

Чуров А.В., Новицкая А.В., Коломейчук С.Н., Олейник Е.К.

## ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ: РОЛЬ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Институт биологии - обособленное подразделение ФГБУН Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», 185910, Петрозаводск, Россия

*Патогенез ревматоидного артрита (РА) определяется комплексным действием генетических факторов и факторов среды, которые могут приводить нарушению баланса между эффекторными и регуляторными компонентами иммунной системы. Значительную роль в поддержании такого баланса играют Т-клетки и, в особенности, регуляторные Т-лимфоциты (Treg), однако механизмы функционирования субпопуляций Т-клеток, а также роль отдельных этиологических факторов при РА до конца не изучены. Целью работы было изучение показателей клеточного иммунитета при РА, в особенности Т- и Treg-клеток при РА в зависимости от степени активности заболевания и наличия цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекции. Экспрессию мембранных и внутриклеточных молекулярных маркеров лимфоцитов оценивали с помощью метода многоцветной проточной цитометрии. Содержание антител ЦМВ в плазме крови определяли методом иммуноферментного анализа. У пациентов с РА наблюдалось достоверное снижение количества клеток с фенотипами CD4<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> в зависимости от стадии активности РА. Наличие ЦМВ-инфекции у больных РА сопровождалось снижением числа регуляторных Т-клеток (Treg), CD3<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> клеток периферической крови. Наряду с этим при РА отмечался рост уровня В-лимфоцитов и CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Т-клеток. Отмечено увеличение уровня антител к ЦМВ в зависимости от степени активности РА.*

*Таким образом, полученные данные предполагают, что наличие ЦМВ-инфекции может оказывать существенное воздействие на состояние отдельных субпопуляций лимфоцитов при развитии РА.*

**Ключевые слова:** ревматоидный артрит; аутоиммунные заболевания; цитомегаловирус; Treg-клетки; FOXP3; лимфоциты.

**Для цитирования:** Чуров А.В., Новицкая А.В., Коломейчук С.Н., Олейник Е.К. Показатели клеточного иммунитета при ревматоидном артрите: роль цитомегаловирусной инфекции. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (2): 98-103. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821.0869-2084-2019-64-2-98-103>

Churov A.V., Novitskaya A.V., Kolomeichuk S.N., Oleinik E.K.

### INDICES OF CELL-MEDIATED IMMUNITY IN RHEUMATOID ARTHRITIS: THE ROLE OF CYTOMEGALOVIRUS INFECTION

Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, 185910, Russian Federation

*The pathogenesis of rheumatoid arthritis (RA) is driven by a combined action of genetic and environmental factors, which can upset the balance between the effector and regulatory components of the immune system. An important actor in maintaining such balance is T cells, especially regulatory T lymphocytes (Treg), but the mechanisms behind the functioning of T cell subpopulations and the roles of individual etiological factors in RA have not been fully elucidated. This study aimed to investigate the indices of cell-mediated immunity, especially T- and Treg cells, in RA patients depending on the disease activity and presence of cytomegalovirus (CMV) infection. The expression of membrane and intracellular molecular markers of lymphocytes was estimated by multicolor flow cytometry. The content of antibodies to CMV in blood plasma was measured by enzyme immunoassays. Patients with RA had reliably reduced numbers of cells with the phenotypes CD4<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> correlating with the stage of RA activity. RA patients with CMV infection showed a reduction in the number of regulatory T cells (Treg), CD3<sup>+</sup> T lymphocytes, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> cells in peripheral blood. At the same time, RA involved a rise in the level of B cells and CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cells. The level of antibodies to CMV was observed to grow in line with RA activity. Thus, the data obtained suggest that the presence of CMV infection can significantly influence the state of individual lymphocyte subpopulations during RA development.*

**Key words:** rheumatoid arthritis; autoimmune diseases; cytomegalovirus; Treg cells; FOXP3; lymphocytes.

**For citation:** Churov A.V., Novitskaya A.V., Kolomeichuk S.N., Oleinik E.K. Indices of cell-mediated immunity in rheumatoid arthritis: the role of cytomegalovirus infection. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostic)*. 2019; 64 (2): 98-103 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-2-98-103>

**For correspondence.** Churov A.V., PhD, Senior researcher, Immunology group; e-mail: [achurou@yandex.ru](mailto:achurou@yandex.ru)

#### Information about authors:

Churov A.V., <http://orcid.org/0000-0002-3920-7581>  
Novitskaya A.V., <https://orcid.org/0000-0003-4585-729>  
Kolomeichuk S.N., <http://orcid.org/0000-0003-3104-3639>  
Oleinik E.K., <https://orcid.org/0000-0001-9266-1129>

**Acknowledgment.** The studies were funded from the federal budget under state order to KarRC RAS project № 0221-2017-0043, and within RFBR project № 16-04-00567.

