

ТИМУС В КЛИНИКЕ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ. АКТУАЛЬНОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИЖИЗНЕННОГО МОНИТОРИНГА

© 2019 г. М. В. Головизнин^{1*}, Н. С. Лахонина¹, В. Т. Тимофеев²,
Ю. А. Булдакова¹

*E-mail: ordinatormgmsu@mail.ru

¹ФГБОУ ВО Московский Государственный медико-стоматологический университет
им. А. И. Евдокимова МЗ РФ, Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО Российский Научно-исследовательский медицинский университет
им. Н. И. Пирогова МЗ РФ, Москва, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 02.04.2019

Ведущая роль тимуса в становлении приобретенного иммунитета известна более полувека, притом что, в клинической иммунологии оценка Т-клеточного иммунитета сводится к тестированию все возрастающего количества объектов иммунной периферии при игнорировании «центра», каковым являются тимус. Наши данные показали, что TREC (эксцизионные кольца реаранжировки генов цепей Т-клеточного рецептора) могут стать важным звеном, позволяющим косвенно оценить функцию тимуса у взрослых и даже у пожилых людей, доноров и больных ревматоидным артритом. Развитие этого подхода позволит в будущем сформировать комплексный мониторинг тимуса при иммунопатологии.

Ключевые слова: тимус, ревматоидный артрит, иммунная периферия, TREC, рецепторы Т-клеток

DOI: 10.31857/S102872210006460-1

Адрес: 127473 Москва, Делегатская ул., 20/1, ГБОУ ВО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова, Головизнин Марк Васильевич. Тел.: 8 (495) 609-67-00

E-mail: ordinatormgmsu@mail.ru

Авторы:

Головизнин М. В., к.м.н., доцент кафедры внутренних болезней стоматологического факультета ГБОУ ВО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова, Москва, Россия;

Лахонина Н. С., ассистент кафедры внутренних болезней стоматологического факультета ГБОУ ВО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова, Москва, Россия;

Тимофеев В. Т., д.м.н., ведущий научный сотрудник кафедры факультетской терапии им. А. И. Нестерова ГБОУ ВО Российский научно-исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

Булдакова Ю. Р. к.м.н., доцент кафедры внутренних болезней стоматологического факультета ГБОУ ВО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова, Москва, Россия.

Установление центральной роли тимуса в становлении клеточного иммунитета пробудило

большой интерес к нему со стороны клиницистов. Уже к концу XX столетия был сгруппирован целый ряд синдромов, при которых обнаруживалась та или иная патология тимуса. Аутоиммунные заболевания (АИЗ) занимали в этой группе одно из ведущих мест. Как показывают данные литературы, косвенная оценка роли тимуса в становлении Т-системы иммунитета в норме и патологии, возможна с помощью определения в Т-клетках крови т.н. эксцизионных колец реаранжировки генов Т-клеточного рецептора (TREC). Эти плазмидоморфные фрагменты ДНК образуются в ходе тимической дифференцировки Т-клеток и накапливаются в значимых количествах в т. н. «ранних тимических эмигрантах» (РТЭ), только что вышедших из тимуса на периферию [1]. Исходя из этого, оценка TREC перспективна прежде всего при системных АИЗ, характеризующихся генерализованным дефектом аутоотолерантности. Однако до недавнего времени TREC, определялись лишь при неона-

тальной тимэктомии и их оценка, особенно, при болезнях взрослых, требует дальнейшего накопления данных [2].

Целью данной работы явилась оценка уровня TREC у доноров разных возрастных групп, а также у больных РА и ИБС и определение взаимосвязи TREC с экспрессией мембранных маркеров популяций Т-лимфоцитов крови.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оценка TREC проводилась с помощью ПЦР в режиме реального времени с использованием реагентов TaqMan Universal и др. Оценка мембранных молекул Т-лимфоцитов крови проводилась с помощью проточной цитометрии с использованием моноклональных антител Beckton Coulter.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследование TREC было проведено у 40 практически здоровых лиц в возрасте от 16 до 62 лет. В соответствии с возрастной классификацией ВОЗ от 2016 года доноры были разделены на четыре группы. При сравнении уровня TREC в данных группах были получены различия ($N=7,783$, $p=0,051$) между первой и четвертой группами доноров: «Юношеский возраст» (до 24 лет,) Уровень TREC (Медиана (25%; 75%) составил 0,40377 (0,20494; 0,67708) и «Пожилой возраст» (60–74 года). Уровень TREC (Медиана (25%; 75%) – 0,01637 (0,0137; 0,01917). Таким образом, вопреки мнению об инволюции тимуса к 40-летнему возрасту, мы показали, что TREC (а значит и тимическая дифференцировка) присутствуют даже у лиц пожилого возраста, хотя и в значительно меньшей степени, чем у молодых. Тем не менее, при анализе взаимосвязи между возрастом доноров и уровнем TREC была выявлена значимая средней силы отрицательная корреляция ($R=-0,459$, $p=0,003$), отражающая постепенное снижение функциональной активности тимуса у пожилых.

Исследование TREC было также выполнено у 27 больных РА в возрасте от 32 до 67 лет. Среднее содержание TREC составило 0,056618 (0,01767; 0,264584) у.е. С возрастом у больных РА наблюдалось также снижение уровня TREC, подтвержденное значимой отрицательной корреляцией ($R=-0,442$, $p=0,027$). Значение R было близко к таковому у доноров, что не позволяет говорить о наличии более раннего снижения активности тимуса при РА по сравнению

со здоровыми. Уровень TREC при ИБС (23 больных острым инфарктом миокарда (ОИМ) и 12 больных хроническими формами ИБС) был значительно ниже такового у доноров. Однако надо учитывать, что данные группы не являлись сопоставимыми по возрасту. При ОИМ нами выявлена отрицательная корреляция средней силы между уровнем TREC и возрастом ($R=-0,598$, $p=0,003$). При хронических формах ИБС эта корреляция была статистически незначимой, что может объясняться наиболее старшим возрастом и наиболее низким уровнем TREC в этой группе. При определении взаимосвязей между TREC и мембранными маркерами Т-лимфоцитов крови у всех обследованных лиц нами обнаружена средней силы значимая положительная корреляция между TREC и рецептором CD4 ($R=0,578$, $P<0,01$), а также TREC и уровнем клеток CD3⁺CD4⁺ ($R=0,562$, $p<0,001$). В то же время, корреляция между TREC и экспрессией CD8 была достоверно отрицательной ($R=-0,347$, $p=0,028$). Корреляция между TREC и уровнем клеток CD3⁺CD8⁺ была также отрицательной с достоверностью на уровне тенденции. Аналогичная закономерность взаимосвязи между TREC и экспрессией CD4 отмечалась при РА ($R=0,541$, $p=0,03$) и при ИБС ($R=0,651$, $p=0,003$). При этом, при РА уровень клеток CD3⁺CD8⁺ также достоверно отрицательно коррелировал с TREC ($R=-0,560$, $p=0,03$), а при ИБС эта корреляция не имела достоверности. С учетом этих данных можно предположить, что Т-клетки CD4⁺ имеют в своем составе большее число РТЭ, чем клетки CD3⁺CD8⁺, которые, вероятно, обладают большей степенью автономии от тимуса. Интересно, что у практически здоровых лиц мы выявили значимую сильную отрицательную корреляцию между содержанием TREC и «тройных позитивных» клеток CD3⁺CD4⁺CD8⁺ ($R=-0,829$, $p=0,042$). Поскольку данная субпопуляция Т-клеток памяти не относится к РТЭ, то отрицательная корреляция вполне логична и свидетельствует о накоплении Т-клеток памяти с возрастом. Уровень клеток CD3⁺CD4⁺CD8⁺ у доноров также имел достоверную положительную корреляцию с возрастом ($R=0,520$, $p=0,019$), что подтверждает вышеуказанные суждения. Если сказать о корреляциях экспрессии мембранных маркеров Т-клеток крови в зависимости от возраста чуть более подробно, то у доноров мы наблюдали значимое снижение уровня экспрессии рецептора CD3, притом, что индекс CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ с возрастом не менялся.

При РА результаты были иными. Наблюдались слабые положительные корреляции между процентным уровнем CD8⁺ и CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов и возрастом ($R=0,339$, $p=0,008$ и $R=0,348$, $p=0,007$ соответственно). Абсолютное количество цитотоксических Т-клеток CD3⁺CD8⁺ также имело слабую положительную корреляцию с возрастом ($R=0,264$, $p=0,043$). Уровень CD4⁺, напротив, имел слабую отрицательную корреляцию с возрастом как в процентном содержании ($R= -0,281$, $p=0,028$), так и в абсолютных числах ($R= -0,306$, $p=0,016$). Если предположение, что клетки CD3⁺CD4⁺ в большей степени связаны с тимусом, а клетки CD3⁺CD8⁺ – автономны, – верно, то указанная возрастная динамика их при РА требует тщательного мониторинга и функции тимуса и периферических процессов Т-клеточного созревания, которые могут быть разобщены при РА, особенно, у пожилых. В то же время, исследование фенотипа лимфоцитов у больных ИБС в зависимости от возраста полученные результаты не имели статистически значимых отличий от практически здоровых лиц.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, для мониторинга функции тимуса *in vivo* и возможен и актуален комплексный подход. Логично, что, наряду с лабораторным тестированием ТREC и фенотипа Т-клеток в него были бы включены УЗИ, компьютерная томография, МРТ, радионуклидное сканирование тимуса. Однако до настоящего времени данный подход так и не нашел применения в клинической иммунологии. Это связано, во-первых, с анатомическими трудностями визуализации, а также физикального исследования не увеличенного тимуса взрослых, во-вторых, с существующей парадигмой, что, тимус в постпубертатный период подвергается инволюции

и в возрасте 40–45 лет полностью замещается жировой тканью. Иммунологи также долго не могли прийти к консенсусу относительно того, является тимус пусковым фактором АИЗ или же их мишенью [3]. Затянувшиеся дискуссии и неопределенность их результата привели к тому, что на практике тимус как бы перестали замечать. Изучение Т-клеточного иммунитета сводится к тестированию все возрастающего пула объектов «иммунной периферии» – популяций Т-лимфоцитов крови и иммунотропных молекул, секретируемых клетками. Если, например, в неврологии и эндокринологии, изучение центральных и периферических органов, а также связи между ними, происходит достаточно пропорционально, то в клинической иммунологии сложился парадоксальный перекоп в сторону изучения периферийных феноменов при игнорировании «центра», в данном случае – тимуса. При этом фундаментальная наука все громче говорит о его ведущей роли в патогенезе иммунопатологии взрослых.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Хайдуков С. В. Малые субпопуляции Т-хелперов (Th наивные тимические, Th наивные центральные, Th9, Th22 и CD4⁺CD8⁺ дважды положительные Т-клетки) // Медицинская иммунология. – 2013. – том 15, № 6 – С. 503–512. [Khaidukov S. V. Minor T-helpers subpopulations (Naïve Th, Th9, Th22 and CD4⁺CD8⁺ double positive T-cells) Med. Immunol, 2013;15(6), 503–512].
2. Донецкова А. Д., Ярилин А. А. Т-рецепторные эксцизионные кольца и значимость их определения в клинике // Иммунология. – 2013. – № 4. – С. 220–226. [Donetskova A. D., Yarilin A. A. T-cells rearrangement excision circles and the role of its assessment in clinical practice. Immunologiya. 2013;4, 220–226]
3. Ярилин А. А. Основы иммунологии. – Москва: «Медицина», 1999 г. – 608 с. [Yarilin A. A. Basic immunology. Moscow. Meditsina. 1999 608 p.]

THYMUS IN AUTOIMMUNE DISEASES CLINIC. THE ACTUALITY
AND PROSPECTIVES OF “*IN VIVO*” MONITORING

© 2019 M. V. Goloviznin^{1*}, N. S. Lakhonina¹, V. T. Timofeev²,
Yu. R. Buldakova¹

*E-mail: ordinatormgmsu@mail.ru

¹A. I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia,

²N. I. Pirogov Russian Scientific-Research State Medical University, Moscow, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 02.04.2019

The leading role of Thymus in adoptive immunity development was established 50 years ago. Nevertheless T-cells immunity monitoring in clinical immunology is now testing of growing number of “immune periphery” items disregarding thymus as a central T-immunity organ. We showed that T-cells rearrangement excision circles (TREC) could be the important chain in thymus and peripheral T-cells function assessment in adult and aged healthy donors and rheumatoid arthritis patients. It will create the possibility to form more complex “*in vivo*” monitoring of thymus activity in autoimmunity

Key words: thymus, rheumatoid arthritis, immune periphery, TREC, T-cells receptors

Authors:

Goloviznin M. V., ✉ PhD, Associate professor of the Department of Internal Diseases of dental faculty of A. I. Evdokimov, Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia. E-mail: ordinatormgmsu@mail.ru;

Lakhonina N. S., Assistant professor of the Department of Internal Diseases of dental faculty of A. I. Evdokimov, Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia;

Timofeev V. T., D. Sci, Leading researcher of Faculty therapy department of N. I. Pirogov Russian Scientific-Research University, Moscow, Russia;

Buldakova Yu R., PhD, Associate professor of the Department of Internal Diseases of dental faculty of A. I. Evdokimov, Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia.