

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ НА ПАРАМЕТРЫ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ К TNF У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Альшевская А.А.,
Жукова Ю.В.,
Лопатникова Ю.А.,
Киреев Ф.Д.,
Шкаруба Н.С.,
Чумасова О.А.,
Шевченко Ю.А.,
Ильина Н.А.,
Сизиков А.Э.,
Сенников С.В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский
институт фундаментальной
и клинической иммунологии»
(630099, г. Новосибирск,
ул. Ядринцевская, 14, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Альшевская Алина Анатольевна,
e-mail: alkkina@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Баланс экспрессии рецепторов к фактору некроза опухоли (TNF, tumor necrosis factor) на иммунных клетках является ключевым фактором, определяющим активацию под действием цитокина проапоптотических или пролиферативных сигнальных путей. Благодаря этому изменение уровня цитокина и экспрессии его рецепторов может являться одним из механизмов, регулирующих уровень системного и локального воспаления при ревматоидном артрите (РА) и обуславливающих степень эффективности терапии.

Цель исследования. Изучить влияние терапии ревматоидного артрита на изменение паттернов экспрессии рецепторов к TNF по показателям ко-экспрессии и количества рецепторов на основных субпопуляциях иммунокомпетентных клеток.

Методы. Был проведен сравнительный анализ профилей ко-экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF (TNFR1/2) у пациентов с РА (n = 16) до и после прохождения курса эффективной терапии в стационаре и в сравнении с группой здоровых доноров (n = 21). Проводилось сопоставление показателей количества рецепторов и доли клеток, экспрессирующих соответствующий рецептор, с помощью проточной цитометрии. Исследовались субпопуляции Т-регуляторных клеток, Т-клеток, В-клеток и моноцитов.

Результаты. При РА происходит значимое перераспределение экспрессии TNFR1 и TNFR2 на иммунокомпетентных клетках; при этом выраженность изменений ассоциирована не только с показателями тяжести заболевания, но и с получаемой терапией. Ключевым адаптационным механизмом системы TNF при длительном рефрактерном к терапии течении РА является изменение доли дубль-позитивных TNFR1+TNFR2+ клеток, в то время как эффективность терапии и клинические показатели тяжести заболевания связаны с индивидуальной вариативностью в параметрах экспрессии рецепторов 2-го типа.

Заключение. Полученные данные подтверждают наличие взаимосвязи между дисбалансом экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF на иммунокомпетентных клетках и эффективностью ответа на терапию. Выявленные паттерны типичных изменений в ко-экспрессии TNFR1/2 при РА могут быть использованы в качестве потенциальных терапевтических мишеней и факторов прогноза эффективности терапии.

Ключевые слова: фактор некроза опухолей, рецепторы, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, моноциты, макрофаги, ревматоидный артрит, ритуксимаб, глюкокортикостероиды

Для цитирования: Альшевская А.А., Жукова Ю.В., Лопатникова Ю.А., Киреев Ф.Д., Шкаруба Н.С., Чумасова О.А., Шевченко Ю.А., Ильина Н.А., Сизиков А.Э., Сенников С.В. Влияние различных типов иммуносупрессивной терапии на параметры экспрессии рецепторов к TNF у пациентов с ревматоидным артритом. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 154-166. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.17

Статья поступила: 03.06.2022

Статья принята: 14.09.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

EFFECT OF DIFFERENT TYPES OF IMMUNOSUPPRESSIVE THERAPY ON THE PARAMETERS OF TNF RECEPTOR EXPRESSION IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

Alshevskaya A.A.,
Zhukova J.V.,
Lopatnikova J.A.,
Kireev F.D.,
Shkaruba N.S.,
Chumasova O.A.,
Shevchenko J.A.,
Ilina N.A.,
Sizikov A.E.,
Sennikov S.V.

Research Institute of Fundamental
and Clinical Immunology
(Yadrintsevskaya str. 14, Novosibirsk
630099, Russian Federation)

Corresponding author:
Alina A. Alshevskaya,
e-mail: alkkina@yandex.ru

ABSTRACT

Background. The balance of TNF receptor expression on immune cells is a key factor determining cytokine-induced activation of proapoptotic or proliferative signaling pathways. As a result, the changes in cytokine level and in expression of its receptors may be one of the mechanisms that regulate the level of systemic and local inflammation in rheumatoid arthritis (RA) and determine the degree of therapy effectiveness. **The aim.** To study the effect of rheumatoid arthritis therapy on the change in the patterns of TNF receptors expression in terms of co-expression and the number of receptors on the main subpopulations of immunocompetent cells.

Materials and methods. A comparative analysis of the profiles of TNF receptors type 1 and 2 (TNFR1/2) co-expression was carried out in patients with RA (n = 16) before and after having inpatient effective therapy and in comparison with a group of healthy individuals (n = 21). We compared the number of receptors and the proportion of cells expressing the corresponding receptor using flow cytometry and studied the subpopulations of regulatory T cells, T cells, B cells, and monocytes.

Results. In patients with RA, there is a significant redistribution of TNFR1 and TNFR2 expression on immunocompetent cells, while the intensity of changes is associated not only with disease severity indicators, but also with the therapy received. The key adaptive mechanism of the TNF system in long-term treatment refractory course of RA is a change in the proportion of double-positive TNFR1+TNFR2+ cells, while the effectiveness of therapy and clinical indicators of the disease severity are associated with individual variability in the parameters of type 2 receptors expression.

Conclusions. The data obtained confirm the existence of a relationship between an imbalance in the expression of type 1 and type 2 TNF receptors on immunocompetent cells and the effectiveness of response to therapy. The identified patterns of typical changes in TNFR1/2 co-expression in RA can be used as potential therapeutic targets and predictive factors for the effectiveness of therapy.

Key world: tumor necrosis factor, receptors, T lymphocytes, B lymphocytes, monocytes, macrophages, rheumatoid arthritis, rituximab, glucocorticoids

For citation: Alshevskaya A.A., Zhukova J.V., Lopatnikova J.A., Kireev F.D., Shkaruba N.S., Chumasova O.A., Shevchenko J.A., Ilina N.A., Sizikov A.E., Sennikov S.V. Effect of different types of immunosuppressive therapy on the parameters of TNF receptor expression in patients with rheumatoid arthritis. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 154-166. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.17

Received: 03.06.2022
Accepted: 14.09.2022
Published: 08.12.2022

ВВЕДЕНИЕ

Фактор некроза опухоли (TNF, tumor necrosis factor) – плейотропный цитокин, который регулирует сигнальные пути выживания клеток, пролиферации и метаболические процессы и является ключевым медиатором и регулятором иммунных реакций в норме и при патологии. Основная биологическая роль TNF заключается в защите хозяина от бактериальных, вирусных и паразитарных инфекций, однако физиологически он важен для нормального ответа на инфекцию, и, соответственно, нарушение в сети регуляции данного цитокина может приводить к серьёзным патологическим изменениям в организме. На клеточном уровне несколько сотен генов регулируются (индуцируются или подавляются) с помощью TNF в зависимости от типа клеток [1]. Функциональная активность TNF реализуется через связывание с двумя типами мембраносвязанных рецепторов. Данные рецепторы по-разному экспрессируются в клетках и тканях и инициируют как различные, так и перекрывающиеся пути передачи сигнала. Эти разнообразные сигнальные каскады приводят к ряду клеточных ответов, которые включают гибель клеток, выживание, дифференцировку, пролиферацию и миграцию [2]. Пути передачи сигнала TNF сложны и до конца не изучены. Несмотря на то, что регуляция фактора транскрипции NF-κB является ключевым компонентом передачи сигнала TNF, точные данные обо всех молекулах и вариантах путей к настоящему моменту отсутствуют [3]. Предполагают, что провоспалительные и апоптотические пути гибели клеток, которые активируются TNF и связаны с повреждением тканей, в значительной степени опосредованы через TNFR1 [4]. При этом эффекты передачи сигналов через TNFR2 менее хорошо охарактеризованы, хотя было показано, что TNFR2 опосредует локальные гомеостатические эффекты, и его активация способствует восстановлению тканей и ангиогенезу [5, 6].

Экспрессия мембраносвязанных рецепторов отличается и может по-разному регулироваться на отдельных субпопуляциях иммунокомпетентных клеток. При этом регуляция экспрессии мембраносвязанных рецепторов TNF является результатом изменений скорости синтеза и шеддинга рецепторов, а также может активно меняться под воздействием стимулов, таких как концентрация окружающих цитокинов и микроокружение клеток [5, 6].

Показано участие TNF в патогенезе различных воспалительных, инфекционных и злокачественных заболеваний [1, 7]. Важность TNF в развитии воспалительных реакций была дополнительно подтверждена после начала применения терапии с помощью блокаторов и антагонистов TNF и введения синтетических растворимых рецепторов, блокирующих его эффекты [8]. Одним из заболеваний, в котором терапевтические стратегии, направленные на подавление TNF, продемонстрировали высокую эффективность, является ревматоидный артрит [9]. Ревматоидный артрит (РА) представляет собой хроническое аутоиммунное воспалительное заболевание, связанное с накоплением Т-клеток, макрофагов, а также В-клеток, плазматических клеток и дендритных клеток с активной продукцией провоспалительных цитокинов,

включая IL-1, IL-6, TNF и GM-CSF в воспалённом суставе [2, 9]. TNF-α является ключевым фактором, провоцирующим синовиальное воспаление, у 50–70 % пациентов с ревматоидным артритом (РА) [10].

К настоящему моменту известно, что рецепторы к цитокинам представляют собой важный фактор, участвующий в регуляции биологических эффектов иммунорегуляторных медиаторов. При этом значение имеет как количество клеток, которые экспрессируют специфические рецепторы, так и количество самих молекул рецепторов на мембране клеток-мишеней [11]. Уровень экспрессии мембраносвязанных рецепторов может существенно влиять на дифференцировку, пролиферацию и апоптоз клеточных популяций [12]. Однако на данный момент до конца не решён ряд фундаментальных вопросов и задач о влиянии распределения рецепторов разных типов внутри субпопуляции на функциональную активность клеток и о возможностях переключения между различными сигнальными путями за счёт изменения плотности экспрессии рецепторов. Также остаётся неизученным вопрос о наличии и природе взаимосвязей между проводимой терапией и её эффективностью с изменениями показателей экспрессии рецепторов как ключевого фактора, регулирующего воздействие цитокина на клетки.

Целью данного исследования было изучить влияние эффективной терапии ревматоидного артрита на изменение паттернов экспрессии рецепторов к TNF по показателям ко-экспрессии и количества рецепторов на основных субпопуляциях иммунокомпетентных клеток.

МЕТОДЫ

Получение материала от пациентов с ревматоидным артритом

Для оценки уровня ко-экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF-α использовали периферическую кровь больных РА, проходящих лечение в Клинике иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ). Все пациенты дали информированное согласие на участие в исследовании и использование персональных данных. Протокол исследования был утверждён локальным этическим комитетом НИИФКИ (№ 131 от 12.05.2021). В исследование включены 16 пациентов с РА, разделённых на группы по типу терапии: группа пациентов, которые прошли в стационаре курс терапии генно-инженерными биологическими препаратами (ГИБП), и группа пациентов, получавших терапию метилпреднизалоном. Критериями включения в исследование были снижение активности заболевания по DAS28 (Disease Activity Score 28) не менее чем на 0,6 балла (умеренное или значительное улучшение) за время госпитализации и монотерапия в условиях стационара. В качестве контрольной группы были использованы данные по 21 условно здоровому донору. Они были сопоставимы с пациентами, включёнными в исследование, по полу ($p > 0,999$) и возрасту ($p = 0,751$). Демографические и клинические характеристики включённых в исследование

пациентов и здоровых доноров контрольной группы представлены в таблице 1. Пациенты с РА для оценки ко-экспрессии рецепторов к TNF были дополнительно разделены на две подгруппы по типу проводимой терапии: первая подгруппа пациентов (подгруппа RIT; $n = 8$) получала ГИБП ритуксимаб; во вторую подгруппу вошли пациенты, которым была назначена терапия глюкокортикоидами (метилпреднизолоном) в связи с недостаточной предшествующей эффективностью любого ГИБП или невозможностью назначения ГИБП в текущую госпитализацию (подгруппа PN; $n = 8$). В подгруппе PN преобладали пациенты с более высокой тяжестью заболевания в связи с рефрактерным к стандартной терапии течением РА; количество пациентов с высокой активностью заболевания по DAS28 среди них составляло 7 (87,5 %) человек против 2 (25 %) в подгруппе RIT ($p = 0,041$). До поступления в стационар все пациенты получали длительную базисную терапию (более 6 месяцев), включающую как минимум один из иммуносупрессантов (метотрекат (9 пациентов), лефлуномид (4 пациента) или сульфасалазин (2 пациента)), а также, при тяжёлом течении, дополнительно получали метилпреднизолон (2 пациента).

**Проточная цитофлуориметрия:
пробоподготовка клеток к исследованию**

Забор крови проводился натощак из локтевой вены в стерильных условиях по 9 мл в вакуумные пробирки с антикоагулянтом K3-EDTA (3-замещенной калиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты) «Vacuette K3-EDTA» (GreinerBio-One GmbH, Австрия). Далее выполнялся общий анализ крови с подсчётом общего количества лейкоцитов и аликвотирование необходимого объёма крови, содержащего 1 млн лейкоцитов, в цитометрические пробирки.

Оценка уровня экспрессии рецепторов проводилась на Т-лимфоцитах, В-лимфоцитах, моноцитах, Т-регуляторных клетках. При пробоподготовке образцов для проведения анализа на проточном цитометре проводилось внесение десятикратно разведённого в натрий-фосфатном буфере (PBS, phosphate buffered saline) лизирующего буфера BDFACSLysingSolution (кат. номер 349202; BD, США), согласно инструкции производителя,

в десятикратном объёме по отношению к объёму пробы. Инкубация происходила в течение 15 минут при комнатной температуре. Далее вносили PBS в объёме 1 мл на пробу, центрифугировали при 1500 об./мин в течение 10 минут. Удаляли надосадочную жидкость, вносили 100 мкл PBS. Инкубацию проводили в пробирках для проточной цитометрии в PBS с человеческим IgG (ФГУП «НПО «Микроген», Россия) в конечной концентрации 3 мг/мл в течение 20 минут в темноте при комнатной температуре для блокировки Fc-рецепторов и уменьшения неспецифического связывания. Внесение моноклональных антител с флуорохромами для идентификации субпопуляций иммунокомпетентных клеток проводилось в объёме, указанном производителем для окраски 1 млн клеток. Использовались следующие антитела: anti-human CD3 APC/Cy7, anti-human CD19 PeCy7, anti-human CD14 PerCP, anti-human CD4 PeCy7, anti-human CD25 FITC, anti-human CD127 (IL-7R α) APC/Cy7. Анализ экспрессии рецепторов TNF проводили с использованием моноклональных антител: anti-human TNFR1-PE, anti-human TNFR2-PE, (R&D Systems, США), anti-human TNFR1-APC (R&D Systems, США), anti-human TNFR2-APC (R&D Systems, США).

**Проточная цитофлуориметрия:
оценка экспрессии и ко-экспрессии рецепторов
к TNF- α и оценка функциональной активности
клеток**

Оценка фенотипических характеристик проводилась методом проточной цитометрии (цитофлуориметры FACSVersе (BD, США) и Attune NxT (ThermoFisher, США)). Обработка данных и расчёт показателей интенсивности флуоресценции производились с использованием программного обеспечения FACS Diva (BD, США). Для создания калибровочной кривой и перевода значений интенсивности флуоресценции клеток, экспрессирующих соответствующий маркер, в абсолютные показатели количества рецепторов использовался набор BD QuantiBRITE PE (BD Biosciences, США). Для одновременного определения процента ко-экспрессирующих клеток и подсчёта количества рецепторов к TNF- α 1-го и 2-го типов на клетках производилось двойное мечение парных образцов. Каждый образец был разде-

**ТАБЛИЦА 1
ДЕМОГРАФИЧЕСКАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ С РА
И ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ**

Параметры	Здоровые доноры ($n = 21$)	Пациенты с РА ($n = 16$)	p
Возраст (лет), Me (IQR)	55 (45–60)	55 (45–60)	0,751
Мужчины, n (%)	4 (19 %)	3 (18,75 %)	> 0,999
Активность заболевания до лечения, n (%)			
высокая (DAS28 > 5,1)	–	9 (56,25 %)	
умеренная	–	5 (31,25 %)	–
низкая (DAS28 < 3,2)	–	2 (12,5 %)	

**TABLE 1
DEMOGRAPHIC AND CLINICAL CHARACTERISTICS
OF PATIENTS WITH RA AND HEALTHY INDIVIDUALS**

лён на две пробирки, окрашенные соответственно TNFR1-PE + TNFR2-APC или TNFR2-PE + TNFR1-APC. После цитометрического анализа количество рецепторов 1-го типа рассчитывалось в пробирках с TNFR1-PE + TNFR2-APC, а число рецепторов 2-го типа – в пробирках с TNFR2-PE + TNFR1-APC. Процент клеток, экспрессирующих 1-й или 2-й типы рецептора, в каждой фракции определялась как среднее между двумя образцами.

