

DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2025-20-3-76-83>

Особенности субпопуляционного состава и функциональной активности лимфоцитов и моноцитов периферической крови у больных первичной аутоиммунной тромбоцитопенией

Ю.Ю. Чуксина, С.Г. Захаров, Т.А. Митина

ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; Россия, 129110 Москва, ул. Щепкина, 61/2

Контакты: Юлия Юрьевна Чуксина tchuxina2009@yandex.ru

Введение. Первичная иммунная тромбоцитопения (ИТП) – иммуноопосредованное заболевание, характеризующееся деструкцией тромбоцитов и нарушением тромбоцитопоэза с развитием геморрагического синдрома различной степени выраженности. Первой линией терапии больных ИТП являются глюкокортикостероидные препараты, характеризующиеся ограниченной эффективностью и частыми осложнениями. Ключевую роль в патогенезе ИТП играют факторы врожденного и адаптивного иммунитета, изучение которых особенно актуально для оценки иммунологической реактивности пациентов и обоснования новых терапевтических подходов в реальной клинической практике.

Цель исследования – оценить особенности субпопуляционного состава и функциональной активности лимфоцитов и моноцитов периферической крови у больных ИТП и выявить возможные иммунологические прогностические критерии течения заболевания и резистентности к терапии глюкокортикостероидными препаратами.

Материалы и методы. У 20 пациентов с впервые выявленной ИТП и у 20 больных ИТП с резистентностью к терапии глюкокортикостероидными препаратами проанализированы относительные и абсолютные параметры Т-лимфоцитов (CD3⁺), В-лимфоцитов (CD19⁺), NK-клеток (CD3⁺CD16⁺CD56⁺), Т-хелперной (CD3⁺CD4⁺), Т-цитотоксической (CD3⁺CD8⁺) и NKT (CD3⁺CD16⁺CD56⁺) субпопуляций лимфоцитов периферической крови, а также экспрессии HLA-DR на лимфоцитах и моноцитах, CD25 на CD4⁺ Т-лимфоцитах и CD40 на В-лимфоцитах методом проточной цитометрии. В качестве контрольной группы обследованы 30 практически здоровых лиц.

Результаты. У пациентов с впервые выявленной ИТП наблюдалось резкое снижение абсолютного числа В-клеток и Т-хелперных лимфоцитов периферической крови, отмечена выраженная активация Т-лимфоцитов по экспрессии HLA-DR-антигена и В-лимфоцитов по экспрессии костимулирующей молекулы CD40. У пациентов с резистентностью к глюкокортикостероидным препаратам также выявлены значимое снижение абсолютного числа Т-хелперных лимфоцитов периферической крови, увеличение содержания активированных CD3⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов, но уровень CD40⁺-В-лимфоцитов был снижен по сравнению с первичными пациентами.

У пациентов обеих групп выявлено значительное ($p < 0,001$) снижение показателя средней интенсивности флуоресценции HLA-DR на моноцитах периферической крови, что может свидетельствовать о недостаточной способности моноцитарно-макрофагального звена к эффективному процессингу антигена.

Заключение. У больных ИТП выявлены выраженные нарушения количественных параметров клеточного адаптивного иммунитета и функциональной активности лимфоцитов и моноцитов периферической крови, играющие важную роль в иммунопатогенезе заболевания.

Ключевые слова: иммунная тромбоцитопения, врожденный и адаптивный иммунитет, костимулирующая молекула CD40, проточная цитометрия

Для цитирования: Чуксина Ю.Ю., Захаров С.Г., Митина Т.А. Особенности субпопуляционного состава и функциональной активности лимфоцитов и моноцитов периферической крови у больных первичной аутоиммунной тромбоцитопенией. Онкогематология 2025;20(3):76–83.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2025-20-3-76-83>

Features of the subpopulation composition and functional activity of peripheral blood lymphocytes and monocytes in patients with primary autoimmune thrombocytopenia

Yu. Yu. Chuksina, S.G. Zakharov, T.A. Mitina

M.F. Vladimirskiy Moscow Regional Research Clinical Institute; 61/2 Shchepkina St., Moscow 129110, Russia

Contacts: Yulia Yuryevna Chuksina tchuxina2009@yandex.ru

Background. Primary immune thrombocytopenia (ITP) is an immune-mediated disease characterized by platelet destruction and impaired thrombopoiesis with the development of varying severity hemorrhagic syndrome. The first line of therapy for ITP patients are glucocorticosteroids, which have limited efficacy and frequent complications. Factors of innate and adaptive immunity play a key role in ITP pathogenesis, the study of which is especially relevant for assessing the immunological reactivity of patients and substantiating new therapeutic approaches in real clinical practice.

Aim. To evaluate the characteristics of the subpopulation composition and functional activity of peripheral blood lymphocytes and monocytes in ITP patients and to identify possible immunological prognostic criteria for the disease course and resistance to glucocorticosteroid therapy.

Materials and methods. In 20 patients with newly diagnosed ITP and in 20 ITP patients with resistance to glucocorticosteroid therapy, the relative and absolute parameters of T-lymphocytes (CD3⁺), B-lymphocytes (CD19⁺), NK cells (CD3⁻CD16⁺CD56⁺), T-helper cells (CD3⁺CD4⁺), T-cytotoxic (CD3⁺CD8⁺) and NKT (CD3⁺CD16⁺CD56⁺) subpopulations of peripheral blood lymphocytes, as well as the expression of HLA-DR on lymphocytes and monocytes, CD25 on CD4⁺ T-lymphocytes and CD40 on B-lymphocytes were analyzed using flow cytometry. Thirty healthy individuals were examined as a control group.

Results. In patients with newly diagnosed ITP, a sharp decrease in the absolute number of B cells and T-helper lymphocytes in peripheral blood was observed, and pronounced activation of T-lymphocytes by HLA-DR expression and B-lymphocytes by costimulatory molecule CD40 expression was noted. In patients with glucocorticosteroids resistance, a significant decrease in the absolute number of peripheral blood T-helper lymphocytes, an increase in the content of activated CD3⁺HLA-DR⁺ lymphocytes were also detected, but the level of CD40⁺ B-lymphocytes was reduced compared to primary patients.

In patients of both groups, a significant ($p < 0.001$) decrease in HLA-DR mean fluorescence intensity on peripheral blood monocytes was detected, which may indicate an insufficient ability of monocytes and macrophages to effectively antigen processing.

Conclusion. Patients with ITP have been found to have significant disturbances in the quantitative parameters of cellular adaptive immunity and the functional activity of peripheral blood lymphocytes and monocytes, which play an important role in the immunopathogenesis of the disease.

Keywords: immune thrombocytopenia, innate and adaptive immunity, CD40 costimulatory molecule, flow cytometry

For citation: Chuksina Yu.Yu., Zakharov S.G., Mitina T.A. Features of the subpopulation composition and functional activity of peripheral blood lymphocytes and monocytes in patients with primary autoimmune thrombocytopenia. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2025;20(3):76–83. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2025-20-3-76-83>

Введение

Первичная иммунная тромбоцитопения (ИТП) — аутоиммунное заболевание, обусловленное выработкой антител к структурам мембраны тромбоцитов и их предшественников — мегакариоцитов, что вызывает не только повышенную деструкцию тромбоцитов, но и неадекватный тромбоцитопоез, характеризующийся изолированной тромбоцитопенией $< 100 \times 10^9/\text{л}$ и наличием/отсутствием геморрагического синдрома различной степени выраженности [1–3]. Механизмы нарушения тромбопоеза мегакариоцитами в костном мозге, индукции апоптоза тромбоцитов, приводящие к развитию аутоиммунного характера тромбоцитопении, до конца не изучены.

Значение иммунной системы при ИТП трудно переоценить; исследователями ведется постоянный поиск иммунопатогенетических механизмов, лежащих в основе данной патологии.

Адаптивный иммунный ответ в патогенезе ИТП является ключевым и реализуется в процессе дифференцировки В-клеток памяти в плазматические клетки, секретирующие аутоантитела, а также клеточными цитотоксическими эффекторными механизмами (описана роль цитотоксических CD8⁺-Т-лимфоцитов

без участия аутоантител при ИТП) [4, 5]. Этот процесс опосредован регуляторными Т-клетками, несостоятельность которых приводит к недостаточному контролю аутоиммунного ответа и нарушению иммунологической толерантности.

Гетерогенные популяции Т-хелперных лимфоцитов, включая Th1/Th17/Th22/T_{EH}, вносят существенный вклад в патогенез ИТП [6–12]. Но эти профили поляризации Т-хелперов не являются специфичными для данной патологии, так как наблюдаются при других аутоиммунных заболеваниях.

Некоторые клетки врожденного иммунитета могут модулировать аутоиммунные реакции при ИТП. Показано, что подмножество CD16⁺-моноцитов, полученных от пациентов с ИТП, способствует пролиферации IFN- γ ⁺CD4⁺-Т-клеток [13].

Уровень НК-клеток у пациентов с ИТП, по данным литературы, может быть как повышенным, так и сниженным [14–16]. Оценка этих фактов неоднозначна, поскольку НК-клетки не способны лизировать тромбоциты [17].

Первой линией терапии ИТП являются глюкокортикостероидные препараты (ГКС), но эффективность данной терапии ограничена: из 80 % пациентов

с ответом на лечение только у <20 % после отмены ГКС сохраняется адекватный уровень тромбоцитов в периферической крови (ПК), что, вероятнее всего, связано с невозможностью длительного лечения этими препаратами ввиду побочных явлений [18].

Механизм иммуносупрессии при лечении ГКС включает воздействие на клеточные и молекулярные компоненты иммунной системы, снижение продукции цитокинов (интерлейкины 2, 3, 4, 6 и интерферон γ), миграции лейкоцитов к воспалительному очагу, уменьшая тем самым иммунный ответ на месте воспаления. Кроме этого, ГКС воздействуют на клетки врожденного иммунитета (моноциты и макрофаги), угнетая их способность к фагоцитозу и презентации антигенов. Это ограничивает стимуляцию адаптивного иммунного ответа, который зависит от антигенпрезентирующих дендритных клеток [19].

В настоящее время отсутствует четкий консенсус относительно того, когда следует прекратить терапию 1-й линии ГКС и назначить иное лечение, более подходящее для поддержания длительного ответа [20].

С учетом аутоиммунного характера заболевания, а также иммуносупрессирующего действия ГКС актуальность исследования иммунологических параметров пациентов с ИТП не вызывает сомнения.

Цель исследования – оценить особенности субпопуляционного состава и функциональной активности лимфоцитов и моноцитов ПК у больных ИТП и выявить возможные иммунологические прогностические критерии течения заболевания и резистентности к терапии ГКС.

Материалы и методы

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

В исследование вошли 20 пациентов с впервые выявленной ИТП и 20 больных ИТП с резистентностью к терапии ГКС. Возраст пациентов составил 33–80 лет, у 67 % пациентов с впервые выявленной ИТП отмечался геморрагический синдром различной степени выраженности. Уровень тромбоцитов в ПК больных определялся в диапазоне $6000–150000 \times 10^9/\text{л}$, у 89 % больных обнаружены аутоантитела к тромбоцитарным антигенам (450–640 %). Из 20 пациентов с резистентностью к ГКС 5 больным назначен элтромбопаг. Контрольная группа включала 30 практически здоровых лиц, сопоставимых с пациентами по полу и возрасту.

Всем пациентам с ИТП проведено исследование популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов ПК методом многоцветной проточной цитометрии с использованием панели моноклональных антител к дифференцировочным антигенам лимфоцитов ПК. Проанализированы содержание Т-лимфоцитов ($CD3^+$), В-лимфоцитов ($CD19^+$), НК-клеток ($CD3-CD16^+CD56^+$), Т-хелперной ($CD3^+CD4^+$), Т-цитотоксической ($CD3^+CD8^+$) и НКТ-субпопуляций ($CD3^+CD16^+CD56^+$), содержание активированных

Т-лимфоцитов ($CD3^+HLA-DR^+$) в пределах гейта $CD45^+$ -лимфоцитов. Экспрессию $CD25$ на Т-хелперных лимфоцитах ($CD4^+CD25^+$) определяли в пределах гейта $CD3^+$ -лимфоцитов, экспрессию костимулирующей молекулы $CD40$ на В-клетках – в пределах гейта $CD19^+$ -лимфоцитов.

Исследование экспрессии HLA-DR на моноцитах ПК проводили по 2 параметрам: оценивали долю моноцитов ПК, экспрессирующих HLA-DR ($CD14^+HLA-DR^+$), от всей популяции моноцитов, а также интенсивность экспрессии HLA-DR по параметру средней интенсивности флуоресценции (mean fluorescence intensity).

Статистический анализ

Статистическую обработку материала проводили с использованием пакета программ StatPlus Pro 7.6.5.0. Количественные данные представлены в виде средних значений и стандартного отклонения ($M \pm SD$), а также медианы (25–75 %) (тест Краскела–Уоллиса). Учитывая небольшие объемы выборок, нормальность распределения оценивали с помощью критерия Шапиро–Уилка [21]. Уровень статистической значимости принят равным 0,05.

Результаты

Относительные и абсолютные показатели субпопуляционного состава лимфоцитов ПК у больных ИТП представлены в табл. 1.

У пациентов с впервые выявленной ИТП и резистентностью к препаратам ГКС не выявлено значимых различий по относительным значениям показателей популяционного (Т-, В-, НК-лимфоциты) и субпопуляционного состава Т-лимфоцитов (Т-хелперная ($CD3^+CD4^+$), Т-цитотоксическая ($CD3^+CD8^+$), субпопуляция НКТ-клеток ($CD3^+CD16^+CD56^+$)) по сравнению с практически здоровыми лицами.

При оценке абсолютных значений нами выявлено статистически значимое снижение количества Т-хелперных лимфоцитов у пациентов как с впервые выявленной ИТП ($p < 0,05$), так и с резистентностью к ГКС ($p < 0,05$) по сравнению с группой практически здоровых лиц. Также мы обнаружили статистически значимое ($p < 0,05$) снижение уровня популяции В-лимфоцитов у больных впервые выявленной ИТП по сравнению с группой практически здоровых лиц. У пациентов с резистентностью к ГКС этот показатель был несколько выше, чем в группе 1, и статистически не отличался от контрольных значений.

Нами не обнаружено статистически значимых различий в количестве Т-хелперных лимфоцитов, экспрессирующих рецептор интерлейкина 2 ($CD4^+CD25^+$), у пациентов обеих групп по сравнению с контрольными значениями. Напротив, содержание активированных Т-лимфоцитов, экспрессирующих HLA-DR, оказалось статистически значимо увеличенным ($p < 0,001$) у пациентов обеих изучаемых групп по сравнению с контрольными показателями.

Таблица 1. Показатели клеточного иммунитета у больных иммунной тромбоцитопенией (ИТП). Результаты представлены в виде относительного (% клеток от общего числа лимфоцитов CD45⁺) и абсолютного (количество клеток в 1 мкл периферической крови) числа лимфоцитов
Table 1. Parameters of cellular immunity in patients with immune thrombocytopenia (ITP). The results are presented as a relative (% of cells from the total number of CD45⁺ lymphocytes) and absolute (number of cells in 1 μL of peripheral blood) number of lymphocytes

Показатель Parameter	Первичная ИТП (группа 1; n = 20) Primary ITP (group 1; n = 20)	Резистентность к ГКС (группа 2; n = 20) GCS resistance (group 2; n = 20)	Практически здоровые лица (группа 3; n = 30) Healthy individuals (group 3; n = 30)	p
Лейкоциты, ×10 ⁹ /л Leukocytes, ×10 ⁹ /L	6,31 ± 0,6	7,29 ± 0,54	6,500 ± 1,859	1–2: 0,110; 1–3: 0,461; 2–3: 0,340
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	27,5 ± 2,15	30,4 ± 1,9	33,3 ± 5,6%	1–2: 0,153; 1–3: 0,166; 2–3: 0,310
Лимфоциты (абсолютные значения) Lymphocytes (absolute values)	1819,1 ± 195, 2	2088,0 ± 203,3	2070,12 ± 101,3	1–2: 0,167; 1–3: 0,126; 2–3: 0,468
CD3 ⁺ -Т-лимфоциты, % CD3 ⁺ T-lymphocytes, %	72,8 ± 2,4	69,49 ± 3,43	74,3 ± 6,9	1–2: 0,211; 1–3: 0,418; 2–3: 0,264
CD3 ⁺ -Т-лимфоциты (абсолютные значения) CD3 ⁺ T-lymphocytes (absolute values)	1340,2 ± 153, 4	1520,6 ± 150,2	1670,7 ± 131,5	1–2: 0,197; 1–3: 0,151; 2–3: 0,223
CD3 ⁺ CD4 ⁺ -Т-хелперы, % CD3 ⁺ CD4 ⁺ T-helpers, %	44,2 ± 1,62	41,36 ± 2,36	42,8 ± 6,8	1–2: 0,158; 1–3: 0,419; 2–3: 0,420
CD3 ⁺ CD4 ⁺ -Т-хелперы (абсолютные значения) CD3 ⁺ CD4 ⁺ T-helpers (absolute values)	821,7 ± 98,5	880,4 ± 69,2	1125,5 ± 103,2	1–2: 0,310; 1–3: 0,017; 2–3: 0,025
CD3 ⁺ CD8 ⁺ -Т-цитотоксические лимфоциты, % CD3 ⁺ CD8 ⁺ T-cytotoxic lymphocytes, %	28,35 ± 2,1	28,82 ± 2,27	39,7 ± 7,8	1–2: 0,438; 1–3: 0,081; 2–3: 0,091
CD3 ⁺ CD8 ⁺ -Т-цитотоксические лимфоциты (абсолютные значения) CD3 ⁺ CD8 ⁺ T-cytotoxic lymphocytes (absolute values)	514,1 ± 74,6	551, 6 ± 48,6	537,9 ± 56,4	1–2: 0,334; 1–3: 0,398; 2–3: 0,426
Иммунорегуляторный индекс CD4 ⁺ /CD8 ⁺ CD4 ⁺ /CD8 ⁺ immunoregulatory index	1,67 ± 0,14	1,70 ± 0,15	1,69 ± 0,26	1–2: 0,441; 1–3: 0,473; 2–3: 0,487
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ -NK-лимфоциты, % CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ NK-lymphocytes, %	12,4 ± 2,01	13,86 ± 1,83	14,2 ± 7,0	1–2: 0,292; 1–3: 0,402; 2–3: 0,481
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ -NK-лимфоциты (абсолютные значения) CD3 ⁺ CD16 ⁺ 56 ⁺ NK-lymphocytes (absolute values)	264,9 ± 54,2	276,4 ± 42,0	328,7 ± 18,4	1–2: 0,432; 1–3: 0,132; 2–3: 0,126
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ -NKT- лимфоциты, % CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ NKT-lymphocytes, %	7,52 ± 1,09	7,53 ± 1,12	5,0 ± 1,2	1–2: 0,497; 1–3: 0,059; 2–3: 0,061
CD19 ⁺ -В-лимфоциты, % CD19 ⁺ B-lymphocytes, %	11,14 ± 1,297	14,63 ± 3,17	11,79 ± 2,31	1–2: 0,153; 1–3: 0,402; 2–3: 0,232
CD19 ⁺ -В-лимфоциты (абсолютные значения) CD19 ⁺ B-lymphocytes (absolute values)	179,2 ± 34,0	205,4 ± 35,7	271,6 ± 29,6	1–2: 0,294 1–3: 0,021; 2–3: 0,076

Окончание табл. 1

End of table 1

Показатель Parameter	Первичная ИТП (группа 1; n = 20) Primary ITP (group 1; n = 20)	Резистентность к ГКС (группа 2; n = 20) GCS resistance (group 2; n = 20)	Практически здоровые лица (группа 3; n = 30) Healthy individuals (group 3; n = 30)	p
CD4 ⁺ CD25 ⁺ -клетки в пределах CD3 ⁺ , % CD4 ⁺ CD25 ⁺ cells within CD3 ⁺ , %	15,37 ± 1,6	18,09 ± 1,5	19,10 ± 2,4	1–2: 0,106; 1–3: 0,097; 2–3: 0,359
Активированные CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ -Т-лимфоциты в пределах CD45 ⁺ -лимфоцитов, % CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ activated T-lymphocytes within CD45 ⁺ -lymphocytes, %	11,92 ± 1,33	14,02 ± 1,96	6,3 ± 0,7	1–2: 0,185; 1–3: 0,0003; 2–3: 0,0004
CD40 ⁺ -клетки в пределах CD19 ⁺ , % CD40 ⁺ cells within CD19 ⁺ , %	31,87 ± 5,3	21,28 ± 3,6	13,13 ± 4,22	1–2: 0,049; 1–3: 0,004; 2–3: 0,070

Примечание. Здесь и в табл. 2: ГКС – глюкокортикостероиды. Жирным выделены статистически значимые различия.
Note. Here and in table 2: GCS – glucocorticosteroids. Statistically significant differences are highlighted in bold.

Таблица 2. Экспрессия молекулы HLA-DR на моноцитах периферической крови (CD14⁺HLA-DR⁺) в у больных иммунной тромбоцитопенией (ИТП) в пределах гейта CD45⁺, медиана [25 %; 75 %]

Table 2. HLA-DR expression on peripheral blood monocytes (CD14⁺HLA-DR⁺) in patients with immune thrombocytopenia (ITP) within CD45⁺ gate, median [25 %; 75 %]

Показатель Parameter	Впервые выявленная ИТП (группа 1; n = 20) Newly diagnosed ITP (group 1; n = 20)	Резистентность к терапии ГКС (группа 2; n = 20) GCS resistance (group 2; n = 20)	Практически здоровые лица (группа 3; n = 30) Healthy individuals (group 3; n = 30)	p		
				1–2	1–3	2–3
CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ -моноциты, % CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ monocytes, %	94,55 [92,44; 96,90]	96,00 [94,10; 96,67]	94,80 [93,00; 97,30]	0,717	1,000	1,000
Средняя интенсивность флуоресценции HLA-DR, у. е. HLA-DR mean fluorescence intensity, c. u.	116,17 [104,80; 150,50]	113,56 [59,00; 135,88]	348,20 [213,80; 507,00]	1,000	0,002	0,006

Содержание В-лимфоцитов, экспрессирующих костимулирующую молекулу CD40, было статистически значимо выше у больных впервые выявленной ИТП по сравнению с пациентами с резистентностью к ГКС ($p < 0,05$) и контрольной группой ($p < 0,01$), что может свидетельствовать об их компенсаторном увеличении при выраженном снижении В-клеток в абсолютном выражении. У пациентов с резистентностью к препаратам ГКС этот показатель снижался, но статистически значимо не отличался от группы контроля.

Данные об особенностях экспрессии молекулы HLA-DR на моноцитах ПК представлены в табл. 2.

Не получено значимых различий в содержании моноцитов ПК, экспрессирующих HLA-DR-антиген, между исследуемыми группами пациентов с ИТП и практически здоровыми лицами. При исследовании средней интенсивности флуоресценции молекулы HLA-DR на моноцитах выявлено, что у пациентов

как с впервые выявленной ИТП, так и с резистентностью к ГКС этот показатель значительно ниже (в 3 раза) по сравнению с контрольными значениями ($p < 0,01$).

Обсуждение

Для больных впервые выявленной ИТП характерны выраженное снижение абсолютных, но не относительных показателей субпопуляции Т-хелперных лимфоцитов, популяции В-лимфоцитов, высокая доля активированных по HLA-DR-антигену Т-лимфоцитов, высокая доля В-лимфоцитов, экспрессирующих костимулирующую молекулу CD40.

Не получено значительных отклонений в содержании НК-клеток у пациентов с ИТП. По данным литературы, у больных ИТП обнаружены как повышенные, так и пониженные уровни НК-клеток [14–16].

Группа больных ИТП с резистентностью к ГКС также характеризовалась значительным снижением

абсолютных, но не относительных показателей субпопуляции Т-хелперных лимфоцитов, увеличением доли активированных Т-лимфоцитов (CD3⁺HLA-DR⁺), но отсутствием значимого снижения числа В-лимфоцитов, в том числе содержания их субпопуляции, экспрессирующей CD40.

Молекула CD40 является источником костимулирующих сигналов В-клеток, которая вовлекается в активацию в результате контактного взаимодействия с Т-хелперным лимфоцитом. При связывании CD40 с лигандом (CD154) генерируется костимулирующий сигнал, приводящий в итоге к активации и пролиферации В-клеток под действием комплекса цитокинов, из которых ведущим является, в частности, интерлейкин 4, происходит реализация дифференцировочной программы в антителообразующие клетки [22]. Помимо В-клеток, CD40 экспрессируется разнообразными типами клеток (дендритные, фолликулярные дендритные, моноциты, макрофаги, тучные, фибробласты и эндотелиальные). Взаимодействия CD40-CD154 могут влиять на опосредованные Т-клетками эффекторные функции; усиливать регуляцию костимулирующих молекул и активировать макрофаги, NK-клетки и эндотелий, а также участвовать в органоспецифических аутоиммунных заболеваниях, отторжении трансплантата и атеросклерозе [23]. Тромбоциты сами по себе могут влиять на аутоиммунный ответ при ИТП, так как выступают в качестве медиаторов иммунных и воспалительных реакций [24].

Тромбоциты обычно экспрессируют CD40L только при активации, но у пациентов с ИТП наблюдались более высокие исходные уровни этого показателя [25]. По данным некоторых исследований, ингибирование CD40L было успешным в подавлении продукции аутоантител, опосредованной Т- и В-клетками при ИТП даже при лечении рефрактерных форм заболевания [26, 27].

Таким образом, у пациентов в дебюте ИТП нами установлено усиление активационного потенциала В-лимфоцитов, который может снижаться под действием терапии ГКС даже при развитии резистентности.

Усиление экспрессии CD40 на В-лимфоцитах может иметь компенсаторный эффект на снижение абсолютного количества В-лимфоцитов, так как при взаимодействии с соответствующим лигандом CD154 на Т-хелперных лимфоцитах, как отмечено выше, инициируется процесс В-клеточной пролиферации [22].

Ранее нами было показано, что при ИТП также наблюдается усиление активационного потенциала Т-лимфоцитов ПК, определяемого по экспрессии костимулирующей молекулы CD28 на субпопуляциях Т-хелперных и цитотоксических Т-лимфоцитов, у пациентов как с впервые выявленной ИТП, так и с резистентностью к ГКС [28].

Клинические и экспериментальные данные свидетельствуют о том, что моноциты с уменьшенной или отсутствующей экспрессией молекул HLA-DR не могут выполнять антигенпредставляющую функцию

и не обладают способностью продуцировать воспалительные медиаторы в ответ на соответствующие стимулы [29]. По данным некоторых публикаций, уменьшение экспрессии HLA-DR на моноцитах коррелирует с увеличением риска инфекционных осложнений у пациентов с травмой, ожогами, при панкреатите, сепсисе [30, 31]. Аналогичный эффект наблюдали при осложнениях в сердечно-сосудистой хирургии и после трансплантации органов [32–34].

По нашим данным, у больных ИТП выявлено значительное увеличение уровня активированных Т-лимфоцитов по экспрессии HLA-DR, что может являться компенсаторной реакцией Т-клеток на снижение количественных показателей Т-хелперных лимфоцитов.

С другой стороны, нами отмечено выраженное снижение интенсивности экспрессии HLA-DR на моноцитах ПК, что демонстрирует ингибирование их способности к антигенпрезентации чужеродных или аутоантигенов. Можно предположить, что при миграции моноцитов из кровеносного русла в ткани, где происходят аутоиммунные процессы, они превращаются в тканевые макрофаги со сниженными функциональными свойствами, не способными к эффективному процессингу антигена и фагоцитозу, что также влияет на процессы избыточного синтеза аутоантител к антигенам тромбоцитов в органах-мишенях.

Заключение

1. У пациентов с впервые выявленной ИТП обнаружены нарушения адаптивного звена клеточного иммунитета, выражающиеся в количественном дефиците популяции В-клеток и субпопуляции Т-хелперных лимфоцитов ПК, при этом отмечена выраженная активация Т-лимфоцитов по экспрессии HLA-DR-антигена и В-лимфоцитов по экспрессии костимулирующей молекулы CD40, что может иметь компенсаторный характер.
2. У пациентов с резистентностью к препаратам ГКС также выявлены количественный дефицит субпопуляции Т-хелперных лимфоцитов ПК, значительное увеличение содержания активированных Т-лимфоцитов (CD3⁺HLA-DR⁺), хотя не отмечено выраженного снижения абсолютного количества В-лимфоцитов и активации пула CD40⁺-В-клеток.
3. У пациентов с впервые выявленной ИТП и резистентностью к препаратам ГКС отмечены выраженные нарушения системы врожденного иммунитета, свидетельствующие о недостаточной способности моноцитарно-макрофагального звена к эффективному процессингу антигена и фагоцитозу.
4. Анализ относительных характеристик клеточного иммунитета не всегда позволяет адекватно оценить выраженность обнаруженных патологических изменений. Следовательно, для полной картины необходимо проводить исследование абсолютных величин иммунологических параметров.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Клинические рекомендации. Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП) у взрослых. 2021. Доступно по: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/150_2 (дата обращения: 04.02.2024).
2. Ковалева Л.Г., Пустовая Е.И., Сафонова Т.И. Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП) взрослых. Первичная иммунная тромбоцитопения (ИТП) взрослых. Болезнь Верльгофа. М.: Гематологический научный центр, 2014. 131 с.
3. Provan D., Arnold D., Bussel J.B. et al. Updated international consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood Adv* 2019;3(22):3780–808. DOI: 10.1182/bloodadvances-2019000812
4. Zhao C., Li X., Zhang F. et al. Increased cytotoxic T-lymphocyte-mediated cytotoxicity predominant in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura without platelet autoantibodies. *Haematologica* 2008;93(9):1428–30. DOI: 10.3324/haematol.12889
5. Cines D.B., Cuker A., Semple J.W. Pathogenesis of immune thrombocytopenia. *Presse Med* 2014;43(4 Pt 2):e49–59. DOI: 10.1016/j.lpm.2014.01.010
6. Ogawara H., Handa H., Morita K. et al. High Th1/Th2 ratio in patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol* 2003;71(4):283–8. DOI: 10.1034/j.1600-0609.2003.00138.x
7. Wang T., Zhao H., Ren H. et al. Type 1 and type 2 T-cell profiles in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Haematologica* 2005;90(7):914–23.
8. Guo Z.X., Chen Z.P., Zheng C.L. et al. The role of Th17 cells in adult patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol* 2009;82(6):488–9. DOI: 10.1111/j.1600-0609.2009.01229.x
9. Zhang J., Ma D., Zhu X. et al. Elevated profile of Th17, Th1 and Tc1 cells in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Haematologica* 2009;94(9):1326–9. DOI: 10.3324/haematol.2009.007823
10. Cao J., Chen C., Zeng L. et al. Elevated plasma IL-22 levels correlated with Th1 and Th22 cells in patients with immune thrombocytopenia. *Clin Immunol* 2011;141(1):121–3. DOI: 10.1016/j.clim.2011.05.003
11. Hu Y., Li H., Zhang L. et al. Elevated profiles of Th22 cells and correlations with Th17 cells in patients with immune thrombocytopenia. *Hum Immunol* 2012;73(6):629–35. DOI: 10.1016/j.humimm.2012.04.015
12. Audia S., Rossato M., Santegoets K. et al. Splenic TFH expansion participates in B-cell differentiation and antiplatelet-antibody production during immune thrombocytopenia. *Blood* 2014;124(18):2858–66. DOI: 10.1182/blood-2014-03-563445
13. Zhong H., Bao W., Li X. et al. CD16⁺ monocytes control T-cell subset development in immune thrombocytopenia. *Blood* 2012;120(16):3326–35. DOI: 10.1182/blood-2012-06-434605
14. Semple J.W., Bruce S., Freedman J. Suppressed natural killer cell activity in patients with chronic autoimmune thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol* 1991;37(4):258–62. DOI: 10.1002/ajh.2830370409
15. Garcia-Suarez J., Prieto A., Reyes E. et al. Severe chronic autoimmune thrombocytopenic purpura is associated with an expansion of CD56⁺CD3⁻ natural killer cells subset. *Blood* 1993;82(5):1538–45.
16. Ebbo M., Audonnet S., Grados A. et al. NK cell compartment in the peripheral blood and spleen in adult patients with primary immune thrombocytopenia. *Clin Immunol* 2017;177:18–28. DOI: 10.1016/j.clim.2015.11.005
17. Olsson B., Andersson P.O., Jernas M. et al. T-cell-mediated cytotoxicity toward platelets in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Nat Med* 2003;9(9):1123–4. DOI: 10.1038/nm921
18. Kuter D.J. The treatment of immune thrombocytopenia (ITP) – focus on thrombopoietin receptor agonists. *Ann Blood* 2021;6(7):1–21. DOI: 10.21037/aob-21-23
19. Zufferey A., Kapur R., Semple J.W. Pathogenesis and therapeutic mechanisms in immune thrombocytopenia (ITP). *J Clin Med* 2017;6(2):16. DOI: 10.3390/jcm6020016
20. Захаров С.Г., Митина Т.А., Захарова А.В. и др. Осложнения терапии глюкокортикостероидами у пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой. *Онкогематология* 2023;18(4):233–43. DOI: 10.17650/1818-8346-2023-18-4-233-243
21. Ядгаров М.Я., Кузовлев А.Н., Берикашвили Л.Б. и др. Важность оценки закона распределения данных: теория и практическое руководство. *Анестезиология и реаниматология* 2021;(2):136–42. DOI: 10.17116/anaesthesiology2021021136
22. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. С. 452
23. Yarilin A.A. Immunology. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. P. 452. (In Russ.).
24. Grewal I.S., Flavell R.A. CD40 and CD154 in cell-mediated immunity. *Annu Rev Immunol* 1998;16:111–35. DOI: 10.1146/annurev.immunol.16.1.111
25. Koupenova M., Clancy L., Corkrey H.A., Freedman J.E. Circulating platelets as mediators of immunity, inflammation, and thrombosis. *Circ Res* 2018;122(2):337–51. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.117.310795
26. Frelinger A.L. 3rd, Grace R.F., Gerrits A.J. et al. Platelet function tests, independent of platelet count, are associated with bleeding severity in ITP. *Blood* 2015;126(7):873–9. DOI: 10.1182/blood-2015-02-628461
27. Kuwana M., Nomura S., Fujimura K. et al. Effect of a single injection of humanized anti-CD154 monoclonal antibody on the platelet-specific autoimmune response in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Blood* 2004;103(4):1229–36. DOI: 10.1182/blood-2003-06-2167
28. Kuwana M., Kawakami Y., Ikeda Y. Suppression of autoreactive T-cell response to glycoprotein IIb/IIIa by blockade of CD40/CD154 interaction: implications for treatment of immune thrombocytopenic purpura. *Blood* 2003;101(2):621–3. DOI: 10.1182/blood-2002-07-2157
29. Чуксина Ю.Ю., Захаров С.Г., Митина Т.А., Хмелевская А.Н. Клинико-прогностическая значимость Т-регуляторных клеток и экспрессии CD28 на Т-лимфоцитах у больных иммунной тромбоцитопенией. *Онкогематология* 2024;19(4):108–14. DOI: 10.17650/1818-8346-2024-19-4-108-114
30. Chuksina Yu.Yu., Zakharov S.G., Mitina T.A., Khmelevskaya A.N. Clinical and prognostic significance of T-regulatory cells and CD28 expression on T-lymphocytes in patients with immune thrombocytopenia. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2024;19(4):108–14. (In Russ.). DOI: 10.17650/1818-8346-2024-19-4-108-114
31. Хайдуков С.В., Зурочка А.В., Черешнев В.А. Цитометрический анализ в клинической иммунологии. Екатеринбург: УрО РАН, 2011. Т. 4. С. 220.

- Khaidukov S.V., Zurochka A.V., Chereshnev V.A. Cytometric analysis in clinical immunology. Ekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2011. Vol. 4. P. 220. (In Russ.).
30. Клочкова-Абельянц С.А., Суржикова Г.С. Экспрессия HLA-DR-антигенов на моноцитах периферической крови как показатель состояния иммунной системы при гипохромной анемии. Политравма 2012;2:59–67.
Klochkova-Abelyants S.A., Surzhikova G.S. Expression of HLA-DR antigens on peripheral blood monocytes as an indicator of the state of the immune system in hypochromic anemia. Politravma = Polytrauma 2012;2:59–67. (In Russ.).
31. Зурочка А.В., Котляров А.Н., Кувайцев М.В. и др. Изменения экспрессии HLA-DR-антигенов на моноцитах у детей и ее клиническая значимость при сепсисе. Медицинская иммунология 2008;10(4–5):379–87.
DOI: 10.15789/1563-0625-2008-4-5-379-388
Zurochka A.V., Kotlyarov A.N., Kuvaytsev M.V. et al. Changes of HLA-DR antigen expression on monocytes in children and their clinical significance in sepsis. Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia) 2008;10(4–5):379–87. (In Russ.).
DOI: 10.15789/1563-0625-2008-4-5-379-388
32. Strohmeyer J.C., Blume C., Meisel C. et al. Standardized immune monitoring for the prediction of infections after cardiopulmonary bypass surgery in risk patients. Cytometry 2003;53(1):54–62.
DOI: 10.1002/cyto.b.10031
33. Hoffman J.A., Weinberg K.I., Azen C.G. et al. Human leukocyte antigen-DR expression on peripheral blood monocytes and the risk of pneumonia in pediatric lung transplant recipients. Transpl Infect Dis 2004;6(4):147–55. DOI: 10.1111/j.1399-3062.2004.00069.x
34. Чукурина Ю.Ю., Москалец О.В., Яздовский В.В. и др. Клинико-иммунологические параллели при перипротезной инфекции после тотального эндопротезирования крупных суставов. Казанский медицинский журнал 2016;97(4):514–8.
DOI: 10.17750/KMJ2016-514
Chuksina Yu.Yu., Moskalets O.V., Yazdovsky V.V. et al. Clinical and immunological parallels in periprosthetic infection after total large joints arthroplasty. Kazanskiy meditsinskiy zhurnal = Kazan Medical Journal 2016;97(4):514–8. (In Russ.).
DOI: 10.17750/KMJ2016-514

Вклад авторов

Ю.Ю. Чукурина, Т.А. Митина: разработка концепции и дизайна статьи, сбор и обработка данных, анализ и интерпретация данных, подготовка статьи;

С.Г. Захаров: разработка концепции и дизайна статьи, обоснование и проверка критически важного интеллектуального содержания.

Authors' contributions

Yu.Yu. Chuksina, T.A. Mitina: concept and design development, data collection and processing, data analysis and interpretation, article writing;

S.G. Zakharov: concept and design development, verification of critical intellectual content.

ORCID авторов / ORCID of authors

Ю.Ю. Чукурина / Yu.Yu. Chuksina: <https://orcid.org/0000-0002-4393-1759>

С.Г. Захаров / S.G. Zakharov: <https://orcid.org/0000-0003-2847-4374>

Т.А. Митина / T.A. Mitina: <https://orcid.org/0000-0001-7493-0030>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» (протокол № 6 от 12.05.2022).

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of M.F. Vladimirovskiy Moscow Regional Research Clinical Institute (protocol No. 6 dated 12.05.2022).

All patients gave written informed consent to participate in the study.