

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

К МОЛЕКУЛЯРНОЙ ХАРАКТЕРИСТИКЕ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

И.Р. Колосова¹, Е.Р. Полосухина², А.Ю. Барышников², Г.В. Лукина¹, Я.А. Сигидин¹.

¹ГУ Институт ревматологии РАМН,

²Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Резюме

Цель. Исследование фенотипа лимфоцитов при ревматоидном артрите (РА) и его динамики под влиянием терапии метотрексатом (МТ).

Материал и методы.

Исследованы 24 больных РА с высокой клинико-лабораторной активностью заболевания, контрольная группа - 18 здоровых доноров. В качестве базисной терапии больным назначался МТ в дозе 7,5-15 мг/нед. Срок наблюдения 6 мес.

Определение экспрессии CD3, CD5, CD7, CD8, CD16, CD18, CD19, CD20, CD25, CD26, CD50, CD54, HLA-DR, CD95 на лимфоцитах периферической крови до и после лечения проводилось иммунофлуоресцентным методом.

Результаты. У больных РА было выявлено уменьшение процента лимфоцитов, экспрессирующих антигены CD8 (больные и здоровые соответственно $23,5 \pm 6,9\%$ и $29,0 \pm 9,0\%$, $p < 0,05$), CD18 ($71,8 \pm 19,0\%$ и $83,0 \pm 13,0\%$, $p < 0,05$), CD50 ($73,7 \pm 16,8\%$ и $83,5 \pm 11,3\%$, $p < 0,05$).

Под влиянием МТ отмечено снижение процента лимфоцитов, экспрессирующих CD50 (с $75,2 \pm 15,0\%$ до $58,7 \pm 24,5\%$, $p < 0,05$) и CD26 ($24,3 \pm 14,6\%$ до $15,7 \pm 12,2\%$, $p < 0,05$).

Заключение. Особенностью лимфоцитов периферической крови больных РА является уменьшение процента клеток, несущих CD8 антигены. Обнаруживается уменьшение экспрессии молекул адгезии CD18 и CD50, что может быть вызвано избирательной миграцией эффекторных клеток, несущих на своей мембране эти молекулы, в воспаленную синовию. Терапия МТ уменьшает экспрессию ряда молекул адгезии. Одним из механизмов антиревматического действия МТ является также его способность уменьшать экспрессию активационного маркера лимфоцитов CD26.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, метотрексат, лейкоцитарный фенотип.

Ревматоидный артрит (РА) - аутоиммунное системное заболевание соединительной ткани, основным клиническим проявлением которого является хронический симметричный деструктивный полиартрит [3]. За последние годы достигнуты значительные успехи в изучении молекулярной биологии основного патологического процесса при этом заболевании и, прежде всего, в установлении роли функционально существенных молекул на поверхности лимфоцитов и других клеток. Эти молекулы, обозначаемые буквами CD (от английского cluster of differentiation) с соответствующим номером, играют ключевую роль в функционировании клеток, клеточном взаимодействии и в развитии иммунных (в том числе аутоиммунных) и воспалительных реакций. По своей химической структуре они относятся к белкам, полипептидам и гликопротеинам. Обнаружение конкретных молекул CD на поверхности клеток позволяет судить о типе клеток, их функциональном состоянии и об их возможном участии в иммунном процессе. Особое внимание в этом отношении привлекают лимфоциты, являющиеся главными иммунокомпетентными клетками.

У большинства больных РА лимфоциты обладают высоким уровнем предшествующей активации. Под активацией понимается переход клетки в состояние, с которым связано выполнение клеткой ее функций и тем самым проявление ее специфической активности. Основой активации лимфоцитов служит система поступающих сигналов, главным из которых является связывание рецептора лимфоци-

та со специфическим для него антигенным пептидом [5]. В синовиальной жидкости больных РА наблюдается коэкспрессия как ранних активационных маркеров (самый ранний - CD69, ранний - CD25), так и поздних маркеров активации (наличие антигенов гистосовместимости HLA-DR) [6].

Одним из существенных признаков активации иммунокомпетентных клеток является появление на их поверхности молекул адгезии (ICAM, селектины, интегрины и др.) [5], которые обеспечивают взаимодействие клеток между собой, с клетками эндотелия и окружающего матрикса [11]. При РА показана заметная роль Р-селектина, уровень которого тесно коррелировал с активностью заболевания [1,16], а также интегринов и их рецепторов [6]. Значительное повышение уровней ICAM-1 и ICAM-3 выявляется при ревматоидном васкулите [1,17].