Статистическая обработка

Статистический анализ данных проводили с помощью программы Statistica 7.0 (StatSoft Inc., США). Для сравнения независимых выборок и расчёта статистической значимости использовался критерий Краскела – Уоллиса по рангам с многократным сравнением медианных значений (при сравнении идентичных показателей для разных субпопуляций и выявлении различий между подгруппами

испытуемых). Для оценки взаимосвязей между исследуемыми параметрами активности и тяжести заболевания и показателями ко-экспрессии рецепторов был произведён анализ корреляционных взаимосвязей с использованием коэффициента корреляций Пирсона (при $p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

При исследовании уровня экспрессии и ко-экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF- α на иммунокомпетентных клетках больных ревматоидным артритом до и после терапии в стационаре и сравнении их показателей с параметрами клеток здоровых доноров был установлен ряд значимых тенденций и ассоциаций (табл. 2). В популяции Т-лимфоцитов CD3+ у больных РА на исходном уровне обнаружено повышение ко-

ТАБЛИЦА 2

ПОКАЗАТЕЛИ ЭКСПРЕССИИ И КО-ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ НА ОСНОВНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК У ПАЦИЕНТОВ С РА ДО И ПОСЛЕ ТЕРАПИИ В СТАЦИОНАРЕ ПО СРАВНЕНИЮ СО ЗДОРОВЫМИ ДОНОРАМИ, МЕ (IQR)

TABLE 2

PARAMETERS OF RECEPTORS EXPRESSION AND CO-EXPRESSION ON THE MAIN POPULATIONS OF IMMUNOCOMPETENT CELLS IN PATIENTS WITH RA BEFORE AND AFTER INPATIENT THERAPY COMPARED WITH HEALTHY INDIVIDUALS, ME (IQR)

Популяция и параметры экспрессии	Здоровые доноры (n = 21)	Пациенты с РА, до терапии (n = 16)	Пациенты с РА, после терапии (n = 16)
CD3+ Т-клетки			
% TNFR1+ клеток	0,8 (0,2–7,2)	26 (15,5–32,4)	67 (51,1–73,1)*;#
% TNFR2+ клеток	31,4 (24,8–39,6)	48,8 (30,8–54,9)	27 (17,9–33,8)#
Число TNFR1 на клетках	830 (583–1461)	569 (495–923)	335 (270–408)*;#
Число TNFR2 на клетках	851 (684–917)	1703 (1384–2339)*	1463 (1055–1828)*
Т-регуляторные клетки			
% TNFR1+ клеток	1,8 (0,9–11,6)	31,4 (18,7–62,4)*	22,4 (17,8–44,3)*
% TNFR2+ клеток	94 (90–98,1)	88,6 (63,4–95,1)	90,4 (83–92,5)
Число TNFR1 на клетках	3032 (1205–12667)	1560 (463–3282)	270 (256–287)*;#
Число TNFR2 на клетках	1347 (1211–2638)	7484 (3336–12321)	1517 (1331–3717)#
CD19+ Т-клетки			
% TNFR1+ клеток	7,1 (4,7–24,1)	36,5 (24,5–43,9)*	67,8 (46,4–83,8)*;#
% TNFR2+ клеток	95,6 (81,3–96,3)	49 (34,9–63,6)*	14,6 (10,5–26,9)*;#
Число TNFR1 на клетках	1657 (688–2578)	852 (593–1649)	460 (303–619)*;#
Число TNFR2 на клетках	6133 (3467–7664)	2333 (1483–3321)*	1570 (1077–2610)*
Моноциты			
% TNFR1+ клеток	43,7 (21,5–50,7)	48 (31–87,3)	79,8 (62,7–91)
% TNFR2+ клеток	82,4 (70–95,5)	78,9 (61,9–91,5)	68,2 (43,9–86,3)#
Число TNFR1 на клетках	1705 (1220–2540)	1950 (1560–4806)	597 (446–628)*;#
Число TNFR2 на клетках	3539 (2430–6461)	5788 (3114–10222)	3706 (2642–4475)

Примечание. * – статистически значимые ($p < 0,05$) различия по сравнению со здоровыми донорами, тест Краскела – Уоллиса; # – статистически значимые ($p < 0,05$) различия по сравнению с пациентами до терапии, парный тест Вилкоксона.

личества молекул рецепторов 2-го типа, а после терапии регистрировались разнонаправленные эффекты на процент клеток (по повышению числа клеток с экспрессией TNFR1 и снижению числа клеток с экспрессией TNFR2). Для Т-регуляторных клеток изменения до коррекции базисной терапии обнаружены только по проценту клеток TNFR1+, а эффективная терапия с улучшением клинических симптомов оказала влияние на число рецепторов 1-го и 2-го типов, но не на количество клеток с этими рецепторами. CD19 В-лимфоциты у больных РА до терапии отличались от клеток здоровых доноров по числу клеток с экспрессией R1 и R2, причём процент TNFR1 был выше по сравнению со здоровыми, а процент TNFR2 –

ниже. Улучшение клинических симптомов после коррекции базисной терапии привело к ещё большему повышению числа TNFR1 экспрессирующих клеток и ещё более выраженному снижению процента TNFR2+ клеток, а также значимо упало число молекул рецепторов 1-го типа. Моноциты больных РА исходно не отличались от таковых у здоровых доноров, а терапия приводила к снижению процента клеток с экспрессией 2-го типа рецептора и снижению числа рецепторов 1-го типа.

Обнаруженные разнонаправленные изменения подтвердили ассоциацию системы мембраносвязанных рецепторов TNF-α как с патогенетическим процессом при РА, так и с ответом на терапию при улучшении

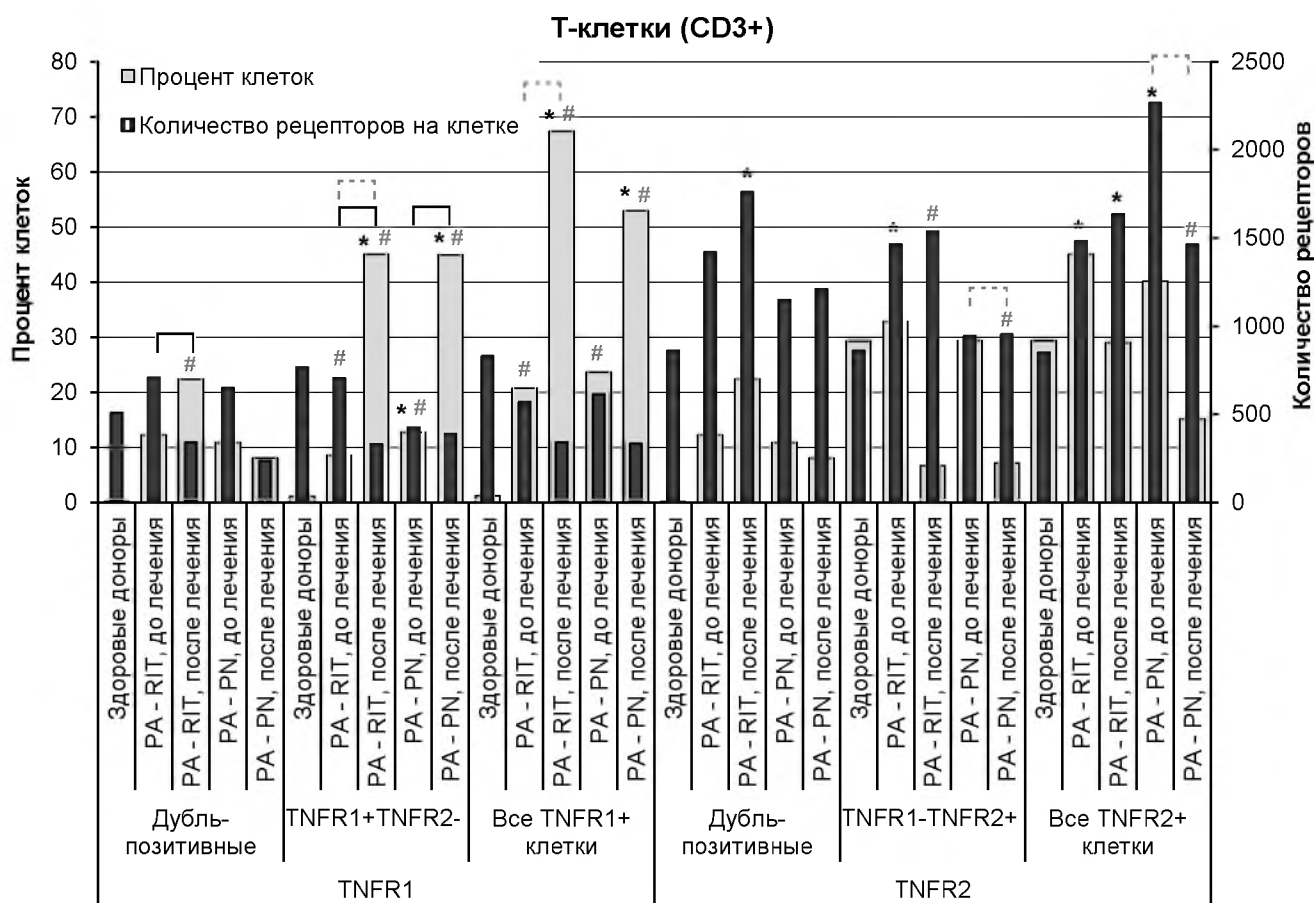


РИС. 1. Показатели уровня экспрессии и ко-экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF на Т-клетках, выделенных у пациентов с ревматоидным артритом (n = 16), до и после прохождения в стационаре курса эффективной терапии по сравнению с аналогичными показателями здоровых доноров (n = 21): сплошные линии – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям числа рецепторов до и после терапии внутри группы; пунктирные линии – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям процента клеток до и после терапии внутри группы; * – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям числа рецепторов по сравнению с показателями здоровых доноров; # – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям процента клеток по сравнению с показателями здоровых доноров

FIG. 1. Parameters of expression and co-expression of TNF type 1 and 2 receptors on T cells isolated from patients with rheumatoid arthritis (n = 16) before and after the course of inpatient effective therapy compared with healthy individuals (n = 21): solid lines – statistically significant (p < 0.05) differences of the number of receptors before and after therapy within the group; dotted lines – statistically significant (p < 0.05) differences of the cell percentage before and after therapy within the group; * – statistically significant (p < 0.05) differences of the number of receptors compared to healthy donors; # – statistically significant (p < 0.05) differences of the cell percentage compared to healthy donors

клинических симптомов. Однако ряд изменений в экспрессии рецепторов позволил предположить, что ответ на терапию может зависеть от вида проводимого лечения. На основании данного предположения группа пациентов с эффективным ответом на терапию была разделена по видам проводимого лечения на группу с терапией метилпреднизолоном и группу с терапией ГИБП ритуксимабом, который представляет из себя антитела к CD20 В-лимфоцитам. При оценке уровня экспрессии рецепторов TNF-α в данных подгруппах были получены различия как по проценту, так и по числу молекул рецепторов TNF-α (рис. 1–4).

Для общей популяции Т-лимфоцитов показаны изменения в системе рецептора 1-го типа при терапии метипреднизолоном и ритуксимабом, которые привели к снижению общего числа рецептора на клетках данной субпопуляции, при одновременном увеличении процентного содержания клеток с экспрессией TNFR1. Для популяции Т-лимфоцитов, экспрессирующих рецептор TNF 2-го типа, были обнаружены изменения только после проведенной терапии метипреднизолоном в относительном количестве клеток с экспрессией рецепторов данного типа. В целом больные РА характеризовались большим уровнем содержания

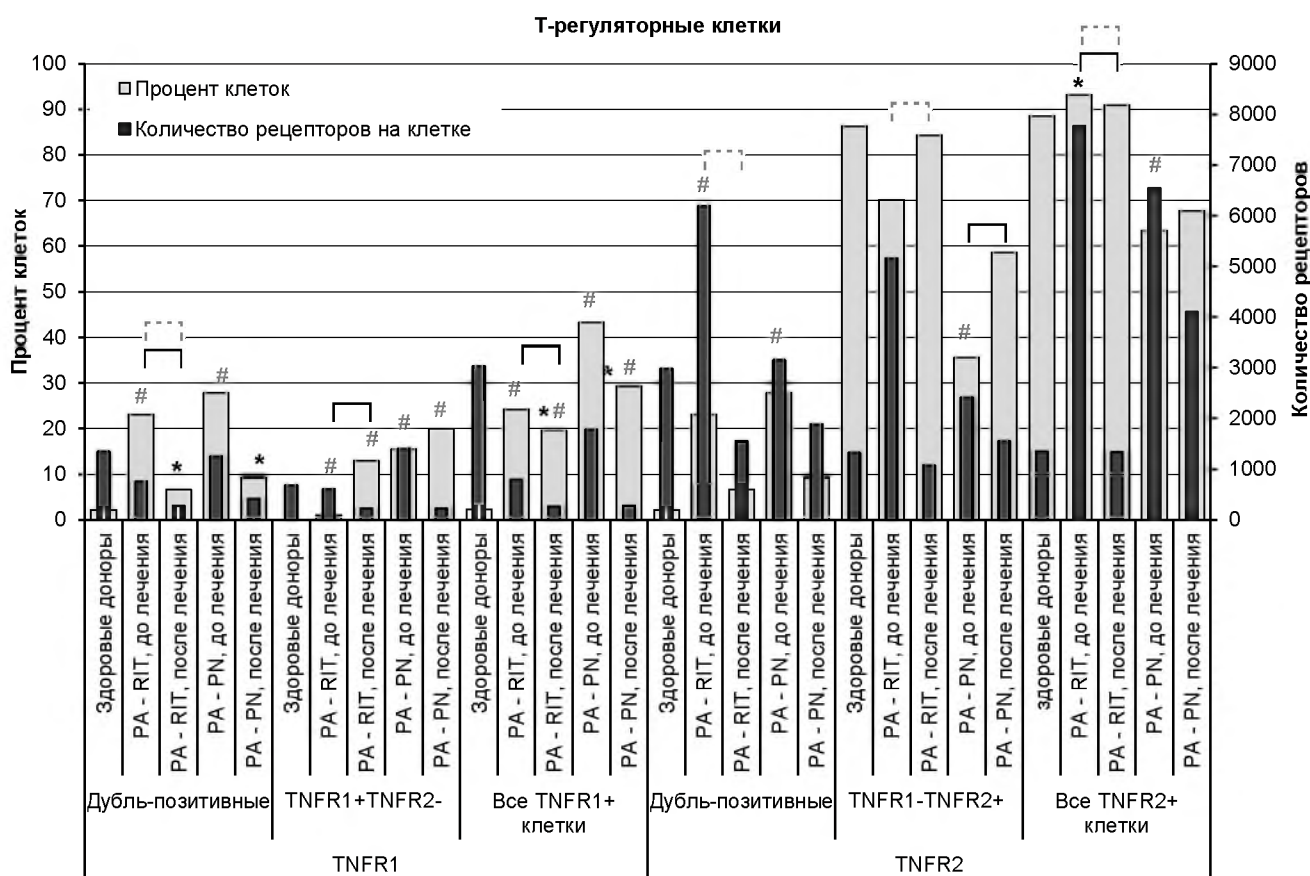


РИС. 2.

Показатели уровня экспрессии и ко-экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF на Т-регуляторных клетках, выделенных у пациентов с ревматоидным артритом (n = 16), до и после прохождения в стационаре курса эффективной терапии по сравнению с аналогичными показателями здоровых доноров (n = 21): сплошные линии – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям числа рецепторов до и после терапии внутри группы; пунктирные линии – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям процента клеток до и после терапии внутри группы; * – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям числа рецепторов по сравнению с показателями здоровых доноров; # – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям процента клеток по сравнению с показателями здоровых доноров

FIG. 2.

Parameters of expression and co-expression of TNF type 1 and 2 receptors on regulatory T cells isolated from patients with rheumatoid arthritis (n = 16) before and after the course of inpatient effective therapy compared with similar indicators of healthy individuals (n = 21): solid lines – statistically significant (p < 0.05) differences of the number of receptors before and after therapy within the group; dotted lines – statistically significant (p < 0.05) differences of the cell percentage before and after therapy within the group; * – statistically significant (p < 0.05) differences of the number of receptors compared to healthy donors; # – statistically significant (p < 0.05) differences of the cell percentage compared to healthy donors

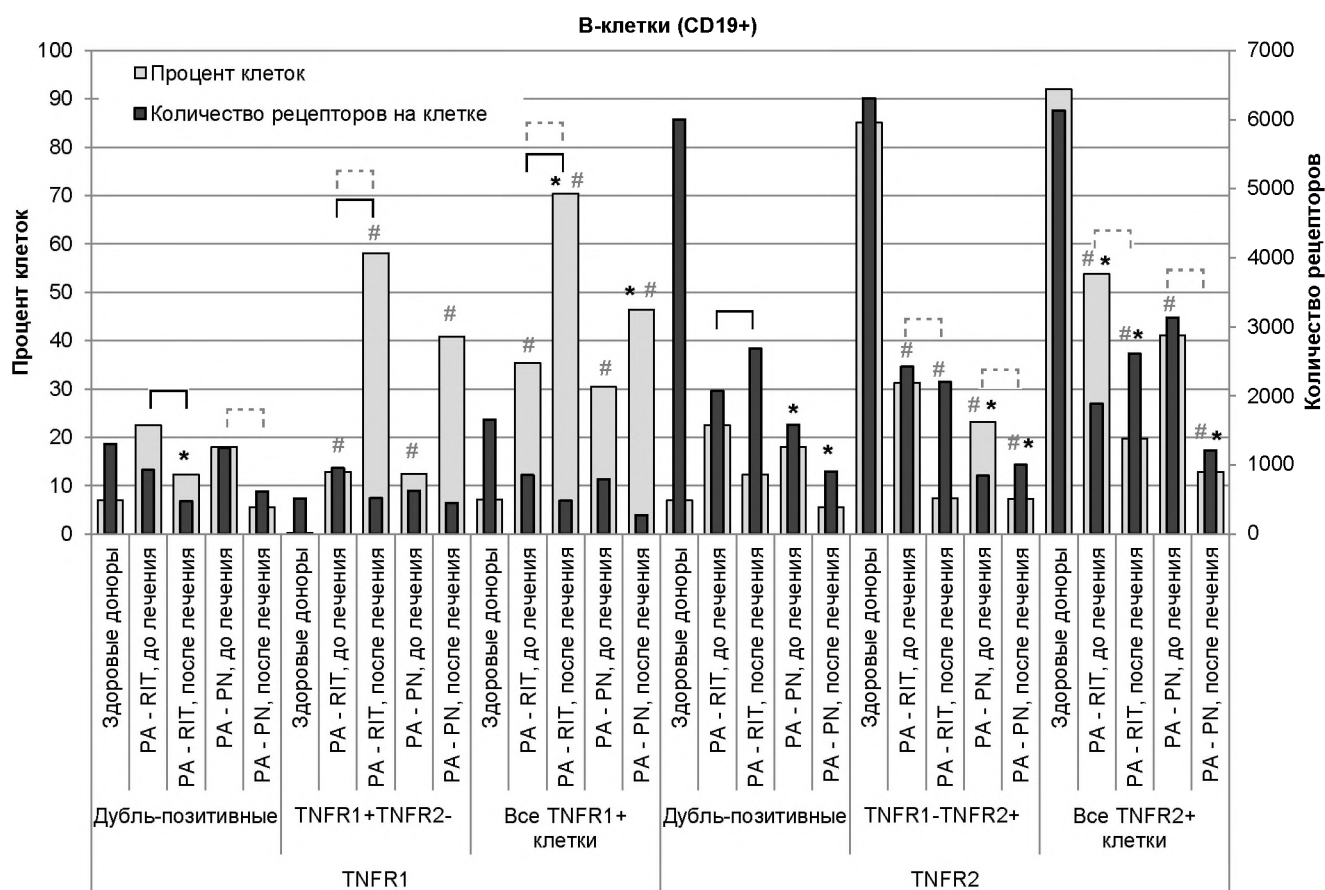


РИС. 3.

Показатели уровня экспрессии и ко-экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF на В-клетках, выделенных у пациентов с ревматоидным артритом (n = 16), до и после прохождения в стационаре курса эффективной терапии по сравнению с аналогичными показателями здоровых доноров (n = 21): сплошные линии – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям числа рецепторов до и после терапии внутри группы; пунктирные линии – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям процента клеток до и после терапии внутри группы; * – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям числа рецепторов по сравнению с показателями здоровых доноров; # – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям процента клеток по сравнению с показателями здоровых доноров

клеток с экспрессией рецептора TNF 1-го типа на клетках данной субпопуляции.

Для Т-регуляторных клеток по процентному содержанию клеток, экспрессирующих рецепторы к TNF-α, после терапии был продемонстрирован общий тренд на снижение всех фракций TNFR1+ и TNFR2+ как по процентному содержанию, так и по числу экспрессируемых молекул рецепторов на мембранах Т-регуляторных клеток. Также показано, что все пациенты с РА имели более высокий процент клеток, экспрессирующих рецептор TNF 1-го типа, по сравнению со здоровыми донорами.

FIG. 3.

Parameters of expression and co-expression of TNF type 1 and 2 receptors on B cells isolated from patients with rheumatoid arthritis (n = 16) before and after the course of inpatient effective therapy compared with similar indicators of healthy individuals (n = 21): solid lines – statistically significant (p < 0.05) differences of the number of receptors before and after therapy within the group; dotted lines – statistically significant (p < 0.05) differences of the cell percentage before and after therapy within the group; * – statistically significant (p < 0.05) differences of the number of receptors compared to healthy donors; # – statistically significant (p < 0.05) differences of the cell percentage compared to healthy donors

Популяция В-лимфоцитов на фоне проводимой терапии ревматоидного артрита также показала статистически значимые изменения в системе мембраносвязанных рецепторов TNF. Так, общей тенденцией для обоих видов проводимого лечения было повышение процентного содержания клеток, экспрессирующих TNFR1, и снижение процента клеток, экспрессирующих TNFR2. При этом эффективная терапия ритуксимабом также привела к статистически значимому снижению числа рецепторов TNF 1-го типа, а терапия метилпреднизолоном – к тенденции по снижению числа рецепторов 2-го типа на В-лимфоцитах. Интересным представляется то,

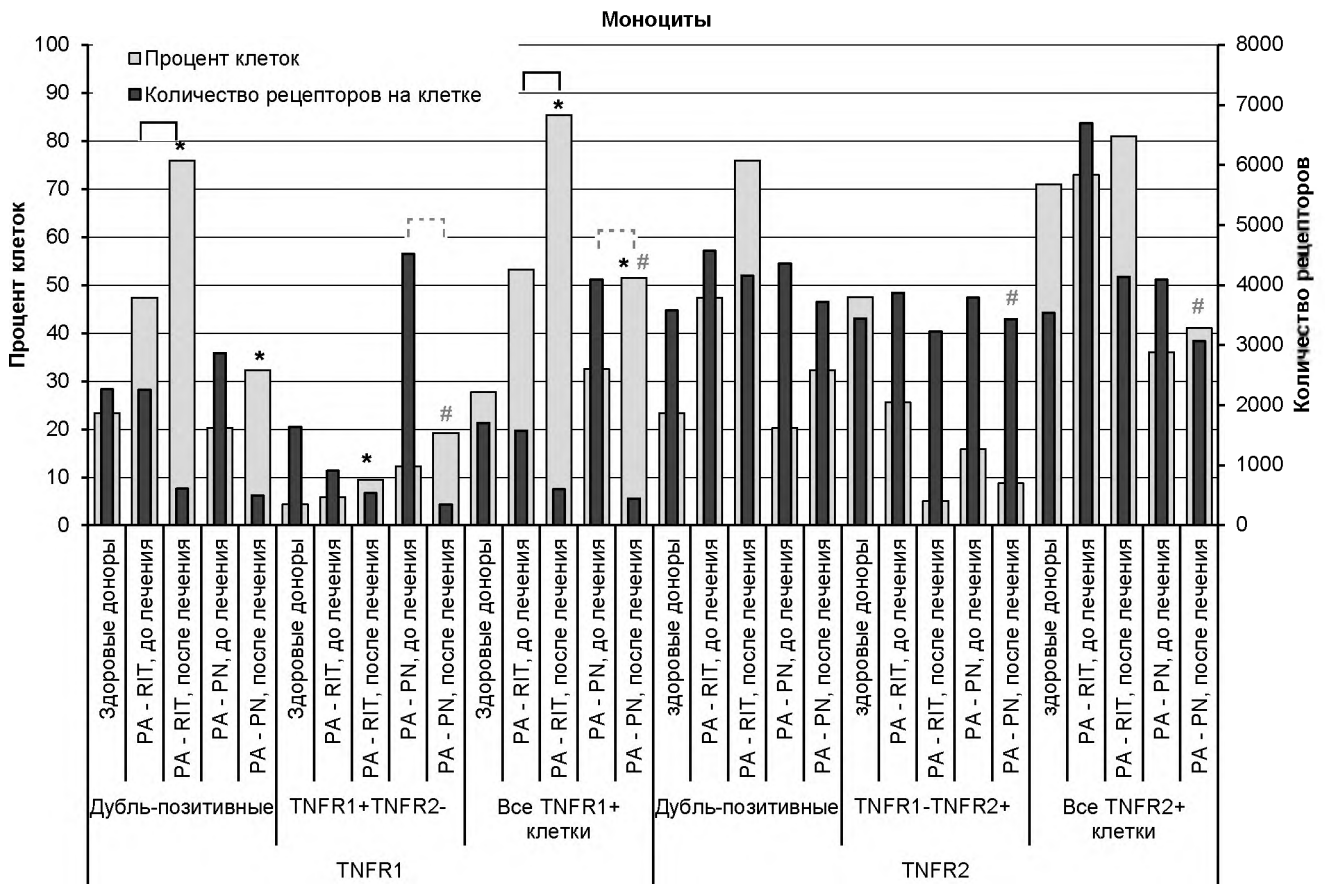


РИС. 4.

Показатели уровня экспрессии и ко-экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF на моноцитах, выделенных у пациентов с ревматоидным артритом (n = 16), до и после прохождения в стационаре курса эффективной терапии по сравнению с аналогичными показателями здоровых доноров (n = 21): сплошные линии – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям числа рецепторов до и после терапии внутри группы; пунктирные линии – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям процента клеток до и после терапии внутри группы; * – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям числа рецепторов по сравнению с показателями здоровых доноров; # – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям процента клеток по сравнению с показателями здоровых доноров

что популяция дубль-позитивных клеток, экспрессирующих оба типа рецептора TNF, показала отличия от общих показателей экспрессии рецепторов. Для рецептора 1-го типа в этой популяции терапия ритуксимабом приводила к снижению числа рецепторов, терапия преднизолоном – к снижению процентного содержания клеток; для 2-го типа рецептора в дубль-позитивной популяции терапия ритуксимабом привела к увеличению числа молекул рецепторов TNFR2.

По показателям экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF-α на моноцитах наблюдалась общая тенденция к увеличению процента клеток, экспрессиру-

FIG. 4.

Parameters of expression and co-expression of TNF type 1 and 2 receptors on monocytes isolated from patients with rheumatoid arthritis (n = 16) before and after the course of inpatient effective therapy compared with similar indicators of healthy individuals (n = 21): solid lines – statistically significant (p < 0.05) differences of the number of receptors before and after therapy within the group; dotted lines – statistically significant (p < 0.05) differences of the cell percentage before and after therapy within the group; * – statistically significant (p < 0.05) differences of the number of receptors compared to healthy donors; # – statistically significant (p < 0.05) differences of the cell percentage compared to healthy donors

ющих 1-й и 2-й типы рецептора, после проводимой терапии, за исключением показателя общего количества клеток, экспрессирующих TNFR2. При этом по плотности экспрессии рецепторов оба вида терапии приводили к статистически значимому снижению количества TNFR1 на моноцитах и тенденции к снижению уровня экспрессии TNFR2. При этом изменения после терапии были более выраженными для группы, получавшей ритуксимаб, что может быть связано с изначально более высоким уровнем экспрессии рецепторов в ней.

При исследовании ассоциаций между параметрами экспрессии и ко-экспрессии рецепторов и пока-

зателями тяжести заболевания в общей группе пациентов с РА было установлено, что активность заболевания по DAS28 ассоциирована с числом рецепторов 1-го типа на CD14-клетках ($r = 0,66$; $p = 0,005$) и процентом дубль-позитивных клеток среди В-лимфоцитов ($r = -0,49$; $p = 0,05$). Рентгенологическая стадия заболевания была ассоциирована как с числом рецепторов 2-го типа на В-лимфоцитах ($r = -0,48$; $p = 0,05$), так и с числом рецепторов 1-го типа на них же ($r = -0,67$; $p = 0,024$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные подтверждают ранее предложенную нами гипотезу о роли баланса в экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF α в формировании ответа на цитокин в норме и при иммунопатологических процессах. Выявленные изменения в паттернах экспрессии рецепторов TNFR1 и TNFR2 обуславливают различия в изменении реакций клеток на медиатор при ревматоидном артрите, в том числе и при назначении и коррекции базовой терапии, что приводит к различиям в профилях индивидуальной эффективности и безопасности препаратов. Данные изменения не только обусловлены отличиями в показателях общего числа клеток, экспрессирующих рецепторы к иммуномодулирующим факторам, но и в значительной мере зависят от параметров одновременной экспрессии рецепторов разных типов и показателей плотности экспрессии рецепторов, то есть от количества молекул рецепторов, которые будут формировать ответ отдельных субпопуляций. Исследование продемонстрировало актуальность оценки экспрессии рецепторов на дубль-позитивных TNFR1+TNFR2+ клетках для прогнозирования характера и типа реагирования клеток на медиатор, что выражается в ассоциированности как с показателями активности и тяжести заболевания до проводимой в стационаре терапии, так и с уровнем ответа на терапию и эффективностью снижения высокой активности заболевания при терапии генно-инженерными биологическими препаратами.

При ревматоидном артрите как хроническом системном воспалительном заболевании с деструкцией суставов наиболее многочисленной и гетерогенной группой клеток, участвующей в поддержании активных патогенетических процессов, являются CD4 + Т-клетки (в основном клетки Th1 и Th17) и фибробласты, такие как синовиоциты, макрофаги и В-клетки [13]. Важный вклад в хронизацию заболевания и формирование условий для обострений вносят также другие клетки, такие как дендритные клетки, нейтрофилы, тучные клетки и моноциты [14]. Для иммуномодулирующего цитокина TNF показана возможность регуляции функций всех этих типов клеток, за счёт чего он является одним из центральных факторов патогенеза данного заболевания [10, 15, 16], и изучение рецепторов TNF- α как факторов, обеспечивающих передачу сигнала от цитокина к клеткам, представляется наиболее актуальным на основных субпопуляциях иммунокомпетентных клеток.

Моноциты при РА взаимодействуют с другими клетками, инициируя при распространении ревматоидного процесса с помощью положительной обратной связи продукцию провоспалительных цитокинов, таких как TNF, IL-1 β и IL-6 [17]. При этом моноциты из кровотока рекрутируются в синовиальную оболочку сустава посредством хемотаксиса, активно участвуя в патологическом процессе, что обуславливает важность оценки функции моноцитов периферической крови. Обнаруженные в нашем исследовании изменения по снижению количества рецепторов 1-го типа при одновременном повышении числа клеток, несущих эти рецепторы, говорят о значимом изменении способности данной популяции клеток отвечать на цитокин на фоне эффективной терапии метилпреднизолоном и ритуксимабом. Предполагается что снижение после курса ритуксимаба среднего числа рецепторов как в общей популяции, так и среди дубль-позитивных клеток приводит к менее выраженному ответу моноцитов на медиатор TNF, в том числе, вероятно, к снижению патогенетической продукции провоспалительных факторов. При этом у больных на терапии преднизолоном эти результаты видны лишь в виде тенденции, но не являются значимыми. Более выраженный ответ по изменению экспрессии, обнаруженный в ответ на терапию ритуксимабом, по сравнению с ответом на преднизолон может быть связан с тем, что изначально больные в подгруппе RIT имели более высокие уровни экспрессии рецепторов к TNF в связи с длительным рефрактерным к стандартной терапии течением заболевания.

Двумя наиболее значительными проявлениями дисфункции Т-лимфоцитов при ревматоидном артрите являются постоянная активация Т-клеток, приводящая к аномальному состоянию поддержания пролиферации и формированию «резистентности к апоптозу» [18], что может быть одной из причин выживания aberrantных клеток при РА. В нормальных условиях Т-регуляторные клетки диктуют состояние иммунной толерантности, однако при РА встречается дисфункция Т-регуляторных клеток, которая, по всей вероятности, может быть частично нивелирована при эффективной терапии РА, что клинически будет проявляться улучшением состояния пациентов [19]. В нашей работе показано, что Т-регуляторные клетки пациентов после ответа на терапию ритуксимабом статистически значимо снизили как процент клеток, экспрессирующих рецепторы TNF 1-го и 2-го типов, так и число молекул на этих клетках. Это свидетельствует о более выраженном эффекте терапии ГИБП на данную популяцию по сравнению с популяцией моноцитов, у которых произошло компенсаторное повышение процента клеток с экспрессией рецепторов к цитокину. Стоит также отметить, что наиболее выраженные изменения коснулись популяции с экспрессией обоих типов рецепторов. Снижение реактивности популяции Т-регуляторных клеток на патогенный TNF было ассоциировано с улучшением течения заболевания и ответом на терапию. Полученные данные подтверждают данные по активному участию субпопуляции Т-регуляторных клеток в патогенезе РА и по-

зволяют предположить, что высокое содержание среди них TNFR1+ клеток является одним из механизмов, обеспечивающих восстановление функции Т-регуляторных клеток на фоне терапии.

Поскольку пролиферация Т-клеток также нарушена при РА [20], в нашей работе мы оценили общую популяцию CD3+ клеток по уровню экспрессии мембраносвязанных рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF, достаточный уровень экспрессии которых необходим для регуляции процессов нормальной и патологической пролиферации. Общие тенденции изменения экспрессии были схожими с популяцией моноцитов. В ответ на терапию ритуксимабом снижалось количество рецепторов 1-го типа, и при этом повышалось относительное число клеток TNFR1 в данной популяции. Полученные данные говорят о том, что Т-лимфоциты также значимо меняют экспрессию комплекса рецепторов TNF под воздействием ГИБП. В-клетки, образующиеся при контакте с аутоантигенами, могут способствовать аутоиммунитету различными способами: 1) представление антигена аутореактивным Т-клеткам; 2) продукция аутоантител с образованием антигена/антитела и активацией комплемента или фагоцитоза; 3) генерация цитокинов, стимулирующих пути Th1 или Th17; 4) ингибирование регуляторных Т- и В-клеток [21, 22]. В нашем исследовании по оценке рецепторной системы TNF для популяции В-лимфоцитов CD19+ были показаны наиболее значимые различия между видами коррекции базисной терапии при РА. На В-лимфоцитах у больных, получающих терапию ритуксимабом, обнаружено статистически значимое снижение количества молекул TNFR1 и увеличение относительного числа клеток с этим типом рецептора и одновременно увеличение числа экспрессируемых TNFR2 и снижение процента клеток с экспрессией 2-го типа рецептора TNF. В то же время у пациентов с терапией метилпреднизолоном показано только снижение относительного числа клеток с экспрессией 1-го и 2-го типов рецепторов TNF. Высокий процент дубль-позитивных клеток среди В-лимфоцитов при высокой плотности рецепторов как 1-го, так и 2-го типа на них в условиях повышенного содержания цитокина, характерного для пациентов с ревматоидным артритом, обладал протективным эффектом в отношении деструктивных изменений, выявляемых рентгенологически. Напротив, низкая плотность рецепторов 1-го типа на моноцитах была ассоциирована с более лёгким течением заболевания, что демонстрирует различия в чувствительности клеток к действию цитокина в условиях длительного воспалительного процесса. Это подтверждает важную роль данной субпопуляции в формировании воспалительного микроокружения при ревматоидном артрите.

Наиболее интересным представляется комплексная оценка данных, которая показывает, что фракцией, в которой при патологии и сопутствующих воздействиях на пациента происходят наиболее выраженные изменения по параметрам экспрессии рецепторов, в каждой субпопуляции является фракция дубль-позитивных клеток. Данный компенсаторный механизм объясняется тем, что баланс между проапоптотическим и провоспа-

лительными сигнальными путями обусловлен не только наличием того или иного рецептора на поверхности клеток, но и их соотношением на клетках, в том числе за счёт передачи сигнала между двумя типами рецептора [6]. Также можно отметить, что большинство изменений в системе рецепторов относилось к рецептору TNF 1-го типа, который отвечает за провоспалительные и апоптотические пути гибели клеток [4], что, соответственно, подтверждает эффективность терапии, поскольку общий тренд изменений включает снижение числа молекул на клетках. Мы предполагаем, что данные изменения влияют на общую реактивность клеток в ответ на TNF, что подтверждается экспериментальными исследованиями [23]. Субпопуляциями, отличающимися от общих трендов изменений, были Т-регуляторные клетки, у которых, помимо числа рецепторов, также снижалось и количество клеток, несущих рецепторы 1-го типа, что может свидетельствовать о более эффективном воздействии ритуксимаба именно на популяцию Т-рег. В популяции В-лимфоцитов наблюдалось повышение относительного числа клеток с экспрессией рецептора TNFR2, что согласуется с данными об участии аутореактивных клонов в патогенетическом процессе. При сравнении динамики изменения ко-экспрессии и плотности экспрессии рецепторов после разных типов терапий было показано, что изменения в экспрессии рецепторов 1-го типа носят однонаправленный характер для всех типов клеток (приближение к показателям здоровых доноров на Т- и В-клетках и компенсаторное гиперизменение на Т-регуляторных клетках). Однако для рецепторов 2-го типа, напротив, только Т-регуляторные клетки продемонстрировали тренд на восстановление после эффективной терапии уровня экспрессии TNFR2, аналогичного показателям здоровых доноров, при обоих типах терапии, в то время как для остальных популяций не было единого тренда. Данные изменения обусловлены не только различными противовоспалительными механизмами, инициируемыми гормональной и ГИБП-терапией, но и предшествующей историей длительного рефрактерного течения заболевания в подгруппе, получавшей метилпреднизолон. Ограничениями данного исследования можно считать различия в исходном уровне активности заболевания между группами с терапией преднизолоном и ритуксимабом, что делает невозможным проведение сравнения между этими двумя группами, однако полученные данные позволили провести сравнительный анализ эффективности терапии и сравнение со здоровыми донорами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведённой комплексной оценки показателей ко-экспрессии и количественной экспрессии мембраносвязанных рецепторов TNF были получены данные об изменениях этих показателей при ревматоидном артрите и их ассоциированности с ответом на терапию. Полученные данные указывают на различный вклад рецепторов TNF-α в функционирование популя-

ций иммунокомпетентных клеток при патологии и позволяют выявить отдельные субпопуляции, индивидуально реагирующие на проводимую терапию как объект для использования подходов таргетной модуляции экспрессии рецепторов к цитокину для контроля провоспалительных и аутоиммунных процессов. Оценка данных параметров может являться перспективной для понимания механизмов регуляции иммунного ответа клеток, а также стать дополнительным критерием диагностики иммуноопосредованных заболеваний и терапевтической мишенью для создания новых подходов в лечении.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках темы госзадания «Изучение показателей экспрессии рецепторов цитокинов и их лигандов в формировании функциональных свойств и типа реагирования клеточных популяций различного генеза в норме и при патологии» (номер гос. регистрации в ЕГИСУ НИОКТР 122011800353-4).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Lee A, Qiao Y, Grigoriev G, Chen J, Park-Min KH, Park SH, et al. Tumor necrosis factor α induces sustained signaling and a prolonged and unremitting inflammatory response in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum.* 2013; 65(4): 928-938. doi: 10.1002/art.37853
- Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease. *J Pathol.* 2008; 214(2): 149-160. doi: 10.1002/path.2287
- Bouwmeester T, Bauch A, Ruffner H, Angrand PO, Bergamini G, Coughton K, et al. A physical and functional map of the human TNF- α /NF- κ B signal transduction pathway. *Nat Cell Biol.* 2004; 6(2): 97-105. doi: 10.1038/ncb1086
- Yang S, Wang J, Brand DD, Zheng SG. Role of TNF-TNF receptor 2 signal in regulatory T cells and its therapeutic implications. *Front Immunol.* 2018; 9: 784. doi: 10.3389/fimmu.2018.00784
- Probert L. TNF and its receptors in the CNS: The essential, the desirable and the deleterious effects. *Neurosci.* 2015; 302: 2-22. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.06.038
- Medler J, Wajant H. Tumor necrosis factor receptor-2 (TNFR2): An overview of an emerging drug target. *Expert Opin Ther Targets.* 2019; 23(4): 295-307. doi: 10.1080/14728222.2019.1586886
- Brenner D, Blaser H, Mak TW. Regulation of tumour necrosis factor signalling: Live or let die. *Nat Rev Immunol.* 2015; 15(6): 362-374. doi: 10.1038/nri3834
- Fischer R, Kontermann RE, Pfizenmaier K. Selective targeting of TNF receptors as a novel therapeutic approach. *Front Cell Dev Biol.* 2020; 8: 401. doi: 10.3389/fcell.2020.00401
- Graudal N, Kaas-Hansen BS, Guski L, Hubeck-Graudal T, Welton NJ, Jürgens G. Different original and biosimilar TNF inhibitors similarly reduce joint destruction in rheumatoid arthritis – A network meta-analysis of 36 randomized controlled trials. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(18): 4350. doi: 10.3390/ijms20184350
- Firestein GS, Zvaifler NJ. How important are T cells in chronic rheumatoid synovitis? *Arthritis Rheum.* 1990; 33(6): 768-773. doi: 10.1002/art.1780330602
- Sennikov SV, Alshevskaya AA, Zhukova J, Belomestnova I, Karaulov AV, Lopatnikova JA. Expression density of receptors as a potent regulator of cell function and property in health and pathology. *Int Arch Allergy Immunol.* 2019; 178(2): 182-191. doi: 10.1159/000494387
- Lutz MB, Schnare M, Menges M, Rössner S, Rölinghoff M, Schuler G, et al. Differential functions of IL-4 receptor types I and II for dendritic cell maturation and IL-12 production and their dependency on GM-CSF. *J Immunol.* 2002; 169(7): 3574-3580. doi: 10.4049/jimmunol.169.7.3574
- Yang P, Qian FY, Zhang MF, Xu AL, Wang X, Jiang BP, Zhou LL. Th17 cell pathogenicity and plasticity in rheumatoid arthritis. *J Leukoc Biol.* 2019; 106(6): 1233-1240. doi: 10.1002/JLB.4RU0619-197R
- Zhang F, Wei K, Slowikowski K, Fonseka CY, Rao DA, Kelly S, et al. Defining inflammatory cell states in rheumatoid arthritis joint synovial tissues by integrating single-cell transcriptomics and mass cytometry. *Nat Immunol.* 2019; 20(7): 928-942. doi: 10.1038/s41590-019-0378-1
- Pala O, Diaz A, Blomberg BB, Frasca D. B lymphocytes in rheumatoid arthritis and the effects of anti-TNF- α agents on B lymphocytes: A review of the literature. *Clin Ther.* 2018; 40(6): 1034-1045. doi: 10.1016/j.clinthera.2018.04.016
- Mateen S, Zafar A, Moin S, Khan AQ, Zubair S. Understanding the role of cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta.* 2016; 455: 161-171. doi: 10.1016/j.cca.2016.02.010
- Rana AK, Li Y, Dang Q, Yang F. Monocytes in rheumatoid arthritis: Circulating precursors of macrophages and osteoclasts and, their heterogeneity and plasticity role in RA pathogenesis. *Int Immunopharmacol.* 2018; 65: 348-359. doi: 10.1016/j.intimp.2018.10.016
- Malemud CJ. Defective T-cell apoptosis and T-regulatory cell dysfunction in rheumatoid arthritis. *Cells.* 2018; 7(12): 223. doi: 10.3390/cells7120223
- Cribbs AP, Kennedy A, Penn H, Amjadi P, Green P, Read JE, et al. Methotrexate restores regulatory T cell function through demethylation of the FoxP3 upstream enhancer in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2015; 67(5): 1182-1192. doi: 10.1002/art.39031
- Rao DA, Gurish MF, Marshall JL, Slowikowski K, Fonseka CY, Liu Y, et al. Pathologically expanded peripheral T helper cell subset drives B cells in rheumatoid arthritis. *Nature.* 2017; 542(7639): 110-114. doi: 10.1038/nature20810
- Luu VP, Vazquez MI, Zlotnik A. B cells participate in tolerance and autoimmunity through cytokine production. *Autoimmunity.* 2014; 47(1): 1-12. doi: 10.3109/08916934.2013.856006
- Taylor SA, Assis DN, Mack CL. The contribution of B cells in autoimmune liver diseases. *Semin Liver Dis.* 2019; 39(4): 422-431. doi: 10.1055/s-0039-1688751
- Alshevskaya A, Koneva O, Belomestnova I, Lopatnikova J, Evsegneeva I, Zhukova J, et al. Ligand-regulated expression of TNF receptors 1 and 2 determines receptor-mediated functional responses. *Int Arch Allergy Immunol.* 2021; 182(11): 1077-1088. doi: 10.1159/000516352

Сведения об авторах

Альшеевская Алина Анатольевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: alkkina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7307-4524>

Жукова Юлия Владимировна – кандидат медицинских наук, лаборант-исследователь, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: zhukova1982@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2287-0918>

Лопатникова Юлия Анатольевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: lopatnikova_j_a@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0089-5054>

Киреев Федор Дмитриевич – младший научный сотрудник, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: f.kireev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4735-7579>

Шкаруба Надежда Сергеевна – кандидат медицинских наук, врач-ревматолог, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: sen-nadezhda@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7676-6166>

Чумасова Оксана Александровна – кандидат медицинских наук, врач-ревматолог, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: chumoks@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3797-6392>

Шевченко Юлия Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: shevcen@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8773-0599>

Ильина Надежда Александровна – врач-ревматолог, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: nadya5481@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2766-8284>

Сизиков Алексей Эдуардович – кандидат медицинских наук, заведующий отделением ревматологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: depaidici@online.nsk.su, <https://orcid.org/0000-0002-7213-7482>

Сенников Сергей Витальевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: sennikovsv@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7366-7768>

Information about the authors

Alina A. Alshevskaya – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: alkkina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7307-4524>

Julia V. Zhukova – Cand. Sc. (Med.), Clinical Research Assistant, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: zhukova1982@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2287-0918>

Julia A. Lopatnikova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: lopatnikova_j_a@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0089-5054>

Fedor D. Kireev – Junior Research Officer, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: f.kireev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4735-7579>

Nadezhda S. Shkaruba – Cand. Sc. (Med.), Rheumatologist, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: sen-nadezhda@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7676-6166>

Oksana A. Chumasova – Cand. Sc. (Med.), Rheumatologist, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: chumoks@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3797-6392>

Julia A. Shevchenko – Cand. Sc. (Biol.), senior researcher, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: shevcen@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8773-0599>

Nadezhda A. Ilina – Rheumatologist, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: nadya5481@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2766-8284>

Aleksey E. Sizikov – Cand. Sc. (Med.), Head of the Rheumatology Department, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: depaidici@online.nsk.su, <https://orcid.org/0000-0002-7213-7482>

Sergey V. Sennikov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Molecular Immunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: sennikovsv@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7366-7768>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».