

Изменения в популяционном составе лимфоцитов крови при глазных проявлениях болезни Бехчета

В.В. Нероев¹, Е.С. Сорожкина¹, Н.В. Балацкая¹, Г.А. Давыдова¹, Т.А. Лисицына²

¹ ФГБУ НМИЦ Глазных болезней им. Гельмгольца Минздрава России

² ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой

Variability of peripheral blood lymphocyte subsets in ocular Behcet's disease

V.V. Neroev¹, E.S. Sorozhkina¹, N.V. Balatskaya¹, G.A. Davidova¹, T.A. Lisitsyna²

¹ Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases

² V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology

Аннотация

Болезнь Бехчета (ББ) – системный васкулит, характеризующийся сочетанием аутовоспалительных и аутоиммунных процессов. Поражение глаз при ББ преимущественно проявляется в виде генерализованного увеита (БУ) с окклюзирующим ангиитом, имеет рецидивирующий характер.

Цель работы: изучить особенности иммуностатуса пациентов с ББ в зависимости от характера течения патологического процесса глаз.

В исследование включено 77 пациентов с диагнозом БУ: 26 больных – активный увеит (УА), 51 – увеит в ремиссии (УР). 8 пациентов с ББ без глазных проявлений вошли в группу сравнения. 50 соматически здоровых добровольца без глазной патологии составили контрольную группу. В пробах периферической крови методом проточной цитофлуометрии определяли относительное и абсолютное число Т-, В-, и NK-клеточных популяций и субпопуляций Т клеток - CD4 и CD8.

Наиболее высокие значения CD45⁺ наблюдали в группе пациентов с УА ($2,24 \pm 0,018 \times 10^9/\text{л}$; $p < 0,05$), где также статистически значимо повышалось абсолютное количество CD3⁺ ($1,724 \pm 0,015 \times 10^9/\text{л}$).

Повышение относительного содержания CD3⁺CD8⁺ выявлено у 55% больных УР, у 50% с УА и БГП. Увеличение абсолютного количества этих клеток стало характерной особенностью группы с УА, где этот сдвиг обнаружен в 57% случаев.

Содержание минорной субпопуляции CD3⁺CD4⁺CD8⁺ в крови больных с ББ имело тенденцию к увеличению, достигнув максимума в группе БГП ($1,6 \pm 0,6\%$ и $0,030 \pm 0,011 \times 10^9/\text{л}$).

Статистически значимое снижение натуральных киллеров CD16⁺CD56⁺ выявлено в крови всех пациентов. Наиболее выраженную депривацию наблюдали в группе БГП ($8,7 \pm 1\%$ и $0,16 \pm 0,022 \times 10^9/\text{л}$).

Полученные результаты представляются важными для понимания патогенеза ББ и ее осложнений; динамика

Summary

Behcet's disease (BD) is a systemic vasculitis of unknown etiology, characterized by a combination of auto-inflammatory and autoimmune processes and the involvement of immunocompetent cells of innate and acquired immunity, respectively. Eye damage in BD (BU) is relapsing and manifests mainly by panuveitis with occlusive retinal vasculitis. The aim of the study was to characterize the immune status of patients with BD, depending on the nature of the pathological process that affects the eye.

The study included 77 patients with BU: 26 active uveitis patients (UA), 51 with uveitis in remission (UR); 8 patients with BD without ocular manifestations (systemic manifestations only) comprised comparison group (CG); 50 healthy volunteers without ocular pathology made up the control group. Relative and absolute counts of T-, B-, and natural killer (NK) cell populations, including CD4 and CD8, were determined in peripheral blood samples by flow cytometry.

Highest CD45⁺ and CD3⁺ values were observed in UA patients ($2.24 \pm 0.018 \times 10^9/\text{l}$; and $1.724 \pm 0.015 \times 10^9/\text{l}$ respectively, $p < 0.05$).

Increased relative amount of CD3⁺CD8⁺ was detected in 55% of patients with UR, in 50% with UA and in CG. An increase in the absolute number of these cells became a characteristic feature of the UA group, where this shift was detected in 57% of cases.

Minor subpopulation CD3⁺CD4⁺CD8⁺ tended to increase, reaching a maximum in CG ($1.6 \pm 0.6\%$ and $0.030 \pm 0.011 \times 10^9/\text{l}$). A statistically significant decrease in NK (CD16⁺CD56⁺) was detected in the blood of all patients. The most pronounced deprivation was observed in CG ($8.7 \pm 1\%$ and $0.16 \pm 0.022 \times 10^9/\text{l}$).

These results are important for understanding the pathogenesis of BD and its complications; the dynamics of changes in the amount of lymphocyte subsets in patients with BD can be of value in determining the risk groups for relapse and assessing the severity of the underlying ocular disease.

изменения количественного состава субпопуляций лимфоцитов при ББ может представлять ценность для определения групп риска рецидива и оценки тяжести течения основного заболевания.