**Conflict of interests.** The authors declare absence of conflict of interests.

Received 30.01.2019  
Accepted 01.02.2019

*Введение.* Ревматоидный артрит (РА) – аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, сопровождаемое воспалительными процессами в соединительной ткани суставов. Клиническая картина РА чрезвычайно вариабельна и представлена широким спектром патологических процессов, которые приводят к значительному снижению качества жизни пациентов и сокращению их продолжительности жизни. Пик заболеваемости РА приходится на возрастной период 40-60 лет. Хроническое прогрессирующее течение РА приводит к деструкции суставов, в результате чего возникает высокий риск инвалидизации пациентов. Показатели распространенности РА в мире варьируют в пределах 0,5-2% в различных популяциях [1]. В России распространенность данного заболевания составляет 2-5 % среди взрослого населения трудоспособного возраста. По данным Министерства здравоохранения РФ ежегодно возрастает количество вновь зарегистрированных пациентов с диагнозом РА [2].

Развитие РА сопровождается дисбалансом иммунорегуляторных механизмов обуславливающих функции эффекторных и супрессорных субпопуляций клеток. Эти механизмы в норме ограничивают патологическую активацию Т- и В-лимфоцитов, участвующих в иммуновоспалительных процессах, предупреждают развитие аутореактивности. Аутоиммунные реакции при РА опосредованы преимущественно активностью Т-клеток. Особую роль играют регуляторные Т-клетки (Treg), контролирующие развитие иммунного ответа и супрессию функциональной активности различных субпопуляций иммуноцитов в норме и при патологиях [3-6].

Для характеристики фенотипа Treg-клеток применяют различные мембранные и внутриклеточные молекулярные маркеры, которые, однако, экспрессируются и на других лимфоцитах, что затрудняет изучение функций этих клеток [7,8]. Надежным маркером Treg-лимфоцитов считается транскрипционный фактор forkhead box P3 (FOXP3), участвующий в процессах дифференцировки Treg-лимфоцитов, и играющий ключевую роль в реализации их функций. Фенотип Treg-клеток отличается также высокой конститутивной экспрессией  $\alpha$ -цепи рецептора интерлейкина (IL)-2 (CD25) [7]. Литературные данные о количественном содержании в периферической крови различных субпопуляций Т-клеток при РА зачастую неоднозначны. Было показано, что экспериментальная элиминация Treg-лимфоцитов приводит к экспансии Т-клеток эффекторов и к развитию аутоиммунных реакций [9].

Следует отметить, что механизмы, обеспечивающие супрессию аутоиммунного ответа на клеточном уровне, изучены недостаточно. Предполагается, что нарушение иммунной регуляции с участием Treg-клеток при РА может быть вызвано снижением количества этих клеток и/или ослаблением их функциональной активности. Однако результаты работ разных авторов по данной проблеме не всегда согласуются между собой [10-12]. В связи с этим изучение состояния пула Treg-клеток при РА представляется очень важным для понимания патогенеза заболевания и разработки эффективных иммуноотерапевтических подходов.

Несмотря на колоссальный прогресс в развитии современных подходов лечения РА, этиология и патогенез данного заболевания по-прежнему остаются мало изученными. Этиологические факторы РА в настоящее время не установлены. Однако все большее внимание исследователей отводится роли вирусных инфекций в развитии РА.

Значительный интерес представляет изучение роли цитомегаловируса человека (ЦМВ), оказывающего существенное влияние на модуляцию функций отдельных иммуноцитов и развитие воспалительных процессов у пациентов с РА. ЦМВ широко распространен в популяции и обладает высокой тропностью к некоторым популяциям лимфоидных клеток, которые в свою очередь играют важную роль в патогенезе основного заболевания - РА. Несмотря на то что, роль ЦМВ в развитии аутоиммунных заболеваний не доказана, ряд работ продемонстрировали роль ЦМВ, как возможного этиологического фактора при таких заболеваниях, как Синдром Сьоргена и системная красная волчанка.

Данные литературы о роли ЦМВ-инфекции при развитии РА неоднозначны. Было показано, что при РА ЦМВ-инфекция может приводить к экспансии клонов антиген-специфичных Т-клеток, а также к повышению экспрессии лейкоцитарного Ig-подобного рецептора NK-клеток LIR-1 на мембране Т-клеток пациентов с РА [13].

ДНК ЦМВ обнаружена в периферической крови [14], синовиальной жидкости сустава [14,15], синовиальной оболочке пациентов с РА [15]. Изучение серологических показателей по уровню специфических антител также указывает на потенциальную роль ЦМВ-инфекции в развитии РА [16].

Учитывая текущее состояние проблемы целью работы было изучение изменений субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток и, прежде всего, Treg-лимфоцитов у больных РА на фоне ЦМВ-инфекции.

*Материал и методы.* Исследовательский материал получен при содействии кафедры госпитальной терапии медицинского института ПетрГУ на базе ГБУЗ РК «Республиканская больница им. В. А. Баранова». Проведение научно-исследовательской работы одобрено в Комитете по медицинской этике при ПетрГУ и Министерстве здравоохранения и социального развития Республики Карелия (протокол от 12.02.2013 г. № 25).

В ходе исследования был проведен анализ 24 образцов периферической крови пациентов с диагнозом «ревматоидный артрит» в возрасте 60,59±10,86 лет. Критерии включения пациентов в исследование: мужчины и женщины 18-85 лет с подтвержденным диагнозом «ревматоидный артрит», проинформированные и подписавшие согласие об участии в эксперименте. Критерии исключения из работы: инфекционно-воспалительные заболевания за последний месяц, беременность и лактация, курение, сахарный диабет, наличие иных заболеваний, влияющих на функциональность Treg-клеток (аллергии, наличие опухолей и аутоиммунных заболеваний, за исключением РА). Постановка диагноза «ревматоидный артрит» прово-

Содержание субпопуляций лимфоцитов в периферической крови здоровых лиц и больных РА в зависимости от степени активности РА

Фенотипы	Контроль (n= 18)	Больные РА (n= 24)		
		Все больные (n= 24)	I степень активности (n= 9)	II-III степень активности (n= 15)
CD3 <sup>+</sup>	60,4±7,2	62,4±11,8	61,7±9,5	64,4±10,8
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	39,1±5,6	43,0±10,1*	42,06±12,4	46,42±9,13*
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup>	9,0±1,7	18,4±4,8 *	16,8±3,2*	20,3±4,6*
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	22,3±5,5	19,2±6,9	20,7±4,8	17,8±3,5
CD3 <sup>+</sup> CD19 <sup>+</sup>	9,1±1,6	10,3±4,6	8,6±1,5	11,8±4,8
CD3 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup>	15,1±5,4	11,1±5,4 *	6,83±2,1*	13,4±5,7
CD4 <sup>+</sup> FOXP3 <sup>+</sup>	6,97±3,2	7,03±3,2	8,64±3,4*	4,35±0,7*
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> FOXP3 <sup>+</sup>	4,39±0,8	4,35±1,5	5,37±1,5*	3,57±0,9*

Примечание. \* – различия достоверны по сравнению с контролем,  $p < 0,05$ . Содержание клеточных популяций представлено как % от гейта лимфоцитов, определенного по параметрам прямого и бокового светорассеивания, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> - от гейта CD4<sup>+</sup> лимфоцитов.

дидась с использованием критериев Американской коллегии ревматологов (ACR) (1987 г.) [5]. Пациенты проходили терапию на основе базисных противовоспалительных препаратов.

В качестве контроля анализировали лимфоцитарную фракцию 18 здоровых доноров (53,78±12,3 лет). Забор материала в стандартные вакуумные пробирки, содержащие антикоагулянт ЭДТА К<sub>3</sub> объемом 4 мл проводили из локтевой вены. С целью исследования лимфоцитов цельной крови применяли метод многоцветной проточной цитометрии на приборе Cytomics FC500 («Beckman Coulter», США). Окрашивание клеток осуществлялось моноклональными антителами: CD3-FITC, CD4-PE, CD8-PC5, CD19-PC7, CD16/56-PE, CD4-PC7, CD25-PC5 («Beckman Coulter», США), FOXP3-FITC (eBioscience, США) и соответствующими изотипическими контролями. Для внутриклеточного окрашивания антителами к FOXP3 применяли набор реагентов с возможностью пермеабилзации и фиксации клеток (eBioscience, США). Определение антител к ЦМВ в плазме проводили с использованием метода иммуноферментного анализа и коммерческого набора ВектоЦМВ («Вектор-Бест», Россия).

Статистическая обработка данных проводилась в пакете программ «Statistica 6.0». С целью статистического изучения и оценки характера связи между признаками использовался непараметрический коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Для установления достоверности различий (при уровне значимости  $p < 0,05$ ) между группами применялся критерий Уилкоксона-Манна-Уитни. Представленные данные имеют вид -  $M \pm SD$ . Исследование проводилось на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр РАН».

**Результаты.** В данной работе была проведена оценка относительного содержания основных субпопуляций лимфоцитов (цитотоксических Т-лимфоцитов, Т-хелперов, В-клеток, натуральных киллеров), а также Трег-клеток. В общей группе пациентов с поставленным диагнозом «ревматоидный артрит», по сравнению с контрольной группой, наблюдалось достоверное увеличение численности Т-хелперов

(CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>) и активированных CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Т-клеток, а также снижение НК с фенотипом CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> (табл. 1). Достоверные различия в других субпопуляциях лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> и CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>) и клеток экспрессирующих FOXP3 (CD4<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>) отсутствовали.

При прогрессировании РА были установлены значительные изменения в популяционном составе лимфоцитов, в т.ч. Трег-клеток. Разделение пациентов на две группы осуществлялось в зависимости от стадии активности заболевания: первая группа - I степень активности (минимальная), вторая группа - II (средняя) и III (высокая) степенями активности (см. табл. 1). Наивысший уровень Т-хелперов отмечался в случае пациентов с II-III степенью РА (46,42±9,13 против 39,1±5,6 в контроле,  $p < 0,05$ ). Также было отмечено достоверное увеличение активированных клеток с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> как в первой, так и во второй группах, при этом сравнительная характеристика с контрольной группой показала, что содержание данной субпопуляции клеток вдвое превышает норму в группе со II и III степенями активности. Вместе с тем, с ростом степени активности заболевания наблюдаются значительные изменения в содержании Трег-клеток, экспрессирующих маркер FOXP3. У пациентов с I степенью активности ревматоидного артрита число CD4<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> клеток было выше по сравнению с контролем, тогда как в группе пациентов с II и III степенью РА число FOXP3<sup>+</sup> было достоверно ниже ( $p < 0,05$ ). Так, содержание Трег-клеток с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> на ранней стадии заболевания составило 5,37±1,5%, а по мере прогрессирования (у пациентов с II и III степенью активности) - 3,57±0,9, против 4,39±0,8% в контроле ( $p < 0,05$ ). Была выявлена обратная корреляция между степенью активности РА, количеством CD4<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> клеток (-0,49,  $p = 0,03$ ) и CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> Трег-клеток (-0,54,  $p = 0,02$ ).

В данном исследовании проводили оценку влияния цитомегаловирусной инфекции на патогенез РА и состояние различных субпопуляций лимфоцитов. Для этого проводили анализ наличия специфических антител к ЦМВ. Среди пациентов было установлено



Таблица 2

Содержание субпопуляций лимфоцитов в периферической крови больных РА в зависимости от присутствия антител к ЦМВ.

Фенотипы	Контроль (n=18)	Больные РА	
		Серонегативные к ЦМВ (n=16)	Серопозитивные к ЦМВ (n=8)
CD3+	60,4±7,2	66,7±8,3*	51,7±9,5*#
CD3+CD4+	39,1±5,6	50,9±10,1*	41,2±5,6#
CD4+CD25+	9±1,7	17,7±5,6*	18,6±4,6*
CD3+CD8+	22,3±5,5	20,3±6,3	14,8±5,3*#
CD3-CD19+	9,1±1,6	8,7±3,8	13,5±4,6*#
CD3-CD16+CD56+	15,1±5,4	11,3±4,6*	13,3±5,9

Примечание. \* – различия достоверны по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). # - различия достоверны по сравнению с серонегативными к ЦМВ больными РА при  $p < 0,05$ . Содержание клеточных популяций представлено как % от гейта лимфоцитов, определенного по параметрам прямого и бокового светорассеивания, CD4+CD25+ - от гейта CD4+ лимфоцитов.

33% серопозитивных лиц по титру антител к ЦМВ. В контрольной группе число ЦМВ-серопозитивных лиц составило 5,3%. Вместе с тем была отмечена положительная корреляция между уровнем антител класса IgM к ЦМВ и стадией активности ревматоидного артрита ( $r=0,59$ ,  $p < 0,05$ ). В группе ЦМВ-серопозитивных пациентов с ЦМВ-инфекцией нами выявлено достоверное понижение уровня Т-лимфоцитов, ЦТЛ, Т-хелперов, а также повышение численности В-лимфоцитов, по сравнению с группой состоящей из ЦМВ-серонегативных пациентов ( $p < 0,05$ ). Было отмечено, что количество активированных Т-хелперов не менялось в зависимости от на-

личия антител к ЦМВ (табл. 2).

Изучение группы ЦМВ-серопозитивных пациентов показало значительное снижение уровня Treg-клеток (в сравнении с ЦМВ-серонегативными больными РА и контролем) (рис.1). При ревматоидном артрите наблюдается обратная корреляция между уровнем IgM антител к ЦМВ и Treg-клеток с фенотипами CD4+FOXP3+ ( $-0,43$ ,  $p=0,04$ ), а также CD4+CD25+FOXP3+ ( $-0,46$ ,  $p=0,03$ ).

**Обсуждение.** Аутоиммунные заболевания, включая РА, определяются как клинические состояния, сопровождаемые активацией иммуноцитов, в особенности Т- и В-клеток, и вызывающие развитие воспалений и деструкцию тканей. Другим важным звеном в процессе аутоиммунизации являются Treg-клетки, снижение количества или нарушение функциональной активности которых приводит к несостоятельности механизмов иммунной супрессии. Имеющиеся данные о качественном и количественном содержании Treg-клеток при РА достаточно противоречивы, поскольку ранее отмечалось как снижение, так и увеличение их уровня. Также, многие исследования не подтвердили отличие от нормы по содержанию Treg-клеток у пациентов с РА [1].

В данной работе мы провели анализ показателей клеточного иммунитета у пациентов с РА в зависимости от степени активности заболевания и наличия ЦМВ-инфекции.

По полученным данным, при ревматоидном артрите происходит значительное увеличение доли субпопуляций CD4+ Т-хелперов - основных эффекторов патологического процесса воспаления при РА. С ростом активности РА эти показатели имеют тенденцию к ро-

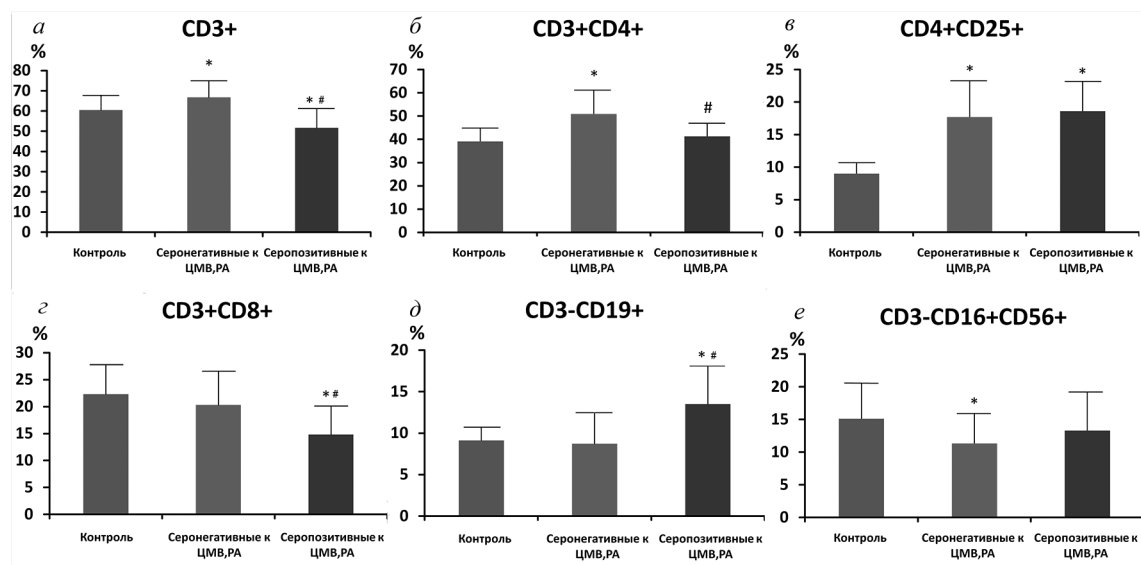


Рис. 1. Содержание периферических лимфоцитов у здоровых доноров и больных РА в зависимости от присутствия в их крови титра антител IgM к ЦМВ.

a – Т-лимфоциты; б – Т-хелперы; в – Активированные Т-лимфоциты; г – Т-супрессоры/цитотоксические; д – В-лимфоциты; е – NK – клетки.

Примечание. Здесь и на рис. 2 – \* – различия достоверны по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ); # – различия достоверны по сравнению с серонегативными к ЦМВ больными РА при  $p < 0,05$ .

Содержание клеточных популяций представлено как % от гейта лимфоцитов, определенного по параметрам прямого и бокового светорассеивания, CD4+CD25+ – от гейта CD4+ лимфоцитов.

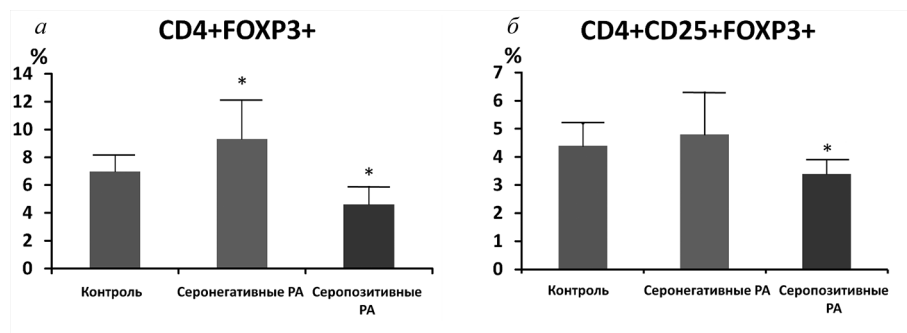


Рис. 2. Содержание Трег-клеток у здоровых доноров и больных РА в зависимости от присутствия в их крови титра антител IgM к ЦМВ.

*a* – CD4+FOXP3+ Т-клетки; *б* – Трег-клетки. Содержание CD4+FOXP3+, CD4+CD25+FOXP3+ клеточных популяций представлено как % от гейта CD4+ лимфоцитов.

сту, что соответствует классической картине развития этого заболевания.

Результаты оценки состояния пула Трег-клеток оказались не столь однозначны. На ранних этапах развития ревматоидного артрита было зафиксировано увеличение доли Трег-клеток, экспрессирующих транскрипционный фактор FOXP3. Затем, с ростом степени активности заболевания (I - средняя и II - высокая), обнаруживалось достоверное снижение численности Трег-клеток как в сравнении с группой пациентов с I степенью активности, так и контролем.

По всей вероятности, у пациентов с I степенью активности, Трег-клетки эффективнее сдерживают процесс воспаления, что соответствует пониженным показателям Т-хелперов. По мере прогрессирования РА, у пациентов с II и III степенью активности заболевания, наблюдалось уменьшение количества Трег-клеток периферической крови наряду с ростом показателей Т-хелперов, равно, как и CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> активированных клеток. Изучение литературных данных, содержащих результаты исследований, показало негативную корреляцию между уровнем Трег-клеток и степенью активности РА по критерию DAS28 (Disease Activity Score for 28 joints) [17,18]. По мнению других авторов такой связь отсутствует [19].

В связи с этим, представляет значительный интерес понимание механизмов, приводящих к нарушению функционального состояния и содержания Трег-клеток при РА. В последние годы активно обсуждается гипотеза, рассматривающая герпесвирусную инфекцию как возможный этиологический фактор, инициирующий аутоиммунизацию. Исследуется роль ЦМВ-инфекции при различных аутоиммунных заболеваниях. Однако степень вовлеченности ЦМВ-инфекции в процессы возникновения и развития РА, а также ее влияние на состояние субпопуляций лимфоцитов, не установлены.

Одним из центральных механизмов влияния ЦМВ-инфекции на патогенез РА можно считать индукцию ЦМВ-специфичных регуляторных Т-клеток, при этом источником дифференцировки Трег являются зрелые CD4<sup>+</sup>Т-хелперы [7,20].

ЦМВ-инфекция человека вызывает стойкие из-

менения в иммунной системе, которые приводят к способности FOXP3<sup>+</sup> Трег-клеток супрессировать эффекторные Т-лимфоциты и стимулировать репликацию ЦМВ в слюнных железах и в селезенке в острую инфекционную фазу. При этом сокращение уровня Трег-клеток приводит к значительному увеличению ЦМВ-специфических CD4<sup>+</sup> Т и CD8<sup>+</sup> Т-клеток. Значительный вклад в данных реакциях играют молекулярные механизмы, связанные с экспрессией CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte associated antigen 4) и трансформирующего фактора роста-β (TGF-β) [21,22].

По нашим данным, у ЦМВ-серопозитивных пациентов с диагнозом «ревматоидный артрит» наблюдается достоверное снижение доли Т-хелперов, экспрессирующих маркер FOXP3, а также Трег-лимфоцитов (рис.2). В тоже время общее содержание CD4 Т-хелперов было значительно выше в группе ЦМВ-серопозитивных пациентов с РА.

**Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют о том, что у больных с РА происходит смещение баланса между аутореактивными CD4<sup>+</sup> Т-хелперами и Трег-клетками, что отражает нарушение механизмов супрессии патологических аутореактивных реакций.

Значительное снижение количества Трег-клеток, экспрессирующих маркеры CD25 и FOXP3, наблюдается с ростом активности РА, а также на фоне ЦМВ-инфекции. Кроме того, наблюдается увеличение содержания CD3<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Т-хелперов и CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> ЦТЛ.

Вероятно, наличие ЦМВ-инфекции способно осложнять течение основного заболевания – РА, поскольку происходит угнетение функций Трег-клеток, которые в норме обеспечивают контроль над развитием иммуновоспалительных реакций.

Понимание роли ЦМВ-инфекции при РА может иметь существенное клиническое значение, в том числе при разработке биомаркеров для персонализированной терапии РА.

Однако в настоящее время недостаточно данных о влиянии ЦМВ-инфекции на конкретные звенья патогенетического каскада РА. Для более детального понимания механизмов действия ЦМВ на клеточное звено иммунной системы при возникновении и раз-

витии РА требуется проведение дальнейших исследований, направленных на изучение функциональных особенностей иммуноцитов.

**Финансирование.** Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН, тема № 0221-2017-0043, а также при поддержке РФФИ проект № 16-04-00567.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА (пп. 7 – 22 см. REFERENCES)

1. Насонов Е.Л., Александрова Е.Н., Авдеева А.С. и др. Т-регуляторные клетки при ревматоидном артрите. *Научно-практическая ревматология*. 2014; 52: 430–7.
2. Балабанова Р.М., Эрдес Ш.Ф. Динамика распространенности ревматических заболеваний, входящих в XIII класс МКБ-10, в популяции взрослого населения Российской Федерации за 2000–2010 гг. *Научно-практическая ревматология*. 2012; 52: 10–2.
3. Жулай Г.А., Чуров А.В., Олейник Е.К., Романов А.А., Семакова П.Н., Олейник В.М. Активация CD4<sup>+</sup>CD39<sup>+</sup> Т-клеток при колоректальном раке. *Вестник РГМУ*. 2018; 3: 49–55.
4. Чуров А.В. Регуляторные Т-клетки и старение организма. *Успехи геронтологии*. 2013; 26: 603–9.
5. Кравченко П.Н., Жулай Г.А., Чуров А.В., Олейник Е.К., Олейник В.М., Барышева О.Ю., Везикова Н.Н., Марусенко И.М. Субпопуляции регуляторных Т-лимфоцитов в периферической крови больных ревматоидным артритом. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2016; 71: 148–53.
6. Жулай Г.А., Олейник Е.К., Островский К.А., Олейник В.М., Кравченко П.Н., Чуров А.В. Субпопуляционный состав лимфоцитов как показатель иммунной супрессии при остром панкреатите. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2014; 9: 21–5.

#### REFERENCES

1. Nasonov E.L., Aleksandrova E.N., Avdeeva A.S. et al. T-regulatory cells in rheumatoid arthritis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2014; 52: 430–7. (in Russian)
2. Balabanova R.M., Erdes Sh.F. Trends in the prevalence of rheumatic diseases in ICD-10 in the adult population of the Russian Federation over 2000-2010. *Nauchno-prakticheskaya rheumatologiya*. 2012; 52: 10–2. (in Russian)
3. Zhulai G.A., Churov A.V., Oleinik E.K., Romanov A.A., Semakova P.N., Oleinik V.M. Activation of CD4<sup>+</sup>CD39<sup>+</sup> T cells in colorectal cancer. *Vestnik Rossiyskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2018; 3: 49–55. (in Russian)
4. Churov A.V. Regulatory T-cells and aging. *Uspekhi gerontologii*. 2013; 26: 603–9. (in Russian)
5. Kravchenko P.N., Zhulai G.A., Churov A.V., Oleinik E.K., Oleinik V.M., Barysheva O.Yu., Vezikova N.N., Marusenko I.M. Subpopulations of Regulatory T-lymphocytes in the Peripheral Blood of Patients with Rheumatoid Arthritis. *Vestnik Rossiiskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2015; 71: 148–53. (in Russian)
6. Zhulai G.A., Oleinik E.K., Ostrovskii K.A., Oleinik V.M., Kravchenko P.N., Churov A.V. Alterations of lymphocyte subsets and indicators of immune suppression in patients with acute pancreatitis. *Vestnik Rossiiskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2014; 9: 21–5. (in Russian)

7. Sakaguchi S., Miyara M., Costantino C.M., Hafler D.A. FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells in the human immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2010; 10: 490–500.
8. Seddiki N., Santner-Nanan B., Martinson J., Zaunders J., Sasson S., Landay A., et al. Expression of interleukin (IL)-2 and IL-7 receptors discriminates between human regulatory and activated T cells. *J. Exp. Med.* 2006; 203: 1693–700.
9. Wang W., Shao S., Jiao Z., Guo M., Xu H., Wang S. The Th17/Treg imbalance and cytokine environment in peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol. Int.* 2012; 32: 887–93.
10. Niu Q., Cai B., Huang Z.C., Shi Y.Y., Wang L.L. Disturbed Th17/Treg balance in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol. Int.* 2012; 32: 2731–6.
11. Kim J.R., Chae J.N., Kim S.H., Ha J.S. Subpopulations of regulatory T cells in rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, and Behcet's disease. *J. Korean Med. Sci.* 2012; 27: 1009–13.
12. Wing K., Sakaguchi S. Regulatory T cells exert checks and balances on self tolerance and autoimmunity. *Nat. Immunol.* 2010; 11: 7–13.
13. Rothe K., Quandt D., Schubert K., Rossol M., Klingner M., Jasinski-Bergner S., et al. Latent cytomegalovirus infection in rheumatoid arthritis and increased frequencies of cytolytic LIR-1+ CD8<sup>+</sup> T cells. *Arthritis Rheumatol.* 2016; 68: 337–46.
14. Tamm A., Ziegler T., Lautenschlager I., Nikkari S., Möttönen T., Luukkainen R., et al. Detection of cytomegalovirus DNA in cells from synovial fluid and peripheral blood of patients with early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 1993; 20: 1489–93.
15. Stahl H.D., Hubner B., Seidl B., Liebert U.G., van der Heijden I.M. et al. Detection of multiple viral DNA species in synovial tissue and fluid of patients with early arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 2000; 59: 342–6.
16. Pierer M., Rothe K., Quandt D., Schulz A., Rossol M., Scholz R., et al. Association of anticytomegalovirus seropositivity with more severe joint destruction and more frequent joint surgery in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2012; 64: 1740–9.
17. Kawashighri S.Y., Kawakami A., Okada A., Koga T., Tamai M., Yamasaki S., et al. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>CD127<sup>low</sup>-Treg cell frequency from peripheral blood correlates with disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 2011; 38: 2517–21.
18. Ji L., Geng Y., Zhou W., Zhang Z. A study on relationship among apoptosis rates, number of peripheral T cell subtypes and disease activity in rheumatoid arthritis. *Int. J. Rheum. Dis.* 2016; 19: 167–71.
19. Blache C., Lequerre T., Roucheux A., Beutheu S., Dedreux I., Jacquot S., et al. Number and phenotype of rheumatoid arthritis patients' CD4<sup>+</sup>CD26<sup>hi</sup> regulatory T cells are not affected by adalimumab or etanercept. *Rheumatology (Oxford)*. 2011; 50: 1814–22.
20. Sylwester A.W., Mitchell B.L., Edgar J.B., Taormina C., Pelte C., Ruchti F., et al. Broadly targeted human cytomegalovirus-specific CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells dominate the memory compartments of exposed subjects. *J. Exp. Med.* 2005; 202: 673–85.
21. Jost N.H., Abel S., Hutzler M., Sparwasser T., Zimmermann A., Rors A., et al. Regulatory T cells and T-cell-derived IL-10 interfere with effective anti-cytomegalovirus immune response. *Immunol. Cell Biol.* 2014; 92: 860–71.
22. Terrazzini N., Bajwa M., Vita S., Cheek E., Thomas D., Seddiki N., et al. A novel cytomegalovirus-induced regulatory-type T-cell subset increases in size during older life and links virus-specific immunity to vascular pathology. *J. Infect. Dis.* 2014; 209: 1382–92.

Поступила 30.01.19

Принята к печати 01.02.19