Важным активационным маркером Т-клеток считается молекула CD26, которая является ферментом дипептидилпептидазой-4 и относится к сериновым экзопроteaseам. При РА выявляется значительное повышение экспрессии CD26 [9,14], коррелирующее с количеством сывороточного интерферона-гамма (IFN- γ), который способен значительно усиливать аутоиммунные процессы. Активированные Т-клетки, содержащие высокий уровень CD26, у больных РА мигрируют преимущественно в ревматоидную синовию и индуцируют ее воспаление и деструкцию [14]. Предполагается, что молекула CD26 участвует в синтезе таких ключевых цитокинов, как интерлейкин-2 и IFN- γ , а в ревматоидной синовиальной экспрессируется преимущественно Т-клетками памяти [10].

Важная роль молекул адгезии и других активационных антигенов в формировании и поддержании хронического воспаления при РА не вызывает сомнения. Однако хорошо изучен уровень экспрессии лишь отдельных антигенов. О большинстве других поверхностных молекул имеется отрывочная и противоречивая информация. Мало изучено воздействие на них антиревматической терапии. В то же время имеются основания считать, что ряд таких молекул может существенно влиять на особенности развития, течения и эффективности терапии при РА.

В современной базисной терапии РА ведущее место принадлежит метотрексату (МТ). Его высокая терапевтическая эффективность доказана многочисленными контролируруемыми испытаниями [2,4,8,9], причем клиническое улучшение наступает быстрее, чем при лечении другими базисными средствами. В связи с этим мы решили проанализировать экспрессию ряда функционально существенных поверхностных молекул на лимфоцитах периферической крови (ПК) больных РА и изучить влияние МТ на эту экспрессию. Представляло также несомненный интерес проанализировать возможные связи этого влияния с эффектом терапии.

Материал и методы

В открытое контролируемое исследование экспрессии активационных антигенов были включены 24 больных РА и контрольная группа из 18 здоровых доноров (средний возраст 53±16 лет). Все больные получали МТ в дозе 7,5-15 мг/нед. Клиническая характеристика больных, включенных в исследование, представлена в таблице 1.

Таблица 1. Клиническая характеристика больных РА

Число больных		24
Пол	М	3
	Ж	21
Средний возраст, годы		53±13
Средняя длительность заболевания, годы		9,6±8,1
Длительность заболевания, годы	0-3	8
	4-7	4
	8-11	4
	12-15	2
	> 15	6
Активность РА, степень (n)	2	18
	3	6
Рентгенологическая стадия (n)	2	16
	3	5
	4	3
Функциональная недостаточность (n)	1	8
	2	16
Наличие РФ (n)		17
Системные проявления РА (n)		11

Критерии включения в исследование: информированное согласие; достоверность диагноза (соответствие критериям Американской Коллегии Ревматологов); наличие следующих признаков активности болезни: боль не менее 2,5см по 10-сантиметровой визуальной аналоговой шкале (ВАШ), число припухших суставов не менее 3, число болез-

ненных суставов не менее 6, в сочетании по крайней мере с 2 из 3 следующих признаков (утренняя скованность 45мин и более, утомляемость 5см и более по ВАШ, СОЭ 25мм/ч и выше); отсутствие клинически значимых сопутствующих заболеваний; стабильность терапии нестероидными противовоспалительными препаратами (НПВП) в течение не менее 3 мес до начала исследования; неэффективность или непереносимость предшествующих длительно действующих препаратов и их отмена не позже чем за 1 мес до начала исследования.

Критерии исключения: прием глюкокортикоидов; беременность и лактация; сопутствующие инфекции; гемоцитопения.

В период исследования все больные продолжали получать фоновую терапию НПВП (преимущественно диклофенак).

Для оценки эффективности проводимой терапии использовали следующие критерии: выраженность боли в суставах по 10-сантиметровой ВАШ, выраженность утомляемости по ВАШ, длительность утренней скованности в мин, число припухших суставов, число болезненных суставов, индекс припухлости, сила сжатия кисти (в кПа), раздельная оценка тяжести состояния врачом и пациентом по градациям 1 - практически здоров, 2- минимальные изменения, 3 - умеренные, 4- средней тяжести, 5 - тяжелое состояние; СОЭ, уровни фибриногена, серомукоида и С-реактивного белка (СРБ), ревматоидный фактор по данным латекс-теста; раздельная оценка лечебного эффекта врачом и пациентом по следующим градациям: значительное улучшение, улучшение, незначительное улучшение, без перемен, ухудшение. Для оценки переносимости используемых препаратов определяли уровень гемоглобина, количество лейкоцитов