Ключевые слова

Болезнь Бехчета, увеит, субпопуляции лимфоцитов

Введение

Болезнь Бехчета (ББ) – системный васкулит неизвестной этиологии, характеризующийся поражением сосудов любого типа и калибра, проявляющийся рецидивами язвенного процесса в ротовой полости и на гениталиях, поражением глаз, суставов, желудочно-кишечного тракта, центральной нервной системы и других органов. Имеет хроническое течение с непредсказуемыми обострениями и ремиссиями. Частота и тяжесть клинических симптомов ББ значительно варьируют в зависимости от пола и этнической принадлежности пациентов [1].

Медленное развитие клинической симптоматики существенно затрудняет диагностику и откладывает начало лечения, усугубляя последствия рецидивов заболевания. Поражение глаз проявляется преимущественно в виде генерализованного увеита с окклюзирующим ангиитом, реже диагностируются изолированный задний и передний увеит. Чаще всего воспаление имеет рецидивирующий характер. Офтальмо-Бехчет высоко распространен среди пациентов с ББ в РФ (Дагестан, Чечня, Азербайджан, Калмыкия, Бурятия) [2]. Глаза вовлекаются в процесс в течение 2-4 лет после первых симптомов (в 90% случаев это, как правило, афтозный стоматит), однако у 10-20% больных увеит является первым проявлением болезни. Воспалительный процесс, как правило, имеет рецидивирующий характер с внезапными обострениями, вовлекающими передний или задний отрезок глаза, или проявляющимся как панувеит. Для переднего увеита характерна клиническая картина иридоциклита с гипопионом. Клиническая картина заднего увеита обычно включает появление воспалительных изменений в стекловидном теле и облитерирующего некротизирующего васкулита сетчатки. Макулярный кистовидный отек при заднем увеите выявляется примерно в 15% случаев, а оптический неврит у четверти пациентов. Тяжелые васкулиты вызывают окклюзии сосудов. Рецидивы воспаления способствуют дальнейшему ухудшению кровообращения в сетчатке и зрительном нерве, что приводит к необратимому

Keywords

Behcet's disease, uveitis, lymphocyte subsets

снижению зрительных функций пациента за счет ишемических изменений в центральной зоне сетчатки и частичной или полной атрофии зрительного нерва. По этим причинам при отсутствии адекватного и своевременного лечения увеита примерно через 3,3 года у пациентов может наступить слепота [3].

В исследованиях патогенеза ББ и ее проявлений важное место уделяется генетической предрасположенности и связанным с ней нарушениям в различных звеньях иммунитета.

Один из обсуждаемых на сегодняшний день патогенетических механизмов заболевания предполагает запуск CD4+ Т-клеточной активации факторами окружающей среды у генетически предрасположенных лиц, что приводит к секреции цитокинов, стимулирующих другие индуцирующие воспаление иммунные клетки, приводя к бесконтрольному аутоиммунному каскаду в сосудистой ткани. Более высокая экспрессия маркеров созревания на дендритных клетках [4], гиперактивация нейтрофилов [5] (повышение мембранных CD10, CD11a и CD14), продукция ими воспалительных цитокинов [6], вновь активирующих нейтрофилы – со стороны неспецифического звена, и участие преимущественно Т-хелперов и соответствующих цитокинов – со стороны специфического, вместе создают порочный круг воспаления и условия для его рецидивирования.

Характер локальных (на уровне глаза) и системных (периферическая кровь) иммунных нарушений, ассоциированных с офтальмо-Бехчетом, по данным ряда авторов, также определяется доминирующим Th1-ответом, однако единого мнения по этому вопросу не достигнуто [7, 8, 9].

Для выявления нарушений в функционировании иммунной системы широко применяется исследование иммунологического статуса и, в особенности его важнейшей составляющей – определения количества и соотношения основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови.

Подобные исследования неоднократно проводились при ББ, однако анализ доступных

публикаций показал, что представленные результаты, посвященные этой проблеме, достаточно противоречивы.

Имеются свидетельства как о снижении, так и о повышении общего количества Т- и В-лимфоцитов, CD3⁺CD4⁺ клеток, разнонаправленных сдвигах иммунорегуляторного индекса (CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺), NK-лимфоцитов в крови пациентов с ББ, в том числе и с поражением глаз [9].

Такие изменения могут быть обусловлены различиями в технологических подходах к выявлению субпопуляционного состава лимфоцитов (отмывочная, безотмывочная технологии, качество используемых моноклональных антител и т.д.), этническими особенностями и малым количеством обследуемых больных, характером течения заболевания (ремиссия или обострение, наличие сопутствующей патологии), а также с лечением, проводимым во время лабораторного исследования [10].

Цель: изучить особенности клеточной составляющей иммунологического статуса пациентов с ББ в зависимости от характера течения патологического процесса, поражающего глаз.

