

Персистенция CD8+ Т-клеточных клонов у пациентов с аутоиммунной гемолитической анемией

Смирнова Светлана Юрьевна

Выпускник (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия

E-mail: smirnova-s-ju@yandex.ru

Введение. Аутоиммунная гемолитическая анемия (АИГА) - редкое заболевание системы крови, которое сопровождается образованием антител к собственным антигенам эритроцитов и аутоиммунным гемолизом. В патогенезе АИГА ведущая роль отводится В-лимфоцитам, которые вырабатывают аутоантитела к эритроцитарным антигенам, чаще всего (70% случаев) резус антигену [1]. На мышиных моделях получено много доказательств непосредственного участия Т-лимфоцитов в патогенезе АИГА [2-4]. Данная работа направлена на изучение клональных популяций Т-лимфоцитов у пациентов с АИГА. Поскольку у мышей АИГА индуцируется различными манипуляциями (заражение вирусом, введение крысиных эритроцитов, делеция генов, врожденные дефекты и т.д.), невозможно полностью перенести эти данные на человека. Поскольку у мышей АИГА индуцируется различными манипуляциями (заражение вирусом, введение крысиных эритроцитов, делеция генов, врожденные дефекты и т.д.), невозможно полностью перенести эти данные на человека. Целью нашей работы является изучение роли Т лимфоцитов в патогенезе аутоиммунной гемолитической анемии

Материалы и методы. В работу включены 27 пациентов с диагнозом АИГА. В качестве контроля были взяты пациенты с другими анемиями (n-13), другими аутоиммунными заболеваниями (n-14) и здоровые доноры (n-20). Определение Т-клеточной клональности проводили по реаранжировкам генов гамма и бета цепей Т-клеточного рецептора (TCRG и TCRB). У всех пациентов проводили определение В-клеточной клональности по реаранжировкам генов тяжелой цепи иммуноглобулина. Для этого использовали метод ПЦР с мультиплексными системами праймеров Biomed-2 [5] и последующий фрагментный анализ на секвенаторе ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems). У 5-х пациентов провели селекцию CD4+, CD8+, CD4+25+ лимфоцитов периферической крови при помощи наборов производства Miltenyibiotec.

Результаты. При оценке Т-клеточной клональности по реаранжировкам генов TCRG и TCRB у больных с АИГА выявлен достоверно высокий уровень клональных Т-лимфоцитов по сравнению с группой контроля. Динамическое исследование пациентов с выявленной Т-клеточной клональностью показало, что клональные Т-лимфоциты сохраняются независимо от уровня гемоглобина, определяются как в период ремиссий, так и обострений, не исчезают после проводимой терапии и клинического улучшения (срок наблюдения 1-10 лет). В-клеточной клональности не выявлено ни в одном случае. Связь Т-клеточной клональности с полом, возрастом, длительностью, тяжестью заболевания, спленэктомией не найдена. Исследование клональности в различных популяциях Т-лимфоцитов (CD4+, CD8+, CD4+25+) показало, что клональные лимфоциты принадлежат к CD8+ Т-лимфоцитам.

Заключение. Отсутствие положительной корреляции частоты обнаружения Т-клеточных CD8+ клонов с течением заболевания, его тяжестью, длительностью, уровнем гемоглобина, свидетельствуют об отсутствии прямой связи данных клонов с аутоиммунным процессом. Мы предполагаем, что персистенция иммунных клонов может опосредовано поддерживаться аутоиммунным процессом, однако данные клоны не принимают участия в развитии и поддержании гемолиза. Наличие клональности у большого процента (48,5%)

пациентов с АИГА не должно расцениваться клиницистами как наличие Т-клеточной опухоли, однако требует наблюдения.

