

## ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ПОВЫШЕННЫМ УРОВНЕМ СУБПОПУЛЯЦИИ ДВОЙНЫХ НЕГАТИВНЫХ В-ЛИМФОЦИТОВ И АКТИВНОСТЬЮ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКИ

Е.В.Супоницкая, А.П.Алексанкин, А.А.Меснянкина, Т.А.Панафидина,  
С.К.Соловьев, Е.Н.Александрова, Е.Л.Насонов

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А.Насоновой» (ФГБНУ НИИР им. В.А.Насоновой), г.Москва, Российская Федерация

*Исследование посвящено изучению гомеостаза В-лимфоцитов периферической крови пациентов с активной системной красной волчанкой (СКВ) методом проточной цитофлуориметрии и оценке взаимосвязи между параметрами активности СКВ и субпопуляциями В-клеток.*

*Ключевые слова: субпопуляции В-лимфоцитов, проточная цитофлуориметрия, активная форма системной красной волчанки*

**Введение.** Поликлональная активация В-лимфоцитов при системной красной волчанке (СКВ) характеризуется повышенной продукцией плазмбластов и двойных негативных В-клеток [1, с.3581], а также выраженным снижением субпопуляции наивных В-клеток в периферической крови пациентов [2, с.108, 3,с.243]. К настоящему времени накоплено достаточно данных, характеризующих взаимосвязь между субпопуляциями В-лимфоцитов и активностью СКВ [4, с.1210]. Тем не менее, сведения литературы противоречивы и взаимосвязь между активностью СКВ и субпопуляциями В-клеток остается неясной.

**Цель.** Цель настоящего исследования – оценка взаимосвязи между субпопуляциями В-лимфоцитов периферической крови пациентов СКВ и активностью заболевания до лечения ритуксимабом (РТМ) с помощью проточной цитофлуориметрии, определение корреляции между активностью СКВ и субпопуляциями В-клеток.

**Материалы и методы.** В исследование включено 23 пациента (21Ж/2М) с активной формой СКВ и 27 здоровых доноров. Возраст пациентов составил: медиана 36 лет (интерквартильный интервал) (30–40); продолжительность болезни: 6,7 лет (2–8); индекс SLEDAI-2K: 13,5 (8–19), (SLEDAI-2K  $\geq$ 8 у 18 больных, SLEDAI-2K <8 у 5 больных); общий BILAG индекс (посчитан в программе i-BLIPS): 20,5 (14,5–24). Все пациенты получали преднизолон 17,5 (10–25) мг/сутки, микофенолата мофетил (7 пациентов), азатиоприн (5 пациентов), аминохинолиновые препараты (19 пациентов), метотрексат (1 пациент).

На проточном цитофлуориметре до лечения РТМ исследовались следующие субпопуляции В-клеток периферической крови пациентов и доно-

ров: CD19+В- лимфоциты, В-клетки памяти (CD19+CD27+), непереключенные (CD19+IgD+CD27+) и переключенные (CD19+IgD-CD27+) В –клетки памяти, наивные (CD19+IgD+CD27-), двойные негативные (CD19+IgD-CD27-) и транзиторные (CD19+IgD+CD10+CD38++CD27-) В-клетки. У пациентов исследованы лабораторные показатели: СОЭ, СРБ, С3 и С4, АНА и anti-dsDNA.

**Результаты.** Медиана относительного количества (интерквартильный интервал) В клеток памяти (CD19+CD27+), непереключенных В клеток памяти (CD19+IgD+CD27+), наивных (CD19+IgD+CD27-) и транзиторных (CD19+IgD+CD10+CD38++CD27-) В клеток была ниже у пациентов с СКВ по сравнению со здоровыми донорами: 1,3% (1,0–2,2) vs 2,2% (1,6–3,3), 2,1% (1,6–5,9) vs 10,0% (6,4–12,7), 58,2% (40,2–66,9) vs 65,8% (55,1–73,4), и 0,1% (0–0,1) vs 0,1% (0,1–0,3), соответственно;  $p < 0,05$  для всех случаев. Процентное соотношение двойных негативных В-клеток (CD19+IgD-CD27-) у пациентов с СКВ было выше, чем у здоровых доноров: 29,6% (20,9–41,3) и 9,8% (8,4–12), соответственно,  $p < 0,0001$  (рис.).

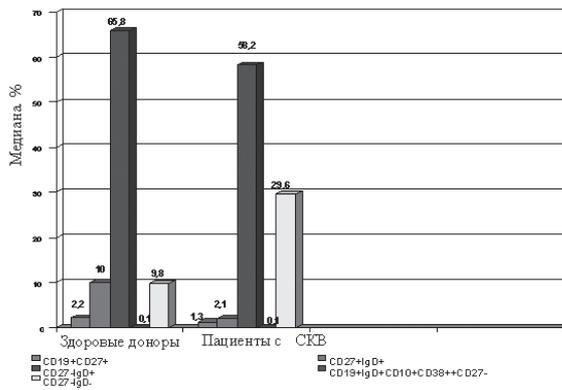
В общей когорте СКВ пациентов выявлена негативная корреляция между относительным ( $r = -0,59$ ) и абсолютным значением ( $r = -0,59$ ) В-клеток памяти (CD19+CD27+) и уровнем анти-dsDNA,  $p < 0,05$  для обоих случаев.

Относительное количество двойных негативных В-клеток (CD19+IgD-CD27-) позитивно коррелировало с индексом SLEDAI-2K ( $r = 0,55$ ), BILAG ( $r = 0,55$ ), СОЭ ( $r = 0,60$ ) и суточной дозой преднизолона ( $r = 0,50$ ),  $p < 0,05$  для всех случаев. В подгруппе пациентов с активной формой СКВ

**Корреляция клинических параметров с относительным количеством двойных негативных В-клеток (CD19+IgD-CD27-) у пациентов с СКВ**

Параметры	Двойные негативные В-клетки (CD27-IgD-) r, Spearman		
	Общая когорта пациентов с СКВ N=23	SLEDAI-2K ≥8 N=18	Уровень анти-dsDNA антител >50 IU/ml N=17
SLEDAI-2K	0,55	0,58	0,64
BILAG	0,55	0,75	NS
СОЭ	0,60	0,67	0,63
Суточная доза преднизолона, мг	0,50	NS	0,60
C3	NS	NS	-0,80
C4	NS	NS	-0,59

p<0,05 для всех случаев, NS - недостоверная корреляция



**Рис. Относительное количество субпопуляций В-клеток у здоровых доноров и пациентов с СКВ**

(N=18, SLEDAI-2K ≥8) эта корреляция была выше: SLEDAI-2K r=0,58, BILAG r=0,75, ESR r=0,67. Выраженная негативная корреляция между относительным количеством двойных негативных В-клеток (CD19+IgD-CD27-) и уровнем C3 и C4 наблюдалась у 17 пациентов с высоким уровнем анти-dsDNA антител (>50 IU/ml): r=-0,80 и r=-0,59, соответственно, p<0,05 для двух случаев (табл.).

**Выводы.** Иммунофенотипирование показало снижение относительного количества В-клеток памяти, непереключенных, наивных, транзиторных и увеличение двойных негативных (IgD-CD27-) В-клеток у пациентов с активной формой СКВ. Позитивная корреляция относительного значения двойных негативных В-клеток с индексами активности СКВ (SLEDAI-2K, BILAG), СОЭ, так же как и выраженная негативная корреляция с C3 и C4 может свидетельствовать о важной роли двойных негативных (IgD-CD27-) В-клеток в патогенезе СКВ.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Rituximab improves peripheral B cell abnormalities in human systemic lupus erythematosus/ J.Anolik [et al.]//Arthritis Rheum. –2004. – Vol.50№ 11. – P.3580-90.
2. Decreased frequency and activated phenotype of blood CD27 IgD IgM B lymphocytes is a permanent abnormality in systemic lupus erythematosus patients/ B. Rodriguez-Bayona [et al.]//Arthritis Res Ther. – 2010. – Vol.12№ 3. –P.108.
3. Mechanisms of B cell autoimmunity in SLE/ T. Dürner, C. Giesecke, P. Lipsky //Arthritis Res Ther. – 2011. – Vol.13№5. –P.243.
4. B-cell numbers and phenotype at clinical relapse following rituximab therapy differ in SLE patients according to anti-dsDNA antibody levels/ M.N. Lazarus [et al.] // Rheumatology (Oxford). – 2012. – Vol.51№7. – P.1208-15.

**RELATIONSHIP BETWEEN INCREASED LEVELS OF DOUBLE NEGATIVE B-LYMPHOCYTES SUBPOPULATIONS AND SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS ACTIVITY**

**Suponitskaya E.V., Aleksankin A.P., Mesnyankina A.A., Panafidina T.A., Solovov S.K., Aleksandrova E.N., Nasonov E.L.**

V.A.Nasonova Scientific and Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russian Federation

The study is devoted to evaluation of B-lymphocytes homeostasis in the peripheral blood of active systemic lupus erythematosus (SLE) patients by flow cytofluorometry and determination of relationship between SLE disease activity and B-cell subpopulations.

Keywords: B-lymphocytes subpopulations, flow cytofluorometry, active systemic lupus erythematosus.