

УДК 616.72-002.772

Мануилов А.С.<sup>1</sup>, Бельских А.Н.<sup>1</sup>, Бардаков С.Н.<sup>1</sup>, Жекалов А.Н.<sup>1</sup>, Тишко В.В.<sup>1</sup>, Никитин В.Ю.<sup>1</sup>,  
Кудрявцев И.В.<sup>2</sup>, Серебрякова М.К.<sup>2</sup>

## Особенности Т-клеточного иммунитета у больных ревматоидным артритом на фоне комплексной адаптивной иммунотерапии

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ,  
194044, Санкт-Петербург, Россия, ул. Академика Лебедева д. 6;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»,  
197376, Санкт-Петербург, Россия, ул. Академика Павлова, д. 12

**Введение.** Тяжелые побочные явления лекарственных средств и возникающая фармакологическая резистентность к базисной противоревматической терапии у пациентов с ревматоидным артритом (РА) способствуют поиску новых методов лечения. Одним из перспективных направлений современной эфферентной терапии являются методики экстракорпоральной гемокоррекции, селективно воздействующие на патологические механизмы систем иммунитета и гомеостаза, в частности метод экстракорпорального фотофереза (ЭКФ), основанный на селективной экстракорпоральной фотохимической обработке мононуклеарных клеток периферической крови. В статье изложены результаты и обсуждается влияние комплексной адаптивной иммунотерапии на субпопуляционный состав лимфоцитов и Т-регуляторные клетки у пациентов с РА.

**Цель** исследования – изучение особенностей Т-клеточного иммунитета у больных ревматоидным артритом на фоне комплексной адаптивной иммунотерапии.

**Методика.** Обследовано 100 пациентов с верифицированным диагнозом РА, согласно критериям Американской коллегии ревматологов / Европейской антиревматической лиги (ACR/EULAR, 2010). Всех пациентов разделили на основную и контрольную группу. В основную были включены 50 пациентов, получающих базисные противовоспалительные препараты в сочетании с ЭКФ в программном режиме (две процедуры в 2,5–3 мес в течение 24 мес), в контрольную группу вошли 50 пациентов, получающих только стандартную базисную монотерапию.

**Результаты.** Установлено, что применение ЭКФ снижает функциональную активность NK-клеток и Т-лимфоцитов, экспрессирующих α-цепь рецептора ИЛ-2, за счет увеличения в периферической крови уровня Т-регуляторных клеток у большинства исследуемых пациентов с РА.

**Заключение.** Включение ЭКФ, как компонента комплексной противоревматической терапии у пациентов с РА, усиливает иммуномодуляторный эффект за счет увеличения в периферической крови уровня Т-регуляторных клеток и снижения функциональной активности Т-активированных лимфоцитов, что в свою очередь восстанавливает дисбаланс в Т-клеточной популяции и сохраняет периферическую иммунологическую устойчивость к собственным антигенам.

**Ключевые слова:** адаптивная иммунотерапия; экстракорпоральный фотоферез; ревматоидный артрит; клеточный иммунитет; иммунный ответ

**Для цитирования:** Мануилов А.С., Бельских А.Н., Бардаков С.Н., Жекалов А.Н., Тишко В.В., Никитин В.Ю., Кудрявцев И.В., Серебрякова М.К. Особенности Т-клеточного иммунитета у больных ревматоидным артритом на фоне комплексной адаптивной иммунотерапии. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2022; 66(2): 43-51.  
DOI:10.25557/0031-2991.2022.02.43-51

**Участие авторов:** Мануилов А.С. – существенный вклад в концепцию и дизайн исследования, анализ данных; Бельских А.Н. – вклад в анализ и интерпретацию данных, Бардаков С.Н. – статистическая обработка результатов; Жекалов А.Н., Тишко В.В. – участие в переработке первого варианта статьи на предмет актуального аналитического содержания; Никитин В.Ю., Кудрявцев И.В., Серебрякова М.К. – получение данных с помощью метода проточной цитофлуориметрии. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все авторы.

**Для корреспонденции:** Мануилов Андрей Сергеевич, e-mail: andre.manuilov@yandex.ru

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

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 21.03.2022

Принята к печати 31.03.2022.

Опубликована 27.05.2022

Manuilov A.S.<sup>1</sup>, Belskikh A.N.<sup>1</sup>, Bardakov S.N.<sup>1</sup>, Zhekalov A.N.<sup>1</sup>, Tishko V.V.<sup>1</sup>, Nikitin V.Yu.<sup>1</sup>, Kudryavtsev I.V.<sup>2</sup>, Serebryakova M.K.<sup>2</sup>

## Properties of T-cell immunity in patients with rheumatoid arthritis during complex adaptive immunotherapy

<sup>1</sup>Kirov Military Medical Academy,  
Academika Lebedeva St. 6, St. Petersburg, 194044, Russian Federation;

<sup>2</sup>Institute of Experimental Medicine,  
Academika Pavlova St. 12, St. Petersburg, 194044, Russian Federation

**Introduction.** Severe side effects of drugs and emerging pharmacological resistance to basic antirheumatic therapy in patients with rheumatoid arthritis (RA) warrant the search for new methods of treatment based on selective extracorporeal photochemical processing of peripheral blood mononuclear cells. This article presents the results and discusses the impact of complex adaptive immunotherapy on the subpopulation composition of lymphocytes and T-regulatory cells in patients with RA. **The aim** was to study the properties of T-cell immunity in patients with RA during complex adaptive immunotherapy.

**Methods.** We examined 100 patients with a verified diagnosis of RA, according to the criteria of the American College of Rheumatology/European Antirheumatic League (ACR/EULAR, 2010). The patients were divided into a main and a control group. The main group included 50 patients that received basic anti-inflammatory drugs in combination with extracorporeal photopheresis (ECP) in a program mode (two procedures every 2.5-3 mos. for 24 mos.). The control group included 50 patients that received only standard, basic monotherapy.

**Results.** ECP reduced the functional activity of NK cells and T-lymphocytes that expressed the  $\alpha$ -chain of the IL-2 receptor due to an increase in T-regulatory cells in the peripheral blood in most treated patients with RA.

**Conclusion.** The inclusion of ECP as a component of complex antirheumatic therapy in patients with RA enhances the immunomodulatory effect. This is due to an increase in the content of T-regulatory cells in the peripheral blood and a decrease in the functional activity of T-activated lymphocytes, which, in turn, restores the imbalance in the T-cell population and preserves the peripheral immunotolerance to self-antigens.

**Keywords:** adaptive immunotherapy; extracorporeal photopheresis; rheumatoid arthritis; cellular immunity; immune response

**For citation:** Manuilov A.S., Belskikh A.N., Bardakov S.N., Zhekalov A.N., Tishko V.V., Nikitin V.Yu., Kudryavtsev I.V., Serebryakova M.K. Properties of T-cell immunity in patients with rheumatoid arthritis during complex adaptive immunotherapy. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2022; 66(2): 43-51. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.02.43-51

**Author's contribution:** Manuilov A.S. – significant contribution to the concept and design of the study, data analysis; Belskikh A.N. – contribution to data analysis and interpretation; Bardakov S.N. – statistical processing of results; Zhekalov A.N., Tishko V.V. – participation in the revision of the first version of the article for relevant analytical content; Nikitin V.Yu., Kudryavtsev I.V., Serebryakova M.K. – acquisition of data using the method of flow cytometry; Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

**For correspondence:** *Andrey S. Manuilov*, e-mail: andre.manuilov@yandex.ru

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Financing.** The study was not sponsored.

### Information about the authors:

Manuilov A.S., <https://orcid.org/0000-0003-4627-4974>

Belskikh A.N., <https://orcid.org/0000-0002-0421-3797>

Bardakov S.N., <https://orcid.org/0000-0002-3804-6245>

Tishko V.V., <https://orcid.org/0000-0003-4696-3569>

Kudryavtsev I.V., <https://orcid.org/0000-0001-7204-7850>

Serebryakova M.K., <https://orcid.org/0000-0003-2596-4220>

Received 21.03.2022

Accepted 31.03.2022

Published 27.05.2022

## Введение

Ревматоидный артрит (РА) является хроническим аутоиммунным заболеванием, которое характеризуется синовитом и воспалением в окружающих тканях, преимущественно периферических суставов, с прогрессиру-

ющим разрушением хряща и подлежащей кости с формированием стойких нарушений в опорно-двигательной системе [1]. РА считается, преимущественно, Т-клеточным заболеванием. Убедительные данные подтвер-

ждают вывод о том, что Т-хелперы (CD4+ Т-клетки) и истинные натуральные киллеры (NK-клетки) могут инициировать хронический аутоиммунный ответ [2, 3]. CD4+ Т-хелперные (Th) клетки могут играть ведущую роль в возникновении РА, а NK-клетки повышают их пролиферацию и дифференцировку [4]. Хорошо известно, что в разных условиях CD4+ Т-клетки могут дифференцироваться по меньшей мере в 4 различных типа (клетки Th1, Th2, Th17 и Т-регуляторные клетки (ТРК)) [5]. Ряд исследований показал, что NK-клетки могут влиять на дифференцировку Т-клеток, включая Th1, Th2, Th17 и ТРК посредством выработки цитокинов [6]. Th1 и Th17-лимфоциты были описаны как «провоспалительные» клетки, а Th2 и ТРК считаются «противовоспалительными» (иммуномодулирующими) факторами у пациентов с РА [7]. ТРК могут избирательно подавлять различные аспекты функции Т-эффекторов, такие как пролиферация, производство цитокинов, экспрессия хемокиновых рецепторов или цитолитическая функция [8]. Точные механизмы, лежащие в основе подавления, опосредованного ТРК, являются спорными. Возможно, что ТРК подавляют иммунологические реакции несколькими способами, которые могут включать контакт-зависимые процессы, с прямым контактом между ними и Т-эффекторными клетками, или могут включать Т-регуляторные взаимодействия с антиген презентующими клетками (АПК), которые затем подавляют Т-эффекторы [9]. Другие механизмы могут включать цитотоксическое уничтожение клеток-мишеней ТРК, производство супрессивных цитокинов или индукцию других регуляторных клеток. Был проведен ряд исследований для оценки роли клеток ТРК в патогенезе РА. Существуют разные мнения относительно их количества в периферической крови пациентов с РА. Исследования показали, что CD4+CD25+ Т-клетки пациентов с РА обладают дефектной способностью подавлять выработку фактора некроза опухоли- $\alpha$  и интерферона- $\gamma$  Т-клетками или моноцитами, даже если они могут подавлять пролиферацию Т-эффекторных клеток [10].

Одним из перспективных направлений современной эфферентной терапии являются методы экстракорпоральной гемокоррекции, селективно воздействующие на патологические механизмы систем иммунитета и гомеостаза [11]. Недостаточная эффективность лекарственных средств, выраженные побочные действия и формирующаяся фармакорезистентность у пациентов побуждают к поиску новых подходов к лечению, в том числе основанных на экстракорпоральной фотохимической обработке клеток периферической крови – экстракорпоральный фотоферез (ЭКФ) [12]. ЭКФ уменьшает реактивность иммунной системы,

способствуя развитию иммунологической толерантности к собственным клеткам и тканям [13]. Процедура ЭКФ включает сепарацию мононуклеарных клеток из сосудистого русла, экстракорпоральное облучение их ультрафиолетовыми лучами в присутствии фотосенсибилизирующего агента (8-метоксопсоралена) и реинфузию обработанных клеток [14]. Известно, что активированный 8-метоксопсорален образует необратимые ковалентные связи с пиримидиновыми основаниями дезоксирибонуклеиновой кислоты, ингибируя пролиферацию мононуклеаров и индуцирует апоптоз лимфоидных клеток, особенно, естественных киллеров и активированных Т-лимфоцитов [15]. R. Knobler и коллеги разработали клинические рекомендации для применения ЭКФ в комплексном лечении аутоиммунных синдромов и заболеваний, в патогенезе которых ведущую роль играют реактивно измененные клоны Т-лимфоцитов [16]. Хотя данная методика используется в комплексной терапии многих заболеваний и синдромов с нарушением иммунореактивности в течение более двух десятилетий, механизм его лечебного действия крайне сложен и остается не до конца изученным [17]. Научных публикаций о лечебных механизмах ЭКФ в терапии аутоиммунных заболеваний опубликовано значительное количество, однако их данные противоречивы, а исследования при РА ограничены лишь единичными публикациями. Все это определяет актуальность данного исследования.

**Цель исследования** – изучение особенностей Т-клеточного иммунитета у больных ревматоидным артритом на фоне комплексной адаптивной иммунотерапии.

### Методика

Обследовано 100 пациентов (**табл. 1**) с верифицированным диагнозом РА согласно критериям Американской коллегии ревматологов/Европейской антиревматической лиги (ACR/EULAR, 2010) [18]. Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных и медицинских исследований с участием человека», утвержденными приказом № 200н Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01.04.2016 г. и письменного добровольного информированного согласия всех пациентов. Работа одобрена независимым этическим комитетом Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова (протокол № 217 от 25.12.2018 г.). Критериями включения в исследование являлись: возраст от 18 до 76 лет, высокая и средняя активность РА ( $DAS_{28_{срб}} > 3,2$ ), выраженные побочные эффекты стандартной базисной проти-

вовоспалительной терапии (цитопения, цитолиз, инфекционные осложнения и др.) требующие отмены или уменьшения дозы препарата. Критериями исключения были: возраст моложе 18 и старше 75 лет, РА без признаков активности, наличие острых инфекционных и паразитарных заболеваний, сопутствующие онкологические заболевания, беременность и лактация.

Обследование пациентов включало: изучение анамнеза, клинический осмотр, лабораторные тесты и специальные исследования. Определялся клинико-лабораторный индекс активности болезни по DAS 28<sub>срб</sub>.

Концентрацию С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови определяли высокочувствительным иммунонефелометрическим методом с латексным усилением на анализаторе BN ProSpec (Siemens, Германия); нормальный уровень показателя 0–5 мг/л.

Ревматоидный фактор (РФ) определяли в сыворотке крови иммунотурбидиметрическим методом на биохимическом анализаторе «Cobas Integra» фирмы «Ro-sh» (Швейцария); за положительный результат принимали значение РФ > 20 МЕ/мл.

Концентрацию антител к циклическому цитруллинсодержащему пептиду (АЦЦП) в периферической крови определяли в соответствии с иммуноферментной методикой с помощью реактивов фирмы «Axis Shield Diagnostics» (Великобритания), а также методом лазерной нефелометрии на анализаторе «BN-100» фир-

мы «Dade Behring» (Германия). За положительный результат принимали значение более 20 ед/мл.

Определение субпопуляционного состава лимфоцитов и Т-регуляторных клеток (CD3<sup>+</sup>CD25<sup>bright</sup>CD45<sup>+</sup>) в периферической крови проводили на проточном цитометре «Cytomics FC 500» фирмы «Beckman Coulter», США с использованием 4–5-ти цветных комбинаций прямых моноклональных антител и изотипических контролей; bright – яркая степень экспрессии антигена.

Статистический анализ полученных результатов проводился с использованием комплекта программ «Statistica 10.0 for Windows StatSoft» (США). Для сравнения 2 зависимых или независимых выборок с нормальным распределением использовался t-критерий Стьюдента. Также использовались непараметрические статистические методы для сопоставления выборочных данных из совокупностей, отличающихся от нормального распределения. Для оценки различий между двумя несвязанными группами применялся критерий Манна-Уитни. Рассчитанные количественные признаки определены как M±SD (где M – среднее значение; SD – стандартная ошибка среднего); для непараметрического распределения – медиана (Me) и интерквартильный размах (Q25%–Q75%).

Всем пациентам проводилось соответствующее международным рекомендациям лечение базисными противовоспалительными препаратами (БПВП): «пер-

Таблица 1 / Table 1

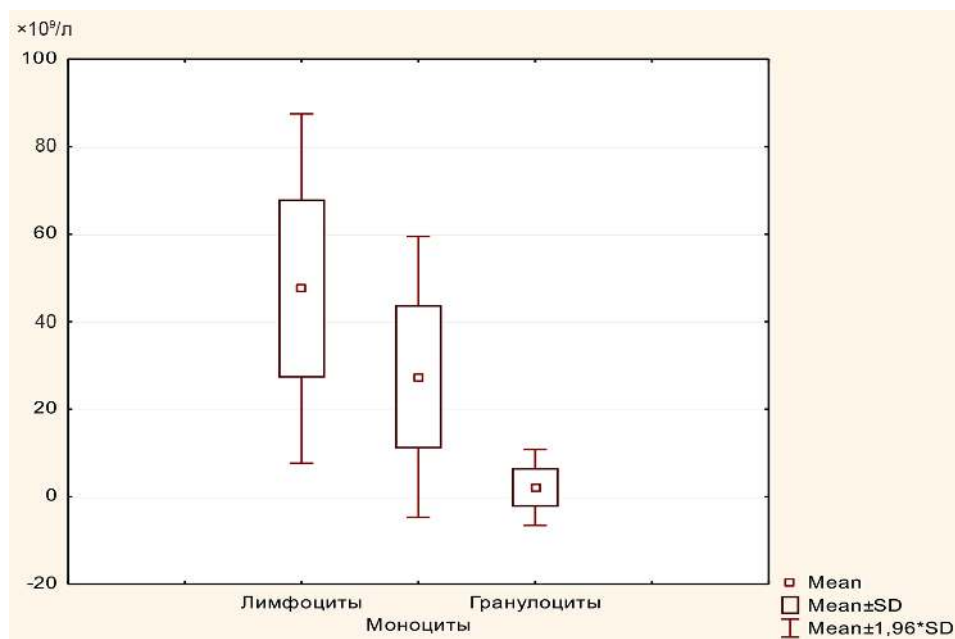
**Клиническая характеристика обследуемых пациентов с РА**

**Clinical characteristics of examined patients with RA**

Показатель (Indicator)	ОГ (n=50) (Experiment)	КГ (n=50) (Control)	p <sup>1</sup>
Возраст, лет (Age, years)	59,8±7,9	57,3±12,2	0,4
DAS 28 <sub>срб</sub> , балл (DAS 28srb, score deployed)	5,5±1,1	5,3±0,9	0,7
Клиническая стадия (Clinical stage):			
- развернутая (advanced)	20 (40)	15 (25)	0,2
- поздняя (late)	30 (60)	35 (75)	0,2
Серопозитивность по РФ (Seropositivity for RF)	34 (68)	38 (76)	0,3
Серопозитивность по АЦЦП (Seropositivity for Anti-CCP)	42 (84)	44 (88)	0,7
Внесуставные проявления (Extra-articular manifestations)	32 (64)	29 (58)	0,8
Продолжительность терапии МТ, мес. (Duration of methotrexate therapy, months.)	34 (3; 60)	26 (3; 50)	0,1
Средняя доза МТ, мг/нед. (Average methotrexate therapy dose, mg/week.)	25 (20; 30)	20 (15; 20)	0,06
Продолжительность терапии ЛФН, мес. (Duration of therapy with leflunomide, months.)	27 (9; 60)	22 (12; 50)	0,07
Средняя доза ЛФН, мг/сут. (Average dose of leflunomide, mg/day.)	20 (20; 20)	20 (20; 20)	0,99
Прием ГКС (Glucocorticosteroid intake)	37 (74)	33 (66)	0,09
Прием НПВП (Nonsteroidal anti-inflammatory drugs intake)	48 (96)	45 (90)	0,6

**Примечание.** Статистическая значимость различий между группами пациентов по  $\chi^2$ -критерию Пирсона и для попарно не связанных выборок по Манну–Уитни при  $p < 0,05$ ; ГКС – глюкокортикостероиды; НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты.

**Note.** Statistical significance differences between group by Pearson’s  $\chi^2$  criterion and: for pairwise unrelated samples according to Mann–Whitney, at  $p < 0,05$ .



**Рис. 1.** Состав полученной клеточной массы. По горизонтали – левый столбик — лимфоциты, средний – моноциты, правый – гранулоциты.

**Fig. 1.** The composition of the resulting cell mass. Horizontal : left column – lymphocytes, middle – monocytes, right – granulocytes.

вой линии» — метотрексатом (МТ) в дозе 20–30 мг/нед или «второй линии» — лефлюномидом (ЛФН) 20 мг/сут.

Всех пациентов разделили на основную (экспериментальную, ОГ) и контрольную группу (КГ) (табл.1). В ОГ были включены 50 пациентов с РА, получающих БПВП в сочетании с ЭКФ в программном режиме (2 процедуры в 2,5–3 мес в течение 24 мес). В КГ вошли 50 пациентов с РА, получающих только БПВП.

Каждые 3 мес проводилась оценка эффективности лечения на основании динамики клинико-лабораторного индекса DAS 28<sub>срб</sub>. В случае достижения хорошего или удовлетворительного ответа схема терапии сохранялась, при отсутствии ответа (динамика клинико-лабораторного индекса DAS 28<sub>срб</sub> < 0,6 баллов) пациентов переводили на генно-инженерную терапию (ГИБТ) и эти пациенты исключались из исследования.

**Методика проведения ЭКФ.** Для выделения лейкоцитов из периферической крови применяли клеточный сепаратор «Spectra Optia» фирмы «Teguto ВСТ» (США) по утвержденному протоколу с контролем клинического анализа крови перед выполнением процедуры. За одну процедуру получали от 110 до 150 мл клеточного концентрата, к которому добавляли 0,9 %-ый раствор натрия хлорида, доводя общий объем полученной суспензии до 300 мл. В качестве фотосенсибилизатора использовали раствор 8-метоксипсоралена (200 нг/кг), добавляя его к полученной клеточной массе, нахо-

дящейся в специализированном герметичном пакете, проницаемом для ультрафиолетовых лучей, с экспозицией 15–20 мин в темном помещении. Затем обработанную фотосенсибилизатором клеточную массу облучали на аппарате для фотофереза «Masogenic G2» фирмы «Masopharma» (Франция). Время облучения составляло от 10 до 15 мин (рассчитывалось аппаратом индивидуально для каждой процедуры) при общей дозе экспозиции 2 Дж/см<sup>2</sup>. Далее проводили реинфузию полученной клеточной взвеси пациенту.

### Результаты исследования

В ходе исследования проводился лабораторный контроль полученной сепаратором клеточной взвеси (рис. 1).

Отмечено, что большую часть клеток полученных методикой лейкоцитафереза составляют лимфоциты –  $47,57 \pm 20,37 \times 10^9/\text{л}$ , среднюю часть – моноциты ( $31,5 \pm 18,4 \times 10^9/\text{л}$ ) и меньшая часть представлена гранулоцитами –  $2,11 \pm 0,42 \times 10^9/\text{л}$ .

