

КО-ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРОВ К ФАКТОРУ НЕКРОЗА ОПУХОЛИ АЛЬФА В СУБПОПУЛЯЦИЯХ Т-КЛЕТОК ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

© 2019 г. А. А. Альшевская^{1*}, И. А. Беломестнова¹, Ю. В. Жукова¹,
О. А. Чумасова¹, Н. С. Шкаруба¹, А. Э. Сизиков¹,
Ю. А. Сенникова³, О. П. Воробьева^{1,2}

*E-mail: alkkina@yandex.ru

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

²ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия;

³ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

Поступила: 04.03.2019. Принята: 15.03.2019

Фактор некроза опухоли альфа (TNF α) выступает как основной про-воспалительный цитокин в иммунных процессах при ревматоидном артрите (РА). При этом активность и функции TNF α могут регулироваться не только растворимыми рецепторами (которые действуют в основном как нейтрализаторы действия), но также количеством, плотностью и ко-экспрессией его мембраносвязанных рецепторов 1 и типа 2 (TNFR1 и TNFR2). Анализ параметров ко-экспрессии TNFR1 и TNFR2 у больных РА по сравнению со здоровыми донорами продемонстрировал, что изменения количества и ко-экспрессии рецепторов типа 1 и типа 2 для TNF-альфа на поверхности иммунокомпетентных клеток ассоциированы с показателями активности заболевания.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, иммунорегуляторные цитокины, фактор некроза опухоли, Т-клетки, рецепторы к цитокинам

DOI: 10.31857/S102872210006764-5

Адрес: 630099 г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, д. 14, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория молекулярной иммунологии, Альшевская Алина Анатольевна. Тел./факс: +7(383) 222-19-10

E-mail: alkkina@yandex.ru

Авторы:

Альшевская А. А., к.м.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Беломестнова И. А., аспирант лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Жукова Ю. В., аспирант лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Чумасова О. А., к.м.н., врач ревматологического отделения Клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Шкаруба Н. С., к.м.н., врач ревматологического отделения Клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Сизиков А. Э., д.м.н., заведующий ревматологическим отделением Клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Сенникова Ю. А., к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России;

Воробьева О. П., к.м.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия; преподаватель кафедры клинической биохимии Института медицины и психологии им. В. Зельмана Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

Фактор некроза опухоли альфа (TNF α) активно участвует в развитии и прогрессировании

хронического воспаления при ревматоидном артрите (РА). При этом изменение соотношения рецепторов разных типов к TNF α может привести к сдвигу баланса между проапоптотическими и пролиферативными сигнальными путями, что имеет решающее значение для воспалительных процессов при РА.

Целью исследования было проанализировать изменение параметров ко-экспрессии рецепторов 1 и 2 типа к TNF α у пациентов с РА на отдельных субпопуляциях клеток периферической крови, активно вовлеченных в иммунопатологические процессы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализирована ко-экспрессия рецепторов к TNF α у 64 пациентов РА с высокой (78,1%), средней (12,5%) и низкой (9,4%) активностью заболевания в возрасте 22–83 лет (медиана (ИКР) 55 (45–65) года), среди которых 54 женщины (84,4%). В качестве контрольной группы использованы данные 46 условно-здоровых доноров в возрасте 18–7 лет (медиана (ИКР) 36,5 (30–54) года), среди которых 30 (65,2%) женщин. Для оценки уровня экспрессии и ко-экспрессии рецепторов 1 и 2 типа к TNF α использовались мононуклеарные клетки (МНК), выделенные из периферической крови.

Пробоподготовку проводили с помощью лизирующего буфера BD FACS Lysing Solution (кат. номер 349202; BD, США) согласно инструкции производителя. Оценка фенотипических характеристик проводилась методом проточной цитометрии (цитофлуориметр FACSVerse (BD, США)) с использованием моноклональных антител: CD3 APC/Cy7, CD19 PE/Cy7, CD8 APC/Cy7, CD14 PerCP, CD25 FITC, CD127 (IL-7R α) APC/Cy7, CD45RO FITC, CD45RA Pacific Blue, CD45 PerCP, CD4 Pe/Cy7 (BD Biosciences, США), TNFR1-PE, TNFR2-PE, TNFR1-APC, TNFR2-APC (R&D Systems, США). Обработка данных производилась с использованием программного обеспечения FACS Diva (BD, США). Для расчета абсолютного количества рецепторов на клетках использовали коммерческий набор BD QuantiBRITE PE (BD Biosciences, США).

Статистическая обработка полученных данных выполнена в программе Statistica 7.0, с использованием тестов Манна-Уитни и Краска-

ля-Уоллиса с поправкой на множественные сравнения. Корреляции между параметрами исследовались с помощью критерия Пирсона. Статистически значимыми различия считались при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

Полученные данные демонстрируют, что субпопуляции иммунокомпетентных клеток значительно различаются по показателям ко-экспрессии рецепторов 1 и 2 типа к TNF α . Установлено, что активированные Т-хелперные клетки и Т-регуляторные клетки экспрессируют наибольшее количество рецепторов обоих типов среди всех исследованных субпопуляций. Кроме того, среди Т-регуляторных клеток и Т-хелперных клеток памяти подавляющее большинство клеток (более 95%) экспрессирует хотя бы один из типов рецепторов к TNF, а наибольший процент дубль-позитивных клеток характерен для активированных цитотоксических Т-лимфоцитов.

Исследованы ассоциации между показателями тяжести и активности заболевания (индекс DAS-28, давность заболевания, рентгенологическая стадия, стадия активности, уровни РФ, АЦЦП и С-РБ, наличие системных проявлений и эрозивного артрита) и параметрами экспрессии рецепторов к TNF α на субпопуляциях иммунокомпетентных клеток. Выявлены следующие корреляционные взаимосвязи: ревматоидный фактор положительно коррелирует с процентом дубль-позитивных TNFR1⁺TNFR2⁺ клеток среди наивных и Т-клеток памяти как для Т-хелперных, так и для цитотоксических Т-клеток; уровень С-реактивного белка положительно коррелировал с процентом клеток, несущих только рецептор 1 типа, среди всех исследованных субпопуляций Т-лимфоцитов; наличие системных проявлений отрицательно коррелирует с количеством рецепторов как 1, так и 2 типа на наивных Т-хелперных и цитотоксических клетках. Данные показатели могут иметь диагностическое значение для оценки выраженности воспалительного процесса при РА.

Таким образом, профиль ко-экспрессии TNFR1/2 изменяется при РА по сравнению со здоровыми донорами, при этом изменения в параметрах ко-экспрессии ассоциированы с показателями активности ревматоидного артрита.

CO-EXPRESSION OF RECEPTORS TO THE ALPHA TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA IN T CELL SUBPOPULATIONS IN RHEUMATOID ARTHRITIS

© 2019 A. A. Alshevskaya^{1*}, I. A. Belomestnova¹, J. V. Zhukova¹, O. A. Chumasova¹, N. S. Shkaruba¹, A. E. Sizikov¹, J. A. Sennikova³, O. P. Vorobyeva^{1,2}

*E-mail: alkkina@yandex.ru

¹Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology", Novosibirsk, Russia;

²Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia;

³Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

Received: 04.03.2019. **Accepted:** 15.03.2019

The tumor necrosis factor alpha (TNF α) play key role as the main pro-inflammatory cytokine in immune processes in rheumatoid arthritis (RA). However, the activity and functions of TNF α can be regulated not only by soluble receptors (which act primarily as neutralizers of action), but also by the amount, density, and co-expression of its membrane-bound receptors type 1 and 2 (TNFR1 and TNFR2). Analysis of the co-expression parameters of TNFR1 and TNFR2 in RA patients compared with healthy donors showed that changes in the amount and co-expression of type 1 and type 2 receptors for TNF-alpha on the surface of immunocompetent cells are associated with indicators of disease activity.

Key words: rheumatoid arthritis, immunoregulatory cytokines, tumor necrosis factor, Tcells, cytokine receptors

Authors:

Alshevskaya A. A., ✉ PhD, Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (RIFCI), Novosibirsk, Russia. **E-mail:** alkkina@yandex.ru;

Belomestnova I. A., PhD student, Laboratory of Molecular Immunology, RIFCI, Novosibirsk, Russia;

Zhukova J. V., PhD student, Laboratory of Molecular Immunology, RIFCI, Novosibirsk, Russia;

Chumasova O. A., PhD, rheumatologist, Rheumatology Department, Clinic of Immunopathology, RIFCI, Novosibirsk, Russia;

Shkaruba N. S., PhD, rheumatologist, Rheumatology Department, Clinic of Immunopathology, RIFCI, Novosibirsk, Russia;

Sizikov A. E., PhD, Head of Rheumatology Department, Clinic of Immunopathology, RIFCI, Novosibirsk, Russia;

Sennikova J. A., PhD, Associate Professor, Department of Clinical Immunology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia;

Vorobyeva O. P., PhD, Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia; Lecturer, Department of Clinical Biochemistry, Institute of Medicine and Psychology V. Zelman, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia.