M., Herlin T., Nielsen S., Peltoniemi S., Zak M., Rygg M., Rypdal M., Nordal E. Predicting unfavorable long-term outcome in juvenile idiopathic arthritis: results from the Nordic cohort study. *Arthritis Research & Therapy* 2018, 20:91.
2. Sakaguchi S. Regulatory T Cells: History and Perspective. *Methods in Molecular Biology* 2011, 707, 3–17.
3. Пашина И. А. Субпопуляции Т-лимфоцитов у детей с различной активностью ювенильного идиопатического артрита. *Российский иммунологический журнал*. 2018, 12(21), 3, 391–395. [Pashina I. A. Subpopulation structure of T-Lymphocytes in children with different activity of juvenile idiopathic arthritis. *Russian Journal of Immunology*. 2018, 12(21), 3, 391–395.]
4. Wei C.-M., Lee J.-H., Wang L.-C., Yang Y.-H., Chang L.-Y., Chiang B.-L. Frequency and phenotypic analysis of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in children with juvenile idiopathic arthritis. *Journal of microbiology, immunology and infection* 2008, 41, 1, 78–87.

## SPONTANEOUS AND STIMULATED AMOUNT OF REGULATORY T-CELLS AND ACTIVATED T-HELPERS IN CHILDREN WITH DIFFERENT ACTIVITY OF JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS

© 2019 I. A. Pashnina<sup>1,2</sup>

*E-mail: irina\_pashnina@list.ru*

<sup>1</sup>*Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg, Russia;*

<sup>2</sup>*Institute of Immunology and Physiology, Urals Branch of the Russian Acad. Sci., Yekaterinburg, Russia*

**Received:** 04.03.2019. **Accepted:** 19.03.2019

Children of 6–17 years old with different activity of juvenile idiopathic arthritis were examined: 42 with active arthritis, 11 with remission (with therapy), 10 children with persistent remission (without therapy) and 27 apparently healthy children. It was revealed by flow cytometry that after 24-hours incubation (37 °C, 5% CO<sub>2</sub>) the spontaneous and phytohemagglutinin-stimulated amount of regulatory T-cells (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low/neg</sup>) in all groups with juvenile idiopathic arthritis was decreased in comparison with healthy children. The number of activated T-helpers (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>+</sup>) in all groups was the same.

*Key words:* juvenile idiopathic arthritis, regulatory T-cells, children

**Author:**

**Pashnina I. A.**, PhD, Chief of Clinical Diagnostics Laboratory, Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg, Russian Federation. Researcher of Laboratory of Immunology of Inflammation, Institute of Immunology and Physiology, Yekaterinburg, Russian.