

ЭКСПРЕССИЯ CD5 НА В-ЛИМФОЦИТАХ У ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ЮВЕНИЛЬНОГО ИДИОПАТИЧЕСКОГО АРТРИТА

Пашнина И. А.^{1,2}, Кшняев И. А.³, Козлова Е. С.¹,
Скоробогатова О. В.¹

¹Отдел клинической иммунологии, Областная детская клиническая больница № 1,

²Лаборатория иммунологии воспаления, Институт иммунологии и физиологии УрО РАН,

³Лаборатория экологической экспертизы, Институт экологии растений и животных УрО РАН, Россия, Екатеринбург

Оценка экспрессии CD5 на В-лимфоцитах в настоящее время признана диагностически значимой при многих аутоиммунных заболеваниях. Исследовано количество CD19⁺CD5⁺ у детей и подростков (6–17 лет) с различной активностью ювенильного идиопатического артрита. Обследованы 74 больных в стадии активности заболевания и 14 – с ремиссией, получавших болезнь-модифицирующую терапию, 12 детей со стойкой ремиссией, не получавших лечение, а также 32 условно здоровых ребенка (контроль). Методом проточной цитометрии выявлено увеличение количества CD19⁺CD5⁺ в среднем в 2,2 (95% ДИ 1,4–3,4) раза у больных, независимо от активности заболевания и приема лекарственных препаратов, по сравнению с контролем. То есть, развитие ремиссии и отмена медикаментозной терапии не приводили к заметному снижению экспрессии CD5 у пациентов с ювенильным идиопатическим артритом.

Ключевые слова: В-лимфоциты, ювенильный идиопатический артрит.

Роль В-лимфоцитов в патогенезе аутоиммунных заболеваний не вызывает сомнений, поскольку эти клетки являются продуцентами антител, в том числе имеющих специфичность к аутоантигенам. Однако при аутоиммунной патологии, в частности, при аутоиммунных поражениях суставов, далеко не всегда происходит изменение количества этих клеток. В работах ряда авторов указывается, что общее количество В-лимфоцитов ни при ревматоидном артрите (серонегативном и серопозитивном), ни при ювенильном идиопатическом артрите (ЮИА) не отличалось от контрольного уровня [1, 2]. Поэтому несомненный интерес представляет исследование субпопуляций В-лимфоцитов, экспрессирующих различные маркеры, участвующие в клеточной активации, костимуляции и адгезии. Одной из перспективных для исследования является субпопуляция В-лимфоцитов с фенотипом CD19⁺CD5⁺. Трансмембранный гликопротеин CD5 экспрессируется частью В-клеток и участвует в ответе на антигенную стимуляцию, выживании и пролиферации [3]. Оценка числа CD19⁺CD5⁺ клеток признана диагностически

значимой при многих аутоиммунных заболеваниях: системной красной волчанке, синдроме Шегрена, ревматоидном артрите, инсулинозависимом диабете, миастении и т.д. [3].

Целью нашей работы явилось исследование количества В-лимфоцитов, экспрессировавших CD5, при различной активности ювенильного идиопатического артрита.

Обследованы дети и подростки 6–17 лет с ювенильным идиопатическим артритом (ЮИА, n=100): 74 больных в стадии активности заболевания (ЮИА-а) и 14 пациентов в стадии ремиссии (медикаментозная ремиссия, ЮИА-р) получали болезнь-модифицирующую терапию (метотрексат и/или сульфасалазин и/или циклоспорин А) и нестероидные противовоспалительные средства по потребности; пациенты со стойкой ремиссией (12 детей) не принимали лекарственных препаратов (ремиссия, ЮИА-р). В качестве группы сравнения (контрольной) обследовано 32 условно здоровых ребенка (УЗД). Подсчет относительного и абсолютного количества CD19⁺ и CD19⁺CD5⁺ проведен на проточном цитофлюориметре FC-500 (Beckman Coulter, USA)

с использованием моноклональных антител и счетных частиц Flow-Count (Beckman Coulter, USA). Данные анализировали с помощью статистического аппарата теории общих линейных моделей (GLM). Для преобразования мультипликативных эффектов в аддитивные и стабилизации дисперсий для долей (процентов) использовали логит-преобразование, для абсолютного количества клеток – логарифмирование. Оценивали частные эффекты следующих предикторов: пол, возраст (в годах, предварительно центрирован средним), исследуемые группы параметризованы как категориальная переменная, причем УЗД служили референтным уровнем (b_0). Для приведения в исходную шкалу ожидаемых значений и их 95% доверительных интервалов (95% ДИ), выполняли соответствующие обратное преобразование (антилогит- или потенцирование).

Согласно полученным результатам, абсолютное количество В-клеток (CD19⁺) клеток было выше у мальчиков в 1,31 (95%ДИ 1,03–1,67) раза. Как относительное, так и абсолютное количество В-клеток снижалось с возрастом в 1,02 (95%ДИ 1,01–1,04) раза и в 1,08 (95%ДИ 1,05–1,10) в год соответственно. Наблюдаемое снижение количества В-лимфоцитов с возрастом согласуется с литературными данными [4], хотя в некоторых литературных источниках [5] для возраста от 6 до 18 лет указываются общие нормативные значения. По относительному и абсолютному количеству В-лимфоцитов (CD19⁺) между исследованными группами не обнаружено статистически значимых различий (Таблица), но контраст {ЮИА-а} – {ЮИА-мр, ЮИА-р, УЗД} признан значимым: для груп-

пы с активной стадией ЮИА получены в 1,65 (95%ДИ 1,08–2,50) и 1,55 (95%ДИ 1,07–2,25) раза более низкие оценки средних соответственно. Следует отметить, что в группе с активной стадией заболевания, в отличие от всех остальных групп, средние значения относительного и абсолютного количества CD19⁺ были ниже нормативных значений, которые согласно [5] составляют: 12–22%; 0,3–0,5*10³/мкл.

Обнаружено, что у больных с ЮИА, независимо от активности патологического процесса, относительное и абсолютное количество В-лимфоцитов с фенотипом CD19⁺CD5⁺ (было) повышено по сравнению с уровнем УЗД (Таблица). Таким образом, развитие ремиссии и отмена медикаментозной терапии не приводили к снижению экспрессии CD5. Это противоречит некоторым опубликованным данным [3], согласно которым при успешном лечении аутоиммунной патологии, исходно увеличенное число CD19⁺CD5⁺ снижается. Однако у обследованных детей с ЮИА изменения субпопуляционного состава В-клеток носили стойкий характер: – даже при длительной ремиссии не происходило его восстановление. Возможно, для снижения экспрессии CD5 на В-лимфоцитах необходим более продолжительный период времени. Вероятно и другое предположение: – повышенное количество В-лимфоцитов с фенотипом CD19⁺CD5⁺ у детей с ремиссией ЮИА свидетельствует о неполном выздоровлении. Для решения этого вопроса необходимо более длительное катамнестическое наблюдение.

Увеличение содержания CD19⁺CD5⁺ лимфоцитов сопровождается множеством различных аутоиммунных заболеваний [6, 7].

Таблица – Относительное и абсолютное количество CD19⁺лимфоцитов и CD19⁺CD5⁺лимфоцитов у детей в норме и при различной активности ЮИА

Группа	CD19 ⁺						CD19 ⁺ CD5 ⁺					
	% от лимфоцитов			*10 ³ /мкл			% от CD19 ⁺			*10 ³ /мкл		
	М	95%ДИ		М	95%ДИ		М	95%ДИ		М	95%ДИ	
74 14 12 32 ЮИА-а	10,5	9,0	12,3	0,27	0,23	0,32	33,6***	28,4	39,3	0,09***	0,07	0,10
ЮИА-мр	12,5	8,7	17,6	0,30	0,21	0,43	33,1**	22,1	46,3	0,09*	0,06	0,13
ЮИА-р	15,6	10,7	22,3	0,47	0,32	0,69	27,3*	17,1	40,7	0,12***	0,08	0,19
УЗД	14,4	11,4	18,0	0,34	0,27	0,43	12,5	9,0	17,1	0,04	0,03	0,05

Примечания: М – среднее значение; 95%ДИ – 95% доверительный интервал; различия с группой УЗД: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

В соответствии с одной точкой зрения, клетки с фенотипом CD19⁺CD5⁺ являются В1-клетками, то есть не требуют кооперации с Т-лимфоцитами и способны к спонтанной секреции IgM, а при аутоиммунных нарушениях – к выработке аутоантител [3]. Существует альтернативное мнение, согласно которому рецептор CD5 может служить для характеристики В1-лимфоцитов у мышей, но не у человека, и что в последнем случае CD5-позитивные В-лимфоциты могут синтезировать высокий уровень IL10 и участвовать в супрессии иммунного ответа [8, 9, 10]. Принимая во внимание гипотезу о супрессорной функции CD19⁺CD5⁺, можно предположить, что повышение количества этих клеток при аутоиммунной патологии, в том числе выявленное и в нашей работе, носило компенсаторный характер: возможно, увеличение количества В-лимфоцитов, экспрессирующих CD5, происходит в противовес развитию аутоагрессии. Однако полученные данные не позволяют дискриминировать гипотезы о роли CD19⁺CD5⁺ лимфоцитов в качестве фактора развития или сдерживания аутоиммунного патологического процесса. Это делает необходимым мониторинг количества и исследование функциональных свойств этих клеток у больных на всех стадиях развития аутоиммунных заболеваний, начиная с максимально ранних.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Corcione A., Ferlito F., Gattorno M., Gregorio A., Pistorio A., Gastaldi R., Gambini C., Martini A., Traggiai E., Pistoia V. *Arthritis Research & Therapy*, 2009, 11: R150.
2. Michelutti A., Gremese E., Morassi F., Petricca L., Arena V., Tolusso B., Alivernini S., Peluso G., Bossello S.L., Ferraccioli G. *Mol. Med.*, 2011, 17 (9–10), 901–909.
3. Зурочка А.В., Хайдуков С.В., Кудрявцев И.В., Черешнев В.А. Проточная цитометрия в медицине и биологии. УрО РАН, Екатеринбург, 2013, 552.
4. Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., Копыльцов Е.А., Алешкин В.А. *Медицинская иммунология*, 2012, 14, 4–5, 289–294.
5. Иммунология детского возраста: практическое руководство по детским болезням / под ред. А.Ю. Щербины, Е.Д. Пашанова. ИД ПРАКТИКА-М, Москва, 2006, 432.
6. Cantaert T., Doorenspleet M.E., FrancoSalinas G., Paramarta J.E., Klarenbeek P.L., Tiersma Y., van der Loos C.M., De Vries N., Tak P.P., Baeten D.L. *Arthritis & Rheumatism*, 2012, 64, 6, 1859–1868.
7. Furuzawa-Carballeda J., Hernández-Molina G., Lima G., Rivera-Vicencio Y., Férrez-Blando K., Llorente L. *Arthritis Research & Therapy*, 2013, 15: R68.
8. Berthelota J.- M., Jamin C., Amrouche K., Le Goffa B., Maugars Y., Youinou P. *Joint Bone Spine*, 2013, 80, 18–22.
9. Buc M. *Mediators of Inflammation*, 2013, Article ID 963748.
10. Garaud S., Dantec C. Le, de Mendoza A.R., Maageed R.A., Youinou P., Renaudineau Y. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2009, 1173, 280–285.

CD5 EXPRESSION ON B-LYMPHOCYTES IN CHILDREN WITH DIFFERENT ACTIVITY OF JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS

^{1,2} Pashnina I.A., ³Kshnyasev I.A., ²Kozlova E.S., ²Skorobogatova O.V.

¹Regional Children's Clinical Hospital №1, ²Institute of Immunology and Physiology, Urals Branch of the Russian Acad. Sci., ³Institute of Plants and Animals Ecology, Urals Branch of the Russian Acad. Sci., Yekaterinburg, Russia

The CD5 antigen expression on B-lymphocytes currently recognized as diagnostically significant in many autoimmune diseases. We analyzed by flow cytometry for CD5 expression within the B cell subpopulation from peripheral blood of children and teenagers (6–17 years old) with different activity of juvenile idiopathic arthritis: 74 with active arthritis and 14 with remission were treated with disease modifying therapy, 12 children with persistent remission and 32 apparently healthy children were without medications. The increase in 2,2 (95% CI 1,4–3,4) times in average number of CD19⁺CD5⁺ were revealed in patients, regardless of disease activity or medications. These results suggest that the development of remission and therapy cancellation did not lead to detectable decrease in the CD5 expression.

Key words: B-lymphocytes, juvenile idiopathic arthritis.