Источники и литература

- 1) 1. Zeerleder S. Autoimmune haemolytic anaemia-a practical guide to cope with a diagnostic and therapeutic challenge. *Neth JMed.* 2011; 69: 177–184
- 2) 2. Chen SY, Takeoka Y, Ansari AA, Boyd R, Klinman DM, Gershwin ME. The natural history of disease expression in CD4 and CD8 gene-deleted New Zealand black (NZB) mice. *J Immunol.* 1996;157: 2676-2684.
- 3) 3. Mqadmi A, Zheng X, Yazdanbakhsh K. CD4+CD25+ regulatory T cell control induction of autoimmune hemolytic anemia. *Blood.* 2005; 105(9): 3746-3748
- 4) 4. Hoyer KK, Wolslegel K, Doms H, Abbas AK. Targeting T cell-speci[U+FB01]c costimulators and growth factors in a model of autoimmune hemolytic anemia. *J Immunol.* 2007;179(5):2844-2850
- 5) 5. Dongen JJ, Langerak AW, Bruggemann M, Evans PA, Hummel M, Lavender FL, Delabesse E, Davi F, Schuurin E, Garcia-Sanz R, Krieken JH, Droese J, Gonzalez D, Bastard C, White HE, Spaargaren M, Gonzalez M, Parreira A, Smith JL, Morgan GJ, Kneba M, Macintyre EA. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia.* 2003; 17(12): 2257–2317

Иллюстрации

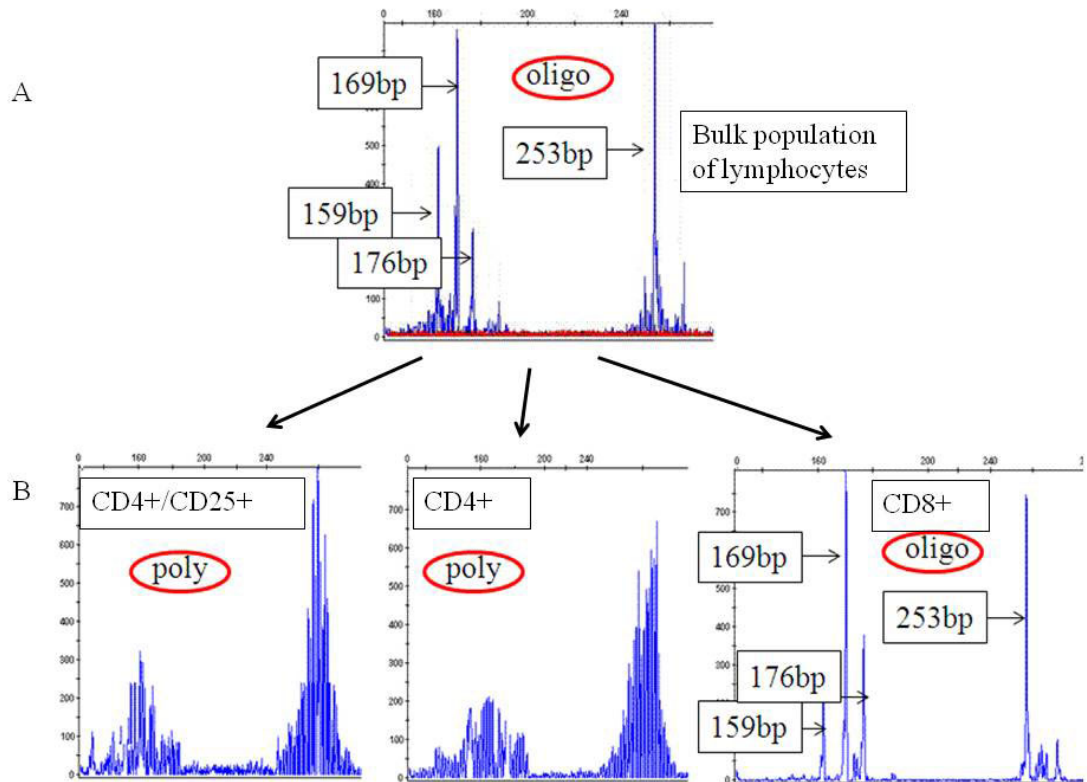


Рис. 1. А) В общей популяции лимфоцитов периферической крови пациентки №17 с АИГА выявлена олигоклональная картина генов TCRG (клональные продукты размером 159, 169, 176 и 253 пар нуклеотидов). Б) В результате селекции клеток выделены три популяции лимфоцитов – CD4+/CD25+, CD4+, CD8+. Клональные реарранжировки генов TCRG не выявлены в популяциях CD4+/CD25+, CD4+ (поликлональная картина). В популяции CD8+ лимфоцитов выявлены клональные продукты генов TCRG, размеры которых соответствуют размерам, выявленным в общей популяции.