У исследуемых групп пациентов с РА не выявлены статистически значимые различия в субпопуляциях Т-лимфоцитов, при этом общее число лейкоцитов оставалось в пределах нормы: в ОГ –  $6,99 \times 10^9/\text{л}$  (5,09; 8,89), в КГ –  $6,65 \pm 2,05 \times 10^9/\text{л}$  (4,6; 8,7). Отмечается увеличение количества НК-клеток и активированных Т-лимфоцитов экспрессирующих  $\alpha$ -цепь рецептора ИЛ-2 в обеих исследуемых группах пациентов по сравнению с ре-

ференсными значениями. Распределение субпопуляций Т-лимфоцитов представлено в **табл. 2**.

На фоне комплексного лечения с применением программного ЭКФ у ОГ исследуемых пациентов с РА через 3 мес отмечается статистически значимое при ( $p=0,05$ ) снижение активированных Т-лимфоцитов экспрессирующих  $\alpha$ -цепь рецептора ИЛ-2 с нарастанием данного эффекта в течение 24 мес наблюдения и нормализации данных Т-клеток до уровня нормы (3,5-12,5%) в течение 1 года терапии в сравнении с КГ пациентов получавших монотерапию БПВП (**рис. 2**).

На фоне лечения у исследуемых пациентов с РА через 3 и 6 мес отмечается снижение НК-клеток (CD3-CD16+CD56+), но статистически значимое ( $p<0,05$ ) снижение их содержания (на фоне нарастания эффекта в течение 24 мес наблюдения отмечено у пациентов ОГ получавших комплексное лечение с применением программного ЭКФ. Нормализация НК-клеток (CD3-CD16+CD56+) до уровня нормы (8–18%) отмечена в течение 12 мес лечения у пациентов ОГ в сравнении с пациентами КГ получавших монотерапию БПВП (**рис. 3**).

На фоне комплексного лечения с применением программного ЭКФ у ОГ исследуемых пациентов с РА через 3 мес отмечается статистически значимое ( $p=0,03$ ) повышение уровня Т-регуляторных клеток с фенотипом

(CD3-CD25<sup>bright</sup>CD45+) с нарастанием данного эффекта в течение 12 мес наблюдения в сравнение с пациентами КГ получавших монотерапию БПВП (**рис. 4**).

### Обсуждение результатов

Особыми механизмами, обеспечивающими поддержание периферической иммунологической толерантности к собственным антигенам, обладают популяции ТРК, очевидно, что они играют особо важную роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний, в частности РА [19]. Полученные нами данные доказывают, что применение программного ЭКФ в составе комплексного лечения РА, позволяет восстанавливать баланс Т-клеточного звена иммунитета, посредством иммуномодуляции ТРК, НК-клеток и Т-лимфоцитов, экспрессирующих  $\alpha$ -цепь рецептора ИЛ-2.

Так Sakaguchi и коллеги в экспериментальных исследованиях показали, что удаление ТРК приводит к экспансии Т-эффекторов с последующими иммунными нарушениями в системе иммунитета [20]. Полученные нами данные сопоставимы с результатами опубликованными С. Sorraud и др., которые установили, что применение ЭКФ в комплексном лечении РА уменьшает содержание активированных Т-лимфоцитов, увеличивает количество ТРК в периферической крови и значимо снижает

Таблица 2 / Table 2

**Параметры субпопуляционного состава лимфоцитов у исследуемых групп пациентов**  
**Parameters of subpopulation composition of lymphocytes in the studied groups of patients**

Показатель, $\times 10^9/л$ (Indicator, $\times 10^9/l$ )	Норма (Norma)	ОГ (Experiment)	КГ (Control)	$p^1$
Т-лимфоциты (CD3+) T-lymphocytes (CD3+)	0,8-2,2	3,14 $\pm$ 0,18	3,05 $\pm$ 0,15	0,09
Т-хелперы (CD3+CD4+) T-helpers (CD3+CD4+)	0,5-1,2	0,57 $\pm$ 0,08	0,59 $\pm$ 0,03	0,1
Цитотоксические лимфоциты (CD3+CD8+) Cytotoxic lymphocytes (CD3+CD8+)	0,3-0,9	0,34 $\pm$ 0,05	0,37 $\pm$ 0,06	0,05
Т-киллеры (CD3+CD16+CD56+) T-killers (CD3+CD16+CD56+)	0,03-0,25	0,15 $\pm$ 0,0003	0,01 $\pm$ 0,004	0,25
НК-клетки (CD3-CD16+CD56+)	0,12-0,4	0,54 $\pm$ 0,03	0,49 $\pm$ 0,04	0,09
НК-клетки, экспрессирующие $\alpha$ -цепь антигена CD8 (CD3-CD8+) NK cells expressing the $\alpha$ -chain of CD8 antigen (CD3-CD8+)	0,06-0,28	0,27 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,03	0,18
Активированные Т-лимфоциты CD3+HLA-DR+ Activated T-lymphocytes CD3+HLA-DR+	0,02-0,3	0,17 $\pm$ 0,04	0,13 $\pm$ 0,06	0,12
Активированные Т-лимфоциты, экспрессирующие $\alpha$ -цепь рецептора ИЛ-2 (CD3+CD25+) Activated T-lymphocytes expressing the $\alpha$ -chain of the IL-2 receptor (CD3+CD25+)	0,06 $\pm$ 0,35	0,47 $\pm$ 0,04	0,5 $\pm$ 0,07	0,3

**Примечание.** Различия между группами статистически значимы для попарно не связанных выборок по Манну–Уитни при  $p<0,05$ .  
**Note.** Differences between groups are significant for pairwise unrelated samples according to Mann-Whitney, at  $p<0,05$ .

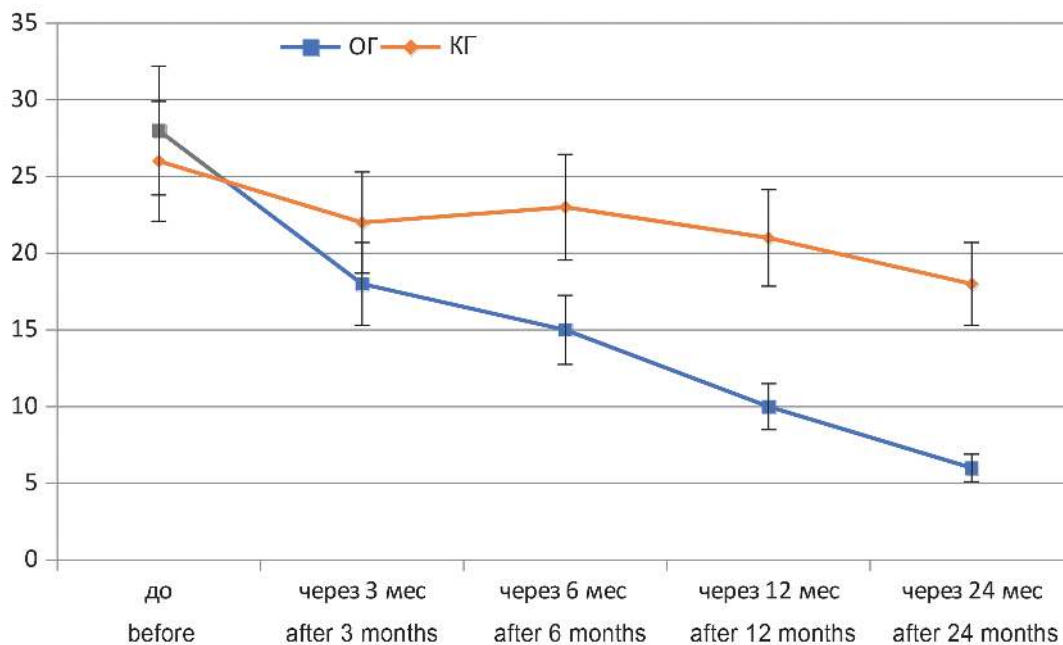


Рис. 2. Динамика активированных Т-лимфоцитов экспрессирующих α-цепь рецептора ИЛ-2 (CD3+CD25+) на фоне лечения.

Fig. 2. Dynamics of activated T-lymphocytes expressing the α-chain of the IL-2 receptor (CD3+CD25+) during treatment. Horizontally – before treatment, after 3, 6, 12, 24 months.

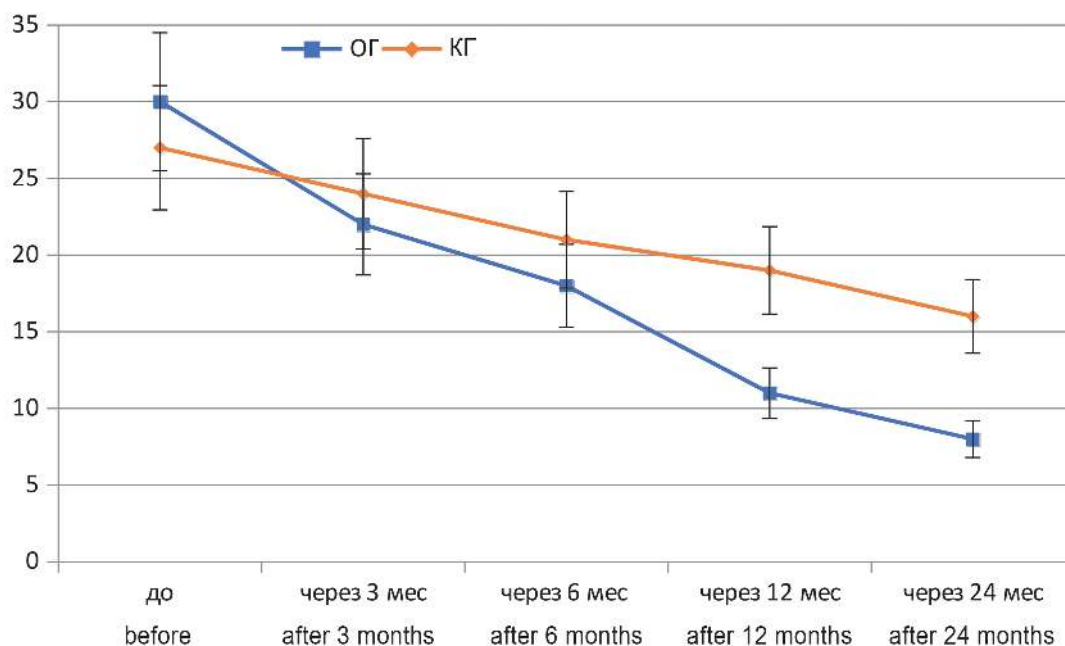
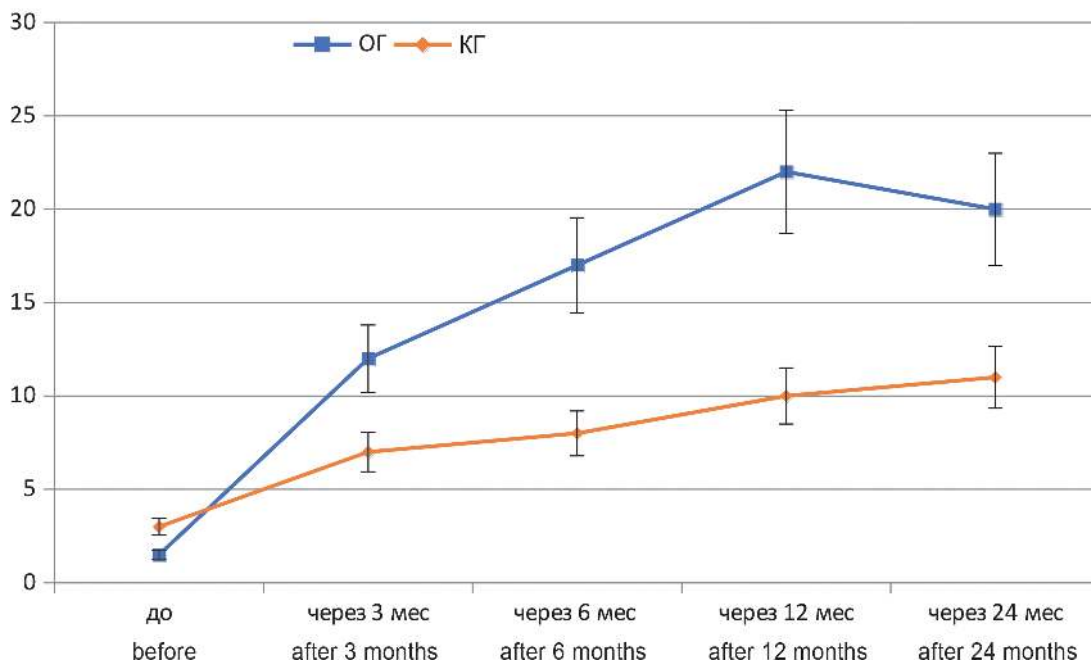


Рис. 3. Динамика НК-клеток (истинные натуральные киллеры) на фоне лечения.

Fig. 3. Dynamics of NK cells (true natural killers) during treatment.



**Рис. 4.** Динамика Т-регуляторных клеток (CD3-CD25<sup>bright</sup> CD45+), % от всех Т-хелперов на фоне лечения.

**Fig. 4.** Dynamics of T-regulatory cells (CD3-CD25<sup>bright</sup> CD45+), % of all T-helper cells during treatment.

клинико-лабораторную активность заболевания [21, 22]. Активация «провоспалительных» Т-хелперов у пациентов с аутоиммунными заболеваниями, которым выполнялась процедура ЭКФ в присутствии поляризирующих цитокинов, синтезируемых дендритными клетками и фагоцитами, ведет к усиленной дифференцировке и пролиферации ТРК, определяющих ведущую роль в восстановлении и поддержании периферической толерантности [23].

### Выводы

1. Включение программного ЭКФ, как компонента комплексного лечения РА, позволяет не только регулировать, но и купировать иммунные нарушения на уровне Т-клеточного звена иммунитета, посредством уменьшения количества и, следовательно, функциональной активности НК-клеток и Т-лимфоцитов экспрессирующих α-цепь рецептора ИЛ-2, которые обладают выраженным «провоспалительным» потенциалом.

2. Применение ЭКФ в составе комплексной противоревматической терапии пациентов с РА оказывает иммуномодуляторный эффект за счет усиления негативной регуляции всех Т-хелперов, посредством увеличения в периферической крови уровня Т-регуляторных клеток с фенотипом (CD3-CD25<sup>bright</sup>CD45+), что в свою очередь восстанавливает дисбаланс в Т-клеточ-

ной популяции и сохраняет периферическую иммуно-толерантность к собственным антигенам.

### Литература (п.п. 1-19 см. References)

14. Мануилов А., Кудрявцев И., Серебрякова М., Трулев А., Бардаков С., Апчел А. и др. Возможности биологического контроля экстракорпоральной фотохимиотерапии. *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2018; 64 (4): 123–30.
19. Москалев А., Гумилевский Б., Апчел А., Цыган В.Н. Т-лимфоциты – «цензорные» клетки иммунной системы. *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2019; 66 (2): 191–7.
22. Мануилов А., Бельских А., Бардаков С., Апчел А., Тишко В., Захаров М. и др. Возможности экстракорпорального фотофереза в комплексном лечении ревматоидного артрита. *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2019; 65 (1): 91–5.
23. Кильдюшевский А., Молочков В., Митина Т., Мойсюк Я., Молочков А. Экстракорпоральный фотоферез –неспецифический метод иммунотерапии аутоиммунных заболеваний и Т-клеточной лимфомы кожи (обзор литературы и собственные исследования). *Альманах клинической медицины*. 2019; 47 (5): 419–34.

### References

1. Smolen J., Aletaha D., Barton A., Burmester G., Emery P., Firestein G. et al. Rheumatoid arthritis. *Nat. Rev. Dis. Primers*. 2018. № 18001. DOI:10.1038/nrdp.2018.1
2. Harris E. Rheumatoid arthritis. Pathophysiology and implications for therapy. *N. Engl. J. Med.* 1990; 322: 1277–89. DOI: 10.1056/NEJM199005033221805



3. Taniguchi M., Harada M., Kojo S., Nakayama T., Wakao H. The regulatory role of Valpha 14 NKT cells in innate and acquired immune response. *Ann. Rev. Immunol.* 2003; 21: 483–513. DOI:10.1146/annurev.immunol.21.120601.141057
4. Jimeno R., Gomariz R., Garin M., Gutierrez-Canas I., Gonzalez-Alvaro I., Juarranz Y. The pathogenic Th profile of human activated memory Th cells in early rheumatoid arthritis can be modulated by VIP. *J. Mol. Med. (Berl)*. 2015; 93: 457–67. DOI:10.1007/s00109-014-1232-4
5. 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. DOI:10.1007/s00296-010-1710-0
6. Koguchi Y., Buenafe A., Thauland T., Gardell J., Bivins-Smith E., Jacoby D. et al. Preformed CD40L is stored in Th1, Th2, Th17, and T follicular helper cells as well as CD4+ CD8- thymocytes and invariant NKT cells but not in Treg cells. *PLoS ONE*. 2012; 7: e31296. DOI:10.1371/journal.pone.0031296
7. Dardalhon V., Korn T., Kuchroo V., Anderson A. Role of Th1 and Th17 cells in organ-specific autoimmunity. *J. Autoimmun.* 2008; 31: 252–6. DOI:10.1016/j.jaut.2008.04.017
8. Guggino G., Giardina A., Ferrante A., Giardina G., Schinocca C., Sireci G. et al. The in vitro addition of methotrexate and/or methylprednisolone determines peripheral reduction in Th17 and expansion of conventional Treg and of IL-10 producing Th17 lymphocytes in patients with early rheumatoid arthritis. *Rheumatol. Int.* 2015; 35: 171–5. DOI:10.1007/s00296-014-3030-2
9. Steinman L. A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nat. Med.* 2007; 13: 139–45. DOI:10.1038/nm1551
10. Valencia X., Stephens G., Goldbach-Mansky R., Wilson M., Shevach E., Lipsky P. TNF downmodulates the function of human CD4+CD25<sup>high</sup> T-regulatory cells. *Blood*. 2006; 108: 253–61. DOI:10.1182/blood-2005-11-4567
11. Padmanabhan A., Connelly-Smith L., Aqui N., Balogun R., Klingel R., Meyer E. et al. Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice—evidence-based approach from the writing Committee of the American society for apheresis: the Eighth special issue. *J. Clin. Apher.* 2019; 34: 171–354. DOI:10.1002/jca.21705
12. Kuzmina Z., Stroncek D., Pavletic S. Extracorporeal photopheresis as a therapy for autoimmune diseases. *J. Clin. Apher.* 2015; 30 (4): 224–37. DOI:10.1002/jca.21367
13. Ward M. Extracorporeal Photopheresis: How, When, and Why. *J. Clin. Apher.* 2011; 26 (5): 276–85. DOI:10.1002/jca.20300
14. Manuilov A., Kudryavtsev I., Serebryakova M., Trulev A., Bardakov S., Apchel A. et al. Possibilities of biological control of extracorporeal photochemotherapy. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2018; 64(4): 123–30. (In Russian)
15. Voss C., Fry T., Coppes M., Blajchman M. Extending the horizon for cell-based immunotherapy by understanding the mechanisms of action of photopheresis. *Transfus. Med. Rev.* 2010; 24 (1): 22–32. DOI:10.1016/j.tmr.2009.09.008
16. Knobler R, Arenberger P, Arun A., Assaf C, Bagot M., Berlin G. et al. European dermatology forum – updated guidelines on the use of extracorporeal photopheresis 2020 – part 1. *JEADV*. 2020; 34 (1): 2693–716. DOI:10.1111/jdv.16890
17. Heshmati F. Mechanisms of action of extracorporeal photochemotherapy. *Transfus. Apher.* 2003; 29: 61–70. DOI:10.1016/S1473-0502(03)00103-4
18. Felson D. American College of Rheumatology / European League Against Rheumatism provisional definition of remission in rheumatoid arthritis for clinical trials. *Ann. Rheum. Dis.* 2011; 70 (3): 404–13. DOI:10.1136/ок.2011.149765
19. Moskalev A., Gumilevsky B., Apchel A., Tsygan V. T-lymphocytes are the “censor” cells of the immune system. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2019; 66(2): 191–7. (In Russian)
20. Sakaguchi S., Miyara M., Costantino C., Hafler D. FOXP3+ regulatory T cells in the human immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2010; 10 (7): 490–500. DOI: 10.1038/nri2785
21. Coppard C., Bonnefoy F., Hannani D. Photopheresis efficacy in the treatment of rheumatoid arthritis: a pre-clinical proof of concept. *J. Transl. Med.* 2019; 17 (1): 312. DOI:10.1186/s12967-019-2066-1
22. Manuilov A., Belskikh A., Bardakov S., Apchel A., Tishko V.V., Zakharov M.V. Possibilities of extracorporeal photopheresis in the complex treatment of rheumatoid arthritis. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2019; 65(1): 91–5. (In Russian)
23. Kil'dyushevskiy A., Molochkov V., Mitina T., Moysyuk Ya., Molochkov A. Extracorporeal photopheresis as a non-specific immune therapy of autoimmune diseases and skin T-cell lymphoma (a review of the literature and own studies). *Almanac of Clinical Medicine*. 2019; 47 (5): 419–34. DOI:10.18786/2072-0505-2019-47-061. (In Russian)

#### Сведения об авторах:

**Мануилов Андрей Сергеевич**, старший ординатор клиники нефрологии и эфферентной терапии ФГБОУ ВО «ВМА им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург;

**Бельских Андрей Николаевич**, доктор мед. наук, профессор, член-корр. РАН, зав. кафедрой нефрологии и эфферентной терапии ФГБОУ ВО «ВМА им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург;

**Бардаков Сергей Николаевич**, канд. мед. наук, преподаватель кафедры нефрологии и эфферентной терапии ФГБОУ ВО «ВМА им. С.М. Кирова» С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург;

**Жекалов Андрей Николаевич**, доктор мед. наук, ст. науч. сотр. НИЛ (клеточных технологий) НИО (медико-биологических исследований) НИЦ ФГБОУ ВО «ВМА им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург;

**Тишко Валерий Владимирович**, доктор мед. наук, доцент, зам. начальника кафедры факультетской терапии ФГБОУ ВО «ВМА им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург;

**Никитин Владимир Юрьевич**, доктор мед. наук, заведующий иммунологической лабораторией ФГБОУ ВО «ВМА им. С.М. Кирова» С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург;

**Кудрявцев Игорь Владимирович**, канд. биол. наук, зав. лаб. клеточной иммунологии отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург;

**Серебрякова Мария Константиновна**, науч. сотр. отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург.