

DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2024-19-4-108-114>

CC BY 4.0

Клинико-прогностическая значимость Т-регуляторных клеток и экспрессии CD28 на Т-лимфоцитах у больных иммунной тромбоцитопенией

Ю.Ю. Чуксина^{1,2}, С.Г. Захаров¹, Т.А. Митина¹, А.Н. Хмелевская²¹ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; Россия, 129110 Москва, ул. Щепкина, 61/2;²ГБУЗ г. Москвы «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 111123 Москва, ул. Новогиреевская, 1, корп. 1**Контакты:** Юлия Юрьевна Чуксина tchuxina2009@yandex.ru

Введение. Ведущую роль в контроле иммунного ответа и периферической толерантности играют Т-регуляторные клетки, а также костимулирующие молекулы CD28 на Т-лимфоцитах, необходимые для эффективной активации. Если Т-регуляторные клетки при иммунной тромбоцитопении (ИТП) активно изучаются в целях поиска эффективного влияния на их функции, то исследования процессов костимуляции при данном заболевании достаточно редки. С учетом выраженного иммуносупрессивного действия применяемых в лечении больных ИТП глюкокортикостероидов (ГКС) особенно актуально изучение роли Т-регуляторных клеток и особенностей экспрессии костимулирующих молекул CD28 на Т-лимфоцитах для расширения представлений о патогенезе заболевания и обоснования новых подходов к лечению пациентов в реальной клинической практике.

Цель исследования – оценить клинико-прогностическую значимость Т-регуляторных клеток и экспрессии CD28 на Т-лимфоцитах периферической крови у больных впервые выявленной ИТП и имеющих резистентность к терапии ГКС.

Материалы и методы. Исследовано содержание Т-регуляторных клеток и особенностей экспрессии CD28 на Т-лимфоцитах периферической крови методом проточной цитометрии у 18 пациентов с впервые выявленной ИТП и у 19 пациентов, имеющих резистентность к терапии ГКС. В качестве контрольной группы обследованы 30 практически здоровых лиц.

Результаты. Выявлено значимое ($p < 0,05$) снижение содержания классических Т-регуляторных клеток ($CD4^+CD25^{hi}CD127^-$) как у больных впервые выявленной ИТП, так и имеющих резистентность к ГКС, в то время как не получено существенных различий в уровне периферических Т-регуляторных клеток с фенотипом $CD8^+CD28^-$ у больных ИТП обеих групп по сравнению с практически здоровыми лицами. У пациентов с ИТП обеих групп обнаружено выраженное увеличение доли Т-хелперных ($p < 0,05$; $p < 0,01$ соответственно) и цитотоксических $CD8^+$ -Т-лимфоцитов ($p < 0,05$; $p < 0,01$ соответственно), экспрессирующих CD28, по сравнению с нормальными показателями. Уровень Т-хелперных лимфоцитов ($CD4^+CD28^-$) был в 2 раза выше в группе пациентов с резистентностью к ГКС по сравнению с пациентами с впервые выявленной ИТП, а по сравнению с практически здоровыми – в 3,5 раза.

Заключение. Т-регуляторные клетки и экспрессия костимулирующих молекул CD28 играют важную роль в иммунопатогенезе ИТП.

Выраженное увеличение содержания популяции $CD4^+CD28^{null}$ -лимфоцитов ($CD4^+CD28^-$) в периферической крови пациентов с ИТП может быть прогностическим критерием резистентности к терапии ГКС, что может потребовать пересмотра стратегии лечения.

Ключевые слова: иммунная тромбоцитопения, Т-регуляторная клетка, костимулирующая молекула CD28, проточная цитометрия

Для цитирования: 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: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2024-19-4-108-114>

Clinical and prognostic significance of T-regulatory cells and CD28 expression on T-lymphocytes in patients with immune thrombocytopenia

Yu. Yu. Chuksina^{1,2}, S.G. Zakharov¹, T.A. Mitina¹, A.N. Khmelevskaya²

¹M.F. Vladimirovskiy Moscow Regional Research Clinical Institute; 61/2 Shchepkina St., Moscow 129110, Russia;

²A.S. Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow Healthcare Department; Build. 1, 1 Novogireevskaya St., Moscow 111123, Russia

Contacts: Yulia Yuryevna Chuksina tchuxina2009@yandex.ru

Background. The leading role in the control of the immune response and peripheral tolerance is played by T-regulatory cells, as well as costimulatory molecules CD28 on T-lymphocytes, which are necessary for effective activation. While T-regulatory cells in immune thrombocytopenia (ITP) are actively studied in order to find an effective influence on their functions, publications on the study of costimulation processes in this disease are quite rare. Given the pronounced immunosuppressive effect of glucocorticosteroids (GCS) used in the treatment of patients with ITP, it seems particularly relevant to study the role of T-regulatory cells and the expression features of costimulatory CD28 molecules on T-lymphocytes to expand our understanding of the disease pathogenesis and justify new approaches to treating patients in real clinical practice.

Aim. To evaluate the clinical and prognostic significance of T-regulatory cells and CD28 expression on peripheral blood T-lymphocytes in patients with newly diagnosed ITP and resistant to GCS therapy.

Materials and methods. The content of T-regulatory cells and CD28 expression features on peripheral blood T-lymphocytes were studied by flow cytometry in 18 patients with newly diagnosed ITP and 19 patients resistant to GCS therapy. Thirty healthy individuals were examined as a control group.

Results. A significant ($p < 0.05$) decrease in the content of classical T-regulatory cells ($CD4^+CD25^{hi}CD127^-$) was revealed both in patients with newly diagnosed ITP and in those resistant to GCS, while no significant differences were found in $CD8^+CD28^-$ peripheral T-regulatory cells level in patients with ITP of both groups compared to healthy individuals. In patients with ITP of both groups, a significant increase in the proportion of T-helper ($p < 0.05$; $p < 0.01$, respectively) and cytotoxic $CD8^+$ ($p < 0.05$; $p < 0.01$, respectively) T-lymphocytes expressing CD28 was found compared to normal values. The level of T-helper lymphocytes ($CD4^+CD28^+$) was 2 times higher in the group of patients with resistance to GCS compared to newly diagnosed ITP patients, and 3.5 times higher compared to healthy individuals.

Conclusion. T-regulatory cells and expression of CD28 costimulatory molecules play an important role in the immunopathogenesis of ITP.

A significant increase in the content of the $CD4^+CD28^{null}$ -lymphocyte population ($CD4^+CD28^-$) in the peripheral blood of ITP patients can be a prognostic criterion for GCS resistance, which may require a revision of the treatment strategy.

Keywords: immune thrombocytopenia, T-regulatory cell, CD28 costimulatory molecule, flow cytometry

For citation: 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. *Onkologematologiya* = *Oncohematology* 2024;19(4):108–14. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2024-19-4-108-114>

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 $< 100,0 \times 10^9/\text{л}$ и наличием/отсутствием геморрагического синдрома различной степени выраженности [1–3].

По мнению некоторых исследователей, ИТП не следует путать с устаревшим понятием идиопатической тромбоцитопенической пурпуры: ИТП больше не считается идиопатическим заболеванием, и у части пациентов нет пурпуры [4, 5].

Начальные события, приводящие к развитию антитромбоцитарных реакций аутоиммунного характера, не до конца изучены. Общие эффекторские функции цитотоксических Т-лимфоцитов и аутоантител, продуцируемых В-клетками, включают нарушение тромбоцитопоеза мегакариоцитами в костном мозге, индуцирование апоптоза и усиление десиализации тромбоцитов (потеря конечной сиаловой кислоты с поверхности), что приводит к увеличению их клиренса [6]. Аутоантитела могут дополнительно стимулировать отложение

С3b в тромбоцитах, инициируя активацию компонента, в то время как цитотоксические Т-эффекторы могут непосредственно лизировать тромбоциты. Доказаны факты развития аутоиммунных реакций при ИТП, опосредованных цитотоксическими $CD8^+$ -Т-лимфоцитами, без участия аутоантител [7, 8].

Стимуляция адаптивного иммунного ответа аналогична: макрофаги селезенки и дендритные клетки могут фагоцитировать фрагменты тромбоцитов для представления их Т-хелперным лимфоцитам, которые индуцируют дифференцировку В-клеток в плазматические клетки, секретирующие аутоантитела, а также могут стимулировать цитотоксические эффекторные механизмы. Этот процесс опосредован Т-регуляторными клетками, количество и функции которых разбалансированы у пациентов с ИТП, что приводит к недостаточному контролю аутоиммунного ответа и нарушению иммунологической толерантности. В последние годы ведется активное изучение таких клеток в целях поиска эффективных способов влияния на их активность и численность.

Основной субпопуляцией Т-регуляторных клеток считаются естественные классические $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ -Т-регуляторные клетки, которые формируются в процессе нормальной дифференцировки в тимусе,

а не под действием антигенной стимуляции. Эти клетки преобладают в кровотоке и лимфатических узлах, участвуют в обеспечении толерантности к аутоантигенам [9, 10].

Адаптивные Т-регуляторные клетки могут дифференцироваться на периферии из общих с Т-эффекторами предшественников при условии неполноценной презентации аутоантигена и недостаточной костимуляции. Для Т-регуляторных клеток характерна экспрессия поверхностных молекул CD4, CD25, CTLA4, GITR, CD28, для их развития нужны костимулирующие молекулы CD80/CD86, CD28 или CD40/CD40L [11–13].

Фенотипические особенности Т-регуляторных клеток определяют выраженную гетерогенность их функций: кроме CD4⁺CD25⁺-Т-клеток, в качестве кандидатов на роль Т-регуляторных клеток рассматривались NK-клетки, $\gamma\delta$ T-клетки, CD8⁺CD122⁺FOXP3⁺-Т-клетки. Регуляторные клетки с фенотипом CD8⁺CD28⁻ супрессируют аллореактивность Т-клеток, их роль более всего изучена при противоопухолевом иммунитете [14, 15], отторжении трансплантата [16], но недостаточно изучена при аутоиммунной патологии.

С другой стороны, появляется все больше доказательств того, что первичными регуляторами Т-клеточных иммунных ответов и периферической толерантности при аутоиммунной патологии наряду с сигналом Т-клеточного рецептора являются сигнальные костимулирующие молекулы CD28 и цитотоксический Т-лимфоцитарный антиген 4 (CTLA-4, CD152). В то время как CD28 в первую очередь активирует Т-клеточные процессы, CTLA-4 ингибирует их [17]. Механизмы этих процессов требуют всестороннего изучения. Глюкокортикостероиды (ГКС), такие как преднизолон, метилпреднизолон и дексаметазон, являются препаратами 1-й линии терапии для пациентов с впервые выявленным заболеванием с известным профилем эффективности и безопасности, но могут вызывать серьезные побочные эффекты [18]. Эффективность 1-го курса терапии ГКС составляет 70–80 %, однако ремиссия редко (у 20–30 %) бывает стабильной. Высокие дозы дексаметазона эффективны у 86 % пациентов с сохранением ответа в течение 8 мес. Стойкий ответ достигается у 50 % пациентов с впервые выявленной ИТП [1, 19, 20].

Механизм иммуносупрессии при лечении ГКС включает воздействие на клеточные и молекулярные компоненты иммунной системы, снижение продукции цитокинов, миграции лейкоцитов, презентации антигенов и дифференцировки лимфоцитов, что приводит к ослаблению иммунного ответа организма, ограничивает стимуляцию адаптивного иммунного ответа [21].

С учетом выраженного воздействия ГКС на показатели иммунной системы особенно актуально изучение роли Т-регуляторных клеток и особенностей экспрессии костимулирующих молекул Т-клеточных элементов адаптивного иммунитета у пациентов с ИТП

для расширения представлений о ее патогенезе, а также обоснования новых подходов к лечению пациентов в реальной клинической практике.

Цель исследования — оценить клинико-прогностическую значимость Т-регуляторных клеток с различным фенотипом и экспрессии костимулирующей молекулы CD28 на Т-лимфоцитах периферической крови (ПК) у больных впервые выявленной ИТП и имеющих резистентность к терапии ГКС.

Материалы и методы

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

В исследование вошли 18 пациентов с впервые выявленной ИТП и 19, имеющих резистентность к терапии ГКС. Диапазон возраста составил 33–80 лет, у 8 (66 %) пациентов с впервые выявленной ИТП отмечался геморрагический синдром различной степени выраженности. Уровень тромбоцитов в ПК больных определялся в диапазоне $6000–150\,000 \times 10^9/\text{л}$, у 89 % больных обнаружены аутоантитела к тромбоцитарным антигенам (в диапазоне 450–640 %). Из 19 пациентов, имеющих резистентность к ГКС, 5 переведены на препарат 2-й линии элтромбопаг, остальным 14 пациентам еще не подобрана терапия. В качестве контрольной группы обследованы 30 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту.

У всех пациентов с ИТП проведено исследование популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов ПК методом проточной цитометрии с использованием панели моноклональных антител к дифференцировочным антигенам лимфоцитов ПК. Проанализировано содержание Т-лимфоцитов (CD3⁺), В-лимфоцитов (CD19⁺), NK-клеток (CD3⁺CD16⁺CD56⁺), Т-хелперной (CD3⁺CD4⁺), Т-цитотоксической (CD3⁺CD8⁺) и NKT-субпопуляций (CD3⁺CD16⁺CD56⁺) в пределах гейта CD45⁺-лимфоцитов. Относительное содержание Т-регуляторных клеток с различным фенотипом (CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻, CD8⁺CD28⁻) и особенности экспрессии костимулирующей молекулы CD28 на Т-лимфоцитах оценивали в пределах гейта Т-лимфоцитов (CD3⁺). Статистический анализ проведен с помощью теста Краскела–Уоллиса. Данные представлены в виде медианы 25–75 %. Уровень статистической значимости принят равным 0,05.

Результаты

У пациентов с впервые выявленной ИТП и имеющих резистентность к ГКС не выявлено существенных различий по показателям популяционного (Т-, В-, NK-лимфоциты) и субпопуляционного состава Т-лимфоцитов (Т-хелперная, Т-цитотоксическая, NKT-субпопуляция) по сравнению с практически здоровыми лицами.

Данные о содержании Т-регуляторных клеток ПК с различным фенотипом (CD3⁺CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻ и CD8⁺CD28⁻) представлены в табл. 1.

Содержание классических Т-регуляторных клеток у больных впервые выявленной ИТП и имеющих резистентность к ГКС значимо ($p < 0,05$) ниже по сравнению с практически здоровыми лицами, что может свидетельствовать о важной роли этой популяции в патогенезе ИТП. Данные литературы также подтверждают снижение доли такого типа регуляторных Т-лимфоцитов ПК при аутоиммунной патологии. Снижение уровня классических Т-регуляторных клеток в циркуляции у больных ИТП может свидетельствовать об их недостаточном количестве или перераспределении в органы-мишени. С другой стороны, мы не получили значимых различий в уровне периферических Т-регуляторных клеток с фенотипом $CD8^+CD28^-$ (лимфоциты с супрессорной активностью) у больных ИТП обеих групп по сравнению с нормальными значениями, что требует дальнейшего изучения роли таких клеток в патогенезе ИТП.

По данным литературы, $CD8^+CD25^{str+}$ -Т-регуляторные клетки также играют важную роль в регуляции иммунитета. Они могут ингибировать активацию и пролиферацию аутореактивных Т-клеток и снижать секрецию провоспалительных цитокинов за счет экспрессии высоких уровней FOXP3, а также ГКС-индуцированного рецептора фактора некроза опухоли, рецептора фактора некроза опухоли типа 2 и CTLA-4, индуцирующих апоптоз активированных Т-клеток. Как показали результаты группы исследователей, уровни $CD8^+CD25^{str+}$ -Т-регуляторных клеток в когорте пациентов с ИТП, имеющих чувствительность к препаратам ГКС, были значительно выше, чем в группе, не имеющей чувствительности, в то время как явных изменений уровня $CD4^+$ -Т-регуляторных клеток не выявлено [22]. Эти данные подтверждают, что уровень

$CD8^+CD25^{str+}$ -Т-регуляторных клеток и их подгруппы имеют прогностическую ценность при оценке чувствительности к ГКС у пациентов с ИТП.

Данные оценки экспрессии молекулы CD28 на Т-лимфоцитах ПК представлены в табл. 2.

Как у пациентов с впервые выявленной ИТП, так и у имеющих резистентность к ГКС выявлено выраженное увеличение доли Т-хелперных лимфоцитов, экспрессирующих CD28, по сравнению с практически здоровыми лицами ($p < 0,05$; $p < 0,01$ соответственно). Аналогичные изменения получены и для субпопуляции $CD8^+$ -клеток ($p < 0,05$; $p < 0,01$ соответственно). Выявленный нами факт может свидетельствовать об усилении активирующего сигнала от Т-клетки по отношению к антигенпрезентирующей клетке (коактивационный путь $CD80/CD86-CD28$) [23].

С другой стороны, мы обнаружили, что содержание Т-хелперных лимфоцитов с отсутствием экспрессии данной костимулирующей молекулы (подмножество клеток $CD4^+CD28^-$) было в 2 раза выше в группе пациентов с ИТП при развитии у них резистентности к ГКС ($p < 0,05$) по сравнению с пациентами с впервые выявленной ИТП, а по сравнению с практически здоровыми лицами — в 3,5 раза ($p < 0,05$).

По данным анализа экспрессии раннего активационного антигена CD25 (R-IL-2) на Т-лимфоцитах ПК у пациентов с ИТП, не выявлено существенных различий в содержании $CD4^+CD25^+$ -клеток у больных ИТП в обеих группах по сравнению со здоровыми испытуемыми.

Обсуждение

Подмножество Т-хелперных лимфоцитов ($CD4^+CD28^-$) пока недостаточно изучено, в последнее время наблюдается всплеск интереса исследователей к данной

Таблица 1. Содержание Т-регуляторных клеток периферической крови у пациентов с иммунной тромбоцитопенией (ИТП) в пределах гейта $CD3^+$ -лимфоцитов, % (медиана 25–75 %)

Table 1. Content of peripheral blood T-regulatory cells in patients with immune thrombocytopenia (ITP) within the $CD3^+$ lymphocyte gate, % (median 25–75 %)

Клетки Cells	Впервые выявленная ИТП ($n = 18$) (группа 1) Newly diagnosed ITP ($n = 18$) (group 1)	Резистентность к терапии ГКС ($n = 19$) (группа 2) GCS resistance ($n = 19$) (group 2)	Практически здоровые лица ($n = 30$) (группа 3) Healthy individuals ($n = 30$) (group 3)	p		
				1-2	1-3	2-3
Классические Т-регуляторные ($CD4^+CD25^{hi}CD127^-$) Classical T-regulatory cells ($CD4^+CD25^{hi}CD127^-$)	6,55 (5,60–8,30)	7,00 (6,30–8,42)	8,80 (7,80–9,30)	1,00	0,049	0,049
Периферические Т-регуляторные ($CD8^+CD28^-$) Peripheral T-regulatory cells ($CD8^+CD28^-$)	17,20 (9,90–25,80)	18,20 (14,00–25,45)	12,80 (11,70–20,50)	1,00	1,00	0,354

Примечание. Здесь и в табл. 2: ГКС — глюкокортикостероиды; жирным выделены значения $p < 0,05$.

Note. Here and in Table 2: GCS — glucocorticosteroids; values $p < 0.05$ are highlighted in bold.

Таблица 2. Экспрессия костимулирующей молекулы CD28 и активационного антигена CD25 на Т-лимфоцитах периферической крови у пациентов с иммунной тромбоцитопенией (ИТП) (доля клеток в пределах гейта CD3⁺-лимфоцитов), % (медиана 25–75 %)

Table 2. Expression of CD28 costimulatory molecule and CD25 activation antigen on peripheral blood T-lymphocytes in patients with immune thrombocytopenia (ITP) (proportion of cells within the CD3⁺ lymphocyte gate), % (median 25–75 %)

Клетки Cells	Впервые выявленная ИТП (n = 18) (группа 1) Newly diagnosed ITP (n = 18) (group 1)	Резистентность к терапии ГКС (n = 19) (группа 2) GCS resistance (n = 19) (group 2)	Практически здоровые лица (n = 30) (группа 3) Healthy individuals (n = 30) (group 3)	p		
				1-2	1-3	2-3
CD4 ⁺ CD28 ⁺	57,30 (47,02–62,12)	60,65 (44,55–63,80)	40,90 (40,00–45,80)	1,00	0,010	0,007
CD4 ⁺ CD28 [–]	2,30 (1,30–3,30)	6,20 (2,70–13,60)	1,42 (0,92–2,25)	0,041	0,517	0,049
CD8 ⁺ CD28 ⁺	18,70 (16,25–23,12)	18,85 (18,20–20,10)	16,00 (12,50–17,70)	1,00	0,017	0,002
CD4 ⁺ CD25 ⁺	13,05 (9,30–18,00)	17,40 (11,02–21,82)	18,10 (13,93–24,60)	1,00	1,00	1,00

популяции. Их называют CD4⁺CD28^{null}-лимфоцитами — терминально-дифференцированными эффекторными клетками памяти, число которых увеличивается с возрастом. Кроме того, они не восприимчивы к подавляющему действию CD4⁺CD25⁺-регуляторных Т-лимфоцитов, экспрессируют маркеры эндотелиального хоминга (CX3CR1) и фенотипические маркеры цитотоксичности (NKG2D и перфорин), которые указывают на их способность проникать в ткани и вызывать их повреждение.

С другой стороны, исследователи не наблюдали их реактивность к основному белку миелина и коллагену 2-го типа при рассеянном склерозе и ревматоидном артрите, что не указывало на их прямую аутоагрессивную роль при этих аутоиммунных заболеваниях [24]. В других работах показана роль цитомегаловируса, вируса герпеса в экспансии CD4⁺CD28^{null}-лимфоцитов при таких аутоиммунных заболеваниях, как рассеянный склероз, системная красная волчанка, ревматоидный артрит, а также связь их количества с тяжестью заболевания [25]. Исследователи обсуждают связь проатерогенных CD4⁺CD28^{null}-лимфоцитов с цитомегаловирусной инфекцией и повышенным риском смерти от сердечно-сосудистых заболеваний [26]. Повышенная частота этой атипичной популяции цитотоксических CD4⁺CD28^{null}-клеток связана с низкой скоростью клубочковой фильтрации и дисфункцией почечного трансплантата [27]. Потеря CD28 в подмножествах CD4⁺-Т-клеток у пациенток с раком шейки матки сопровождалась приобретением внутриклеточного перфорина и дополнительно усиливалась экспрессией NKG2D [28].

В целом такую популяцию клеток можно охарактеризовать как цитотоксическую, которая накапливается при инфекционных, аутоиммунных, сердечно-сосудистых и нейродегенеративных заболеваниях. Некоторые исследователи рассматривают эту популяцию в качестве иммунологического маркера прогноза и неблагоприятных исходов как при старении, так и при заболеваниях, а также в качестве интервенционной стратегии для предотвращения или замед-

ления процессов иммунного старения и прогрессирования заболеваний [29].

Возможно, выявленное нами увеличение содержания субпопуляции CD4⁺CD28[–]-лимфоцитов в ПК при мониторинге пациентов с ИТП, получающих терапию ГКС, может быть предиктором резистентности больных к данной терапии.

Заключение

У пациентов с ИТП в клетках иммунной системы обнаружены функциональные нарушения, влекущие за собой срыв механизмов иммунологической толерантности, при которых в итоге развиваются гуморальные и цитотоксические клеточные реакции аутоагрессии против антигенов тромбоцитов и мегакариоцитов. Мы показали значительную роль классической популяции Т-регуляторных клеток в иммунопатогенезе данного заболевания у пациентов с впервые выявленной ИТП, а также у больных с резистентностью к терапии ГКС.

Обнаружение у пациентов существенного увеличения экспрессии костимулирующей молекулы CD28 на Т-хелперных и Т-цитотоксических лимфоцитах ПК может свидетельствовать о наличии избыточного иммунного ответа не только в дебюте заболевания, но и при резистентности к терапии 1-й линии.

Выраженное увеличение содержания в ПК субпопуляции Т-хелперных лимфоцитов, не экспрессирующих костимулирующую молекулу CD28 (CD4⁺CD28[–]) при мониторинге пациентов с ИТП, получающих терапию ГКС, может быть прогностическим критерием резистентности больных к данной терапии, что может потребовать пересмотра стратегии лечения.

С другой стороны, выявленный факт может свидетельствовать о появлении популяции клеток, оказывающих супрессивный эффект на аутоиммунные механизмы под влиянием терапии ГКС, что является основанием для проведения дальнейших исследований в группе пациентов, имеющих чувствительность к терапии ГКС, а также оценки влияния препаратов 2-й и последующих линий терапии на эти показатели.

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). Clinical recommendations. Idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) in adults. 2021. Available at: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/150_2 (accessed 04.02.2024). (In Russ.).
2. Ковалева Л.Г., Сафонова Т.И. Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП) взрослых. Первичная иммунная тромбоцитопения (ИТП) взрослых. Болезнь Верльгофа. Доступно по: https://rusneb.ru/catalog/000200_000018_RU_NLR_BIBL_A_010699665/ (дата обращения 04.02.2024). Kovaleva L.G., Safonova T.I. Idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) of adults. Primary immune thrombocytopenia (ITP) in adults. Werlhof's disease. Available at: https://rusneb.ru/catalog/000200_000018_RU_NLR_BIBL_A_010699665/ (accessed 04.02.2024). (In Russ.).
3. Provan D., Arnold D.M., Bussell J.B. et al. Updated international consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood Adv* 2019;3(22):3780–817. DOI: 10.1182/bloodadvances-2019000812
4. Rodeghiero F., Stasi R., Gernsheimer T. et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from international working group. *Blood* 2009;113(11):2386–93. DOI: 10.1182/blood-2008-07-162503
5. Michel M. Immune thrombocytopenia nomenclature, consensus reports, and guidelines: what are the consequences for daily practice and clinical research? *Semin Hematol* 2013;50(Suppl 1):550–4. DOI: 10.1053/J.Seminhematol.2013.03.008
6. Grozovsky R., Begonja A.J., Liu K. et al. The Ashwell–Morell receptor regulates hepatic thrombopoietin production via JAK2-STAT3 signaling. *Nat Med* 2015;21(1):47–54. DOI: 10.1038/nm.3770
7. 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
8. 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
9. Sakaguchi S., Sakaguchi N., Shimizu J. et al. Immunologic tolerance maintained by CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. *Immunol Rev* 2001;182:18–32. DOI: 10.1034/j.1600-065x.2001.1820102.x
10. Sakaguchi S., Yamaguchi T., Nomura T., Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell* 2008;133(5):775–87. DOI: 10.1016/j.cell.2008.05.009
11. Фрейдлин И.С. Регуляторные Т-клетки: происхождение и функции. Медицинская иммунология 2005;7(4):347–54. DOI: 10.15789/1563-0625-2005-4-347-354 Freydlin I.S. Tregulatory T-cells: origin and function. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology* 2005;7(4):347–54. (In Russ.). DOI: 10.1016/j.cell.2008.05.009
12. Zheng S.G., Wang J., Wang P. et al. IL-2 is essential for TGF- β to convert naive CD4⁺CD25⁺ cells to CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells and for expansion of these cells. *J Immunol* 2007;178(4):2018–27. DOI: 10.4049/jimmunol.178.4.2018
13. Shevryev D., Tereshchenko V. Treg heterogeneity, function, and homeostasis. *Front Immunol* 2020;10:3100. DOI: 10.3389/fimmu.2019.03100
14. Кадагидзе З.Г., Черткова А.И. Иммунная система и рак. Практическая онкология 2016;17(2):62–73. Kadagidze Z.G., Chertkova A.I. Immunity and cancer. *Prakticheskaya onkologiya = Practical Oncology* 2016;17(2):62–73. (In Russ.).
15. Huff W.X., Kwon J.H., Henriquez M. et al. The evolving role of CD8⁺CD28[–] immunosenescent T cells in cancer immunology. *Int J Mol Sci* 2019;20(11):2810. DOI: 10.3390/ijms20112810
16. Hui E., Cheung J., Zhu J. et al. T cell costimulatory receptor CD28 is a primary target for PD-1 mediated inhibition. *Science* 2017;355(6332):1428–33. DOI: 10.1126/science.aaf1292
17. Brunner-Weinzierl M.C., Hoff H., Burmester G.R. Multiple function for CD28 and cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 during different phases of T-cell responses: implications for arthritis and autoimmune diseases. *Arthritis Res Ther* 2004;6(2):45–54. DOI: 10.1186/ar1158
18. 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 Zakharov S.G., Mitina T.A., Zakharova A.V. et al. Glucocorticosteroid-induced complications in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2023;18(4):233–43. (In Russ.). DOI: 10.17650/1818-8346-2023-18-4-233-243
19. Меликян А.Л., Пустовая Е.И., Калинина М.В. и др. Эпидемиологические характеристики первичной иммунной тромбоцитопении у взрослого населения в Российской Федерации. Клиническая онкогематология 2017;4(10): 558–9. Melikyan A.L., Pustovaya E.I., Kalinina M.V. et al. Epidemiological characteristics of primary immune thrombocytopenia in adult population of the Russian Federation. *Klinicheskaya onkogematologiya = Clinical Oncohematology* 2017;4(10):558–9. (In Russ.).
20. Меликян А.Л., Пустовая Е.И., Егорова Е.К. и др. Дифференциальная диагностика тромбоцитопений. Онкогематология 2017;12(1):78–87. DOI: 10.17650/1818-8346-2017-12-1-78-87 Melikyan A.L., Pustovaya E.I., Egorova E.K. et al. Differential diagnosis of thrombocytopenies. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2017;12(1):78–87. (In Russ.). DOI: 10.17650/1818-8346-2017-12-1-78-87
21. 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
22. Li L., Zhao Y., Tong X. et al. The predictive value of regulatory T cells on glucocorticoid sensitivity in patients with immune thrombocytopenia: a multicentre, prospective clinical study. *Br J Haematol* 2021;193(3):619–27. DOI: 10.1111/bjh.17368
23. Ярилин А.А. Адаптивный иммунитет. В кн.: Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. С. 231–512. Yarilin A.A. Adaptive immunity. In: *Immunology*. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. Pp. 231–512. (In Russ.).
24. Thewissen M., Somers V., Hellings N. et al. CD4⁺CD28^{null} T cells in autoimmune disease: pathogenic features and decreased susceptibility to immunoregulation. *J Immunol* 2007;179(10): 6514–23. DOI: 10.4049/jimmunol.179.10.6514
25. Bano A., Pera A., Almoukayed A. et al. CD28^{null}CD4 T-cell expansions in autoimmune disease suggest a link with cytomegalovirus infection. *F1000Res* 2019;8:F1000 Faculty Rev-327. DOI: 10.12688/f1000research.17119.1
26. Pera A., Caserta S., Albanese F. et al. CD28^{null} pro-atherogenic CD4 T-cells explain the link between CMV infection and an increased risk of cardiovascular death. *Theranostics* 2018;8(16):4509–19. DOI: 10.7150/thno.27428
27. Shabir S., Smith H., Kaul B. et al. Cytomegalovirus-associated CD4⁺CD28^{null} cells in NKG2D-dependent glomerular endothelial injury and kidney allograft dysfunction. *Am J Transplant* 2016;16(4):1113–28. DOI: 10.1111/ajt.13614
28. Escarra-Senmarti M., Bueno-Topete M.R., Jave-Suarez L.F. et al. Loss of CD28 within CD4⁺ T cell subsets from cervical cancer patients is accompanied by the acquisition of intracellular perforin, and is further enhanced by NKG2D expression. *Immunol Lett* 2017;182:30–8. DOI: 10.1016/j.imlet.2017.01.006
29. Guan Y., Cao M., Wu X. et al. CD28^{null} T cells in aging and diseases: from biology to assessment and intervention. *Int Immunopharmacol* 2024;131:111807. DOI: 10.1016/j.intimp.2024.111807

Вклад авторов

Ю.Ю. Чуксина: разработка концепции и дизайна статьи, сбор и обработка данных, анализ и интерпретация данных, подготовка статьи;
С.Г. Захаров: разработка концепции и дизайна статьи, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания, подготовка статьи;

Т.А. Митина, А.Н. Хмелевская: сбор и обработка данных, анализ и интерпретация данных, подготовка статьи.

Authors' contributions

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

S.G. Zakharov: concept and design development, rationale for the article and verification of critical intellectual content, article writing;

T.A. Mitina, A.N. Khmelevskaya: data collection and processing, data analysis and interpretation, article writing.

ORCID авторов / ORCID of authors

Ю.Ю. Чуксина / 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>

А.Н. Хмелевская / A.N. Khmelevskaya: <https://orcid.org/0009-0005-6618-0707>

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 от № 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. Vladimirskiy Moscow Regional Research Clinical Institute. Protocol No. 6 dated 12.05.2022.

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