Материалы и методы

В исследование включено 77 пациентов с установленным диагнозом ББ, имеющие в анамнезе глазные проявления (БУ) (51 мужчин и 26 женщин, в возрасте от 18 до 47 лет), 8 пациентов с ББ без глазных проявлений (группа сравнения), а также соматически здоровые добровольцы без глазной патологии, сопоставимые по полу и возрасту (группа контроля, n=50). В зависимости от характера течения увеита пациенты были распределены на две клинические группы: с активным увеитом (УА) – 26 больных (м – 13, ж – 13), и с увеитом в ремиссии (УР) – 51 чел (м – 38, ж – 13).

Пациенты без глазных проявлений (БГП) (м – 4, ж – 4, средний возраст 37,8 лет) не имели признаков активного или перенесенного воспалительного процесса в глазу. Однако, все они имели кожно-слизистые проявления (стоматит, язвы гениталий, поражения кожи), реже – венозные тромбозы и поражения суставов, еще реже – поражения ЖКТ и нервной системы.

ББ диагностировалась на основании Международных критериев заболевания 2014 г. [11] врачами ревматологами в институте ревматологии имени В.А. Насоновой. Длительность ББ была от нескольких месяцев до 20 лет. На момент сбора анализов большинство пациентов получали на постоянной основе системную противовос-

палительную и иммуносупрессивную терапию, назначенную ревматологами в соответствии с проявлениями ББ, тяжестью и активностью.

Материалом для иммунологического исследования служили пробы цельной крови, взятой из локтевой вены натощак в утренние часы при помощи вакуумных систем в пробирки Vacuette® с антикоагулянтом К3ЕDТА. Иммунофенотипирование методом проточной лазерной цитофлуориметрии проводили на цитометре BD FACSCanto II (Becton Dickinson, США) с использованием системы моноклональных антител Multitest 6-Color TBNK Reagent в пробирках BD TruCount (Becton Dickinson, США). С помощью лизирующего раствора BD FACS TM Lysing Solution (Becton Dickinson, США) производили лизис эритроцитов и фиксацию лейкоцитов. Относительное и абсолютное содержание субпопуляций лимфоцитов определяли в программе Canto (Becton Dickinson, США), с выделением анализируемого региона по общей популяции, экспрессирующей CD45+ антиген и по гранулярности клеток (CD45+PerCP-Cy5,5*/SSC); использовали меченые флуорохромами антитела к CD3⁺(FITC), CD4⁺(PE-Cy7*), CD8⁺ (APC-CY7*), CD16⁺/56⁺(PE), CD19⁺(APC*), позволяющие дифференцировать: Т-лимфоциты (CD3⁺), Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺CD8⁻), Т-цитотоксические (CD3⁺CD4⁻CD8⁺), Т-дубль позитивные (CD3⁺CD4⁺CD8⁺), NK-клетки (CD16⁺CD56⁺), В-лимфоциты (CD19⁺), вычислить соотношение субпопуляций CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ - индекс, отражающий баланс Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток (CD4⁺/CD8⁺).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью модуля «Описательная статистика» программы «Excel», оценка значимости различий между качественными характеристиками выборки (выше, ниже нормы) проводилась с помощью критерия χ^2 Пирсона. Определение корреляционной связи между субпопуляциями лимфоцитов проведено при помощи расчета коэффициента Пирсона (r). Сила корреляционной связи оценивалась по таблице Чеддока. Критический уровень значимости принимался при $p < 0,05$.

Результаты

Содержание субпопуляций лимфоцитов в крови пациентов с ББ представлено в таблице 1 и на рисунке 1. Как видно из таблицы, абсолютное количество лимфоцитов (CD45⁺) в группах находилось в пределах физиологической нормы. Вместе с тем, у всех больных отмечается тенден-

ция к увеличению этого показателя, наиболее высокие значения которого были характерны для пациентов с УА ($2,24 \pm 0,018 \times 10^9/\text{л}$; $p < 0,05$).

Анализ средних значений общей популяции Т-клеток ($CD3^+$) выявил повышение их относительного содержания в крови всех больных с одновременным ростом абсолютного количества $CD3^+$, статистически значимо отличающим только группу пациентов с УА ($1,724 \pm 0,015 \times 10^9/\text{л}$).

Аналогичную тенденцию наблюдали в отношении сдвигов Т-цитотоксических клеток, достоверное повышение процентного содержания которых, по сравнению с группой здоровых, было

характерно для всех наблюдавшихся больных ББ (Таблица 1).

Изменения в популяции Т-хелперов ($CD3^+CD4^+$), а именно: статистически значимое снижение относительного количества определены у пациентов с глазными проявлениями (УР: $40 \pm 1,3\%$; УА: $40 \pm 2\%$) в отличие от контроля ($45,7 \pm 1,19\%$).

Разнонаправленные сдвиги основных популяций Т-клеток свидетельствуют о разбалансировке в регуляторном звене, что отразилось, в том числе, на снижении соотношения $CD4/CD8$ во всех группах (Таблица 1).

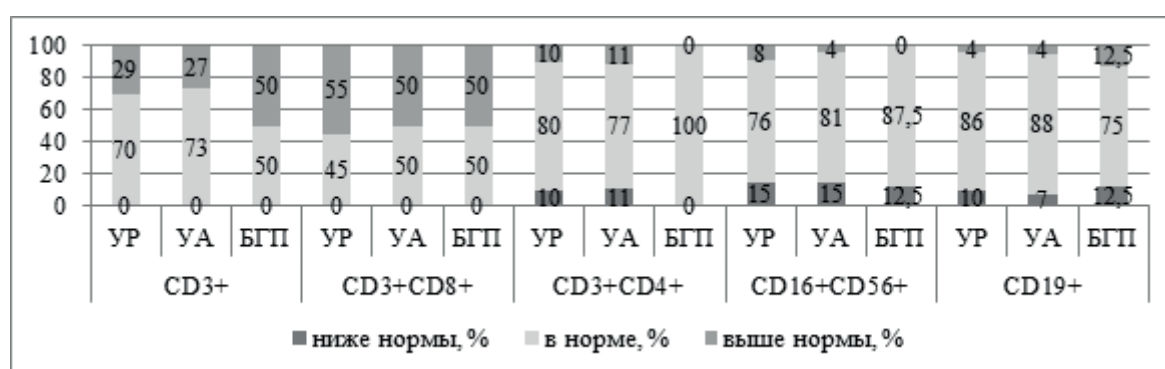


Рис. 1. Частота сдвигов от нормы (%) в субпопуляционном составе лимфоцитов крови (относительное количество) в группах: БГП (без глазных проявлений), УР (увейтом в ремиссии), УА (активным увеитом)

Таблица 1. Субпопуляционный состав лимфоцитов у больных ББ ($M \pm m$)

Показатель	Единица измерения	Группы			
		Контрольная группа (n=50)	Болезнь Бехчета		
			БГП (n=8)	УР (n=51)	УА (n=26)
Лимфоциты $CD45^+$	$\times 10^9/\text{л}$	$2,06 \pm 0,11$	$1,84 \pm 0,102$	$1,9 \pm 0,013$	$2,24 \pm 0,018 \# \sim$
Т-лимфоциты общая популяция $CD3^+$	%	$73,1 \pm 0,87$	$80 \pm 2^*$	$77 \pm 1,2^*$	$76 \pm 1,3$
Т-хелперы $CD3^+CD4^+$	%	$45,7 \pm 1,19$	45 ± 2	$40 \pm 1,3^* \#$	$40 \pm 2^*$
Т-цитотоксические $CD3^+CD8^+$	%	$25,6 \pm 1,04$	$32 \pm 3^*$	$32,5 \pm 1^*$	$33 \pm 2^*$
Т-«дубль-позитивные» лимфоциты $CD3^+CD4^+CD8^+$	%	$0,54 \pm 0,31$	$1,6 \pm 0,6$	$0,95 \pm 0,1$	$1 \pm 0,1$
Натуральные киллеры $CD16^+CD56^+$	%	$14 \pm 0,87$	$8,7 \pm 1^*$	$12 \pm 1 \#$	$11 \pm 1^*$
В-лимфоциты $CD19^+$	%	$12,8 \pm 0,63$	11 ± 2	$10 \pm 0,7^*$	$11 \pm 0,8$
$CD4^+/CD8^+$	рассч. ед	$1,95 \pm 0,12$	$1,7 \pm 0,2$	$1,3 \pm 0,07^*$	$1,4 \pm 0,1^*$

Примечание: n – количество обследуемых лиц в группе; * - достоверность различия параметров между исследуемой группой ББ и группой контроля; # - достоверность различия параметров у больных с БУ (в ремиссии и активный) по сравнению с группой без глазных проявлений (БГП); ~ - достоверность различия параметров между группой УР и УА ($p < 0,05$).

Большой интерес вызвали результаты индивидуального анализа сдвигов относительного содержания цитотоксических клеток CD3+CD8+: его повышение было выявлено более чем у половины пациентов с БУ (у 55% больных УР, 50% с УА и БГП) (Рисунок 1). Колебания показателя абсолютного количества указанной субпопуляции также имели тенденцию к увеличению, в особенности в группе с УА, где этот сдвиг обнаружен в 57% случаев. Подобные изменения отмечались примерно у трети пациентов в группах с УР и БГП. Следует особо отметить, что повышение Т-цитотоксических клеток в крови больных с УА выявлялось в 1,8 раза ($p < 0,05$) чаще (Рисунок 2, Таблица 2).

Показатель количества лимфоцитов с фенотипом CD3+CD4+CD8+, или двойных позитивных Т-клеток, (как относительного, так и абсолютно) в крови всех больных ББ имел тенденцию к увеличению, достигнув максимальных значений в группе БГП (Таблица 1).

Противоположный характер сдвигов, статистически значимое снижение в крови пациентов всех исследуемых групп, отмечено для клеток-эффекторов врожденного иммунитета - популяции

натуральных киллеров (CD16+CD56+). Наиболее выраженное снижение этого показателя (более чем в 2 раза) наблюдали в группе БГП ($8,7 \pm 1\%$ и $0,16 \pm 0,022 \times 10^9/\text{л}$) (Таблица 1, Рисунок 2).

Для определения возможных связей между субпопуляциями клеток врожденного (НК-лимфоциты; %) и адаптивного (Т- и В-лимфоцитами; %) был применен корреляционно-регрессионный анализ с определением коэффициента Пирсона (r) (Таблица 3). Наиболее сильные связи в отношениях клеток обнаружены в группах пациентов ББ с глазными проявлениями.

Обсуждение

При вовлечении глаз при болезни Бехчета поражается в основном задний отрезок, где рецидивы воспалительного процесса приводят к серьезным осложнениям (артериовенозные окклюзии, частичная или полная атрофия зрительного нерва, некротизирующий ретинит, реже – неоваскуляризация сетчатки и диска зрительного нерва (ДЗН), гемофтальм, тромбоз вен сетчатки, отслойка сетчатки) и, как следствие, к слепоте. Выраженное провоспалительное состоя-

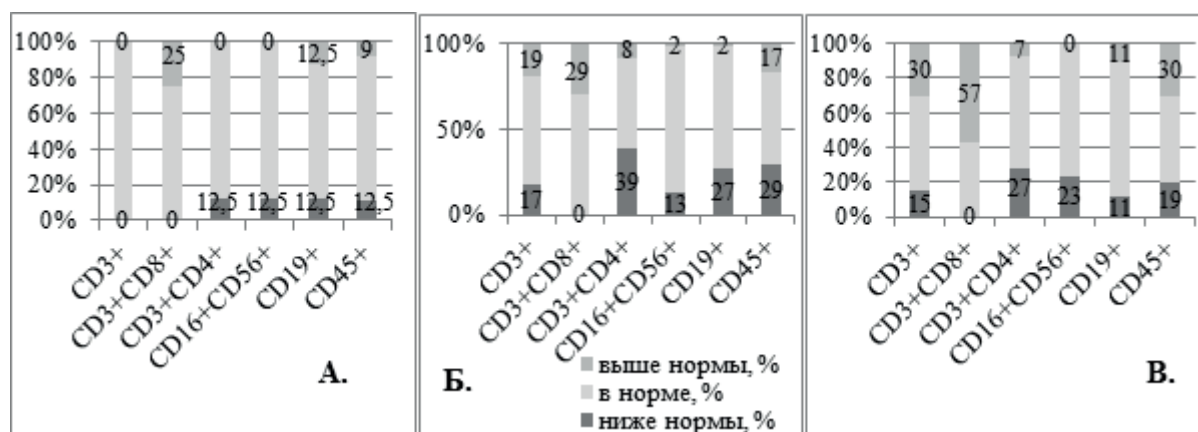


Рис. 2. Частота сдвигов от нормы в субпопуляционном составе лимфоцитов крови (абсолютное количество) в группах (А) без глазных проявлений (БГП); (Б) с увеитом в ремиссии (УР); (В) с активным увеитом (УА)

Таблица 2. Сдвиги (%) относительно нормы показателя абсолютного количества CD3+CD8+-лимфоцитов в крови пациентов с ББ

Характер сдвигов	Группы ББ		
	БГП (n=8)	УР (n=51)	УА (n=26)
Ниже нормы, чел (%)	0	0	0
В норме, чел (%)	6 (75)	35 (69)	11 (42)
Выше нормы, чел (%)	2 (25)	15 (29)*	15 (57)*
CD3+CD8+ ; х 10 ⁹ /л (при норме 0,52±0,03)	0,863±0,003	1,023±0,071	0,890±0,054

Примечание: n – количество обследуемых в группе; * - достоверность $p < 0,05$ при сравнении групп УА и УР

ние, наблюдаемое при этом в крови и водянистой влаге пациентов с БУ [12], и одновременно низкий иммуносупрессивный статус подтверждает важную роль иммунной системы в развитии и поддержании БУ.

В результате проведенного исследования представлены сдвиги в клеточной составляющей иммунологического статуса, ассоциированные с офтальмологическими проявлениями болезни Бехчета (БУ).

Как при общем, так и при индивидуальном анализе данных выявлены нарушения в субпопуляционном составе лимфоцитов периферической крови пациентов с БУ. Несмотря на однонаправленность сдвигов клеточной составляющей в крови всех обследованных больных ББ, для каждой группы пациентов с БУ, а также с ББ без поражения глаз (БГП) был определен характерный иммунологический фенотип, связанный с клиническим вариантом течения заболевания.

Тенденция к подъему общего содержания лимфоцитов ($CD45^+$), статистически значимое увеличение относительного количества общей популяции Т-лимфоцитов ($CD3^+$), обнаруженные во всех клинических группах по сравнению с контролем, отражали воспалительную активность патологического процесса; при этом, достоверное повышение значений этих показателей позволило качественно выделить группу с УА, что согласуется с данными Yu H.G., Lee D.S. и соавт., отметивших активацию лимфоцитарного звена и повышенное содержание $CD3^+$ популяции в крови и влаге передней камеры глаза у пациентов с активным течением БУ [13].

Снижение абсолютного и относительного количества популяции Т-хелперов, послужившего причиной достоверного снижения $CD4^+/CD8^+$ у больных с БУ и различным клиническим вариантом течения заболевания по сравнению с группой здоровых доноров, свидетельствует о развитии дисбаланса субпопуляций Т-клеток.

Наиболее интересные, на наш взгляд, результаты получены при анализе сдвигов эффектор-

ных субпопуляций адаптивного иммунитета $CD3^+CD8^+$ лимфоцитов, минорной субпопуляции дубль позитивных Т-клеток, а также НК-киллеров, осуществляющих неспецифическую иммунную защиту организма.

Так, при общем анализе результатов исследования было выявлено статистически значимое повышение относительного содержания циркулирующих Т-цитотоксических клеток у всех больных ББ по сравнению с группой здоровых добровольцев. При этом увеличение абсолютного количества этой субпопуляции явилось отличительной особенностью группы с активным течением БУ. В ходе индивидуального анализа более чем у половины пациентов (у 55% больных УР и 50% с УА и БГП) обнаружены характерные однонаправленные сдвиги в сторону значительного увеличения относительного количества $CD3^+CD8^+$ клеток. Колебания абсолютного показателя Т-цитотоксических клеток также имели тенденцию к увеличению, в особенности в группе с УА, где этот сдвиг выявлялся статистически значимо в 1,8 раза чаще (в 57% случаев) по сравнению с группой УР (Рисунок. 2, Таблица 2). Подобные системные сдвиги циркулирующих Т-цитотоксических лимфоцитов и значительное увеличение их относительного количества на локальном уровне, во внутренних жидкостных средах глаза (влаге передней камеры) у пациентов с БУ, были показаны Yu H.G. и соавт. Этой же группой проведен сравнительный анализ показателей содержания этой субпопуляции при увеитах другой этиологии, который продемонстрировал существенное статистически значимое отличие группы больных с БУ [13]. Таким образом, полученные данные свидетельствуют об участии $CD3^+CD8^+$ клеток в патогенезе ББ и его глазных проявлений; нельзя исключить, что повышение данного показателя лимфоцитов может быть патогномичным для БУ и ассоциироваться с его активным течением. Однако этот вопрос требует доказательств и дальнейших углубленных исследований.

Таблица 3. Корреляционно-регрессионный анализ взаимосвязи клеток врожденного и адаптивного иммунитета (%) у пациентов с ББ

Популяции лимфоцитов	БГП (n=8)	УР (n=51)	УА (n=26)
$CD16^+CD56^+/CD3^+$	-0,302	-0,792	-0,782
$CD16^+CD56^+/CD4^+$	0,075	-0,593	-0,331
$CD16^+CD56^+/CD8^+$	-0,357	-0,236	-0,095
$CD16^+CD56^+/CD19^+$	-0,199	0,018	-0,217

Примечание: направление связи (+) – прямая, (-) – обратная; сила связи: (0,7- 1,0) - сильная; (0,3- 0,699) – средняя; (0- 0,299) – слабая; n=количество обследуемых в группах.

Как известно, цитотоксические Т-клетки являются ключевой эффекторной субпопуляцией в адаптивном противовирусном иммунном ответе. Полученные нами данные находят косвенное подтверждение в работах Sun A., 1998, Kim D.Y., 2013 и др., посвященных важной роли герпес-вирусной инфекции, и, в частности, вирусов Эпштейн-Барр и простого герпеса в инициации ББ, многочисленных проявлений заболевания и запуске рецидивов [14, 15].

Другим важным эффекторным звеном, осуществляющим противоинфекционную защиту, способным вместе с тем регулировать адаптивный иммунитет, являются клетки врожденной иммунной защиты - натуральные киллеры (NK-клетки) - CD16⁺CD56⁺ лимфоциты [16].

В нашем исследовании значения показателей относительного и абсолютного количества NK лимфоцитов в крови всех больных были статистически значимо снижены по сравнению с группой здоровых. При этом наиболее существенное понижение таковых качественно выделило группу пациентов без поражения глаз (но с системными проявлениями). Повышение содержания NK клеток отмечалось в группе пациентов с БУ в состоянии ремиссии заболевания, однако значения указанного показателя были на отметке статистически значимо ниже нормы. Полученные данные согласуются с результатами исследования, проведенного Hasan M.S. и соавт. [17], которые обнаружили существенное снижение NK-клеток в периферической крови пациентов с ББ, коррелирующее с активностью болезни. Причем наиболее выраженная депривация наблюдалась только при активной ББ (при вовлечении от 1 до 6 систем). По мнению Hasan M.S. и соавт., значительное снижение популяции CD16⁺CD56⁺ лимфоцитов может быть обусловлено усиленным хомингом этих клеток в места воспаления. Кроме того, в этой же работе было показано, что количество циркулирующих NK-клеток истощается в крови пациентов, принимающих иммунодепрессивную терапию, и на основании корреляционного анализа определена сильная взаимосвязь с приемом препарата азатиоприн. Стоит отметить, что в нашем исследовании мы получили сходные результаты: значительное снижение содержания CD16⁺CD56⁺ лимфоцитов до 8,7±1% отмечалось в крови пациентов группы с ББ без поражения глаз с длительностью заболевания в среднем 14,2 года, находившихся на момент проведения обследования в ремиссии, принимавших комбинированное лечение (азатиоприн + метилпреднизолон).

Накоплены многочисленные данные, что NK-клетки являются ключевыми регуляторами

в контроле приобретенного специфического иммунного ответа и аутоиммунитета [18]. На основании корреляционного анализа в группах БУ нами были выявлены сильные отрицательные взаимосвязи между относительным количеством циркулирующих CD16⁺CD56⁺ лимфоцитов и общей популяцией Т-лимфоцитов, отрицательные связи средней степени - с содержанием Т-хелперов в крови обследуемых больных.

Помимо основных субпопуляций лимфоцитов в крови человека обнаруживаются «редкие», или минорные, субпопуляции лимфоцитов, среди которых особое внимание привлекают «дубль позитивные» Т-клетки с фенотипом CD3⁺CD4⁺CD8⁺. Обнаружение в крови низкокодифференцированных дубль-позитивных Т-клеток одно время считалось артефактом, свидетельствующем о преждевременном выходе незрелых Т-лимфоцитов из тимуса, где они проходят необходимые стадии селекции. Однако на сегодняшний день считается, что данная субпопуляция лимфоцитов является высококодифференцированными клетками памяти [19], в которой также выделяют несколько вариантов фенотипов, в зависимости от плотности экспрессии маркеров CD4 и CD8. Хотя роль данной субпопуляции клеток во многом не ясна, накоплено достаточное количество данных, рассматривающих CD3⁺CD4⁺CD8⁺ как возможный показатель развития аутоиммунных процессов, но единого мнения по этому вопросу не достигнуто [20].

Имеются также свидетельства об их увеличении в периферической крови при различных патологических состояниях: злокачественных новообразованиях, хроническом лимфолейкозе, инфекционных (моноклеоз, ВИЧ) и аутоиммунных заболеваниях (миастения, рассеянный склероз, идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура) и др. [21, 22, 23].

Отмеченная нами тенденция к повышению относительного и абсолютного количества дубль-позитивных Т-клеток в крови в целом у всех больных ББ (более выраженная в группе БГП) согласуется с данными Armengol M. P. и соавт., 2008, а также Кудрявцева И.В. с соавт., 2014, показавших увеличение содержания циркулирующих CD3⁺CD4⁺CD8⁺ лимфоцитов при аутоиммунных заболеваниях [24, 25].

Считается также, что дубль-позитивные Т-лимфоциты могут иметь большое значение в реакциях адаптивного иммунитета в ответ на различные инфекционные агенты [19, 26]. Тенденция к повышению дубль-позитивных Т-клеток в крови у наших пациентов также не

позволяет исключить присоединение инфекционного агента у данной группы больных.

Заключение

В результате проведенного исследования представлены изменения в клеточном составе иммунологического статуса, ассоциированных с офтальмологическими проявлениями болезни Бехчета (БУ).

Индивидуальное сравнение характера и частоты сдвигов субпопуляций лимфоцитов качественно выделило группу с УА, где зафиксирован подъем до максимальных значений общего количества лимфоцитов CD45⁺ и абсолютного числа Т-клеток

(CD3⁺) с увеличением содержания субпопуляции CD3⁺CD8⁺, определявшейся в 1,8 раз чаще, чем в группе пациентов в ремиссии заболевания.

Полученные данные представляются важными для понимания патогенеза ББ, ее осложнений, и нуждаются в дальнейших целенаправленных исследованиях для разработки персонализированных подходов к профилактике и лечению пациентов с глазными проявлениями ББ.

Динамика изменения количественного состава субпопуляций лимфоцитов при ББ может представлять ценность для определения групп риска рецидива и оценки тяжести течения основного заболевания.

Литература

1. Алекберова З.С., Лисицына Т.А. Болезнь Бехчета. Российские клинические рекомендации. Ревматология / под ред. Е.Л. Насонова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017, с. 210-228.
2. Лисицына Т.А., Давыдова Г.А., Хатагова З.Р., Катаргина Л.А., Алекберова З.С. Оценка активности увеита с помощью индекса BOS24 у пациентов с болезнью Бехчета. Научно-практическая ревматология. 2016; 54(6): 681-686. DOI:10.14412/1995-4484-2016-681-686.
3. Mamo J. The rate of visual loss in Behcet's disease. Arch Ophthalmol 1970; 84: 451-452.
4. Kim T. W., Kang J. S., Kong J. M. et al. Maturation profiles of peripheral blood dendritic cells in patients with endogenous uveitis. Immunology Letters. 2012; Vol.142, (1-2): 14-19.
5. Eksioglu-Demiralp E., Direskeneli H., Kibaroglu A., et al. Neutrophil activation in Behcet's disease. Clinical and Experimental Rheumatology. 2001; Vol. 19, 5 (24): 19-24.
6. Ahn J. K., Yu H. G., Chung H., Park Y. G. Intraocular cytokine environment in active Behcet uveitis. American Journal of Ophthalmology. 2006; Vol.142, (3): 429-434.
7. Ahn J. K., Chung H., Lee D., et al. CD8brightCD56+ T cells are cytotoxic effectors in patients with active Behcet's uveitis. Journal of Immunology. 2005; Vol.175 (9): 6133-6142.
8. Atagunduz P, Ergun T, Direskeneli H. MEFV mutations are increased in Behcet's disease and associated with vascular involvement. Clin Exp Rheumatol 2003; 21(Suppl 30): S35-37
9. Mohamad J.Z., Saadoun D., Garrido M., et al., Behcet's disease physiopathology: a contemporary review. Autoimmun Highlights 2016; 7:4. DOI 10.1007/s13317-016-0074-1.
10. Clinical and Experimental Rheumatology. 17th International Conference on Behcet's Disease (Abstracts). 2016; 12-16.
11. International Team for the Revision of the International Criteria for Behcet's Disease (ITR-ICBD). The International Criteria for Behcet's Disease (ICBD): a collaborative study of 27 countries on the sensitivity and specificity of the new criteria. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2014, vol. 28, no. 3, pp. 338-347.
12. Jae Kyoung Ahn, Hyeong Gon Yu, Hum Chung et al., Intraocular Cytokine Environment in Active Behcet Uveitis. American Journal of Ophthalmology. 2006; 429-434.
13. Yu H.G., Lee D.S., Seo J.M., Ahn J.K., Yu Y.S., Lee W.J., Chung H. The number of CD8+ T cells and NKT cells increases in the aqueous humor of patients with Behcet's uveitis. Clin Exp Immunol. 2004; 137: 437-443.
14. Sun A., Chang J.G., Chu C.T., Liu B.Y., Yuan J.H., Chiang C.P. Preliminary evidence for an association of Epstein-Barr virus with pre-ulcerative oral lesions in patients with recurrent aphthous ulcers or Behcet's disease. J Oral Pathol Med 1998; 27: 168-175.
15. Kim D.Y., Cho S., Choi M.J., Sohn S., Lee E.S., Bang D. Immunopathogenic role of herpes simplex virus in Behcet's disease. Genet Res Int 2013; 2013: 638273.
16. Абакушина Е. В., Кузьмина Е. Г., Коваленко Е. И. Основные свойства и функции НК-клеток человека. Иммунология 2012; №4: 220-224.
17. Hasan MS, Ryan PL, Bergmeier LA. Circulating NK cells and their subsets in Behcet's disease. Clin Exp Immunol. 2017; 188: 311-322. doi: 10.1111/cei.12939
18. Tian Z, Gershwin ME, Zhang C. Regulatory NK cells in autoimmune disease. J Autoimmun. 2012; 39: 206-215. doi: 10.1016/j.jaut.2012.05.006
19. Nascimbeni M. et al. Peripheral CD4(+)CD8(+) T cells are differentiated effector memory cells with antiviral functions / Blood. 2004; Vol. 104, №2: 478-486.
20. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010, с. 314-332, 588-624.
21. Балацкая Н.В., Еремеева Е.А., Слепова О.С., Рябина М.В., Куликова И.Г., Сорожкина Е.С. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у пациентов с возрастной макулярной дегенерацией. Медицинская иммунология. 2015; 17(5): 461-466. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2015-5-461-466>.
22. Desfrancois J, et al. Double positive CD4CD8 alpha beta T cells: a new tumor-reactive population in human melanomas. PLoS One. 2010 Jan 5; 5(1): e8437. doi: 10.1371/journal.pone.0008437.
23. Sullivan Y.B. et al. Upregulation of CD4 on CD8+ T cells: CD4dimCD8bright T cells an activated phenotype of CD8+ T cells / Immunology 2001; Vol. 103, №3: 270-280.
24. Кудрявцев И.В., Захарова Г.А., Гапонова Т. В. Исследование основных субпопуляций Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток при ревматоидном артрите. Российский иммунологический журнал 2014; Т. 8 (17), №2 (1): 89-92.
25. Armengol M. P., Sabater L., Fernandez M. Influx of recent thymic emigrants into autoimmune thyroid disease glands in humans. Clinical and Experimental Immunology 2008; Vol. 153: 338-350.
26. Лебедев М.Ю., Шолкина М.Н., Живцов О.П. Содержание дубль-позитивных CD4+CD8+ лимфоцитов в периферической крови тяжелообожженных и больных с остеомиелитом. Фундаментальные исследования 2013; № 12-1: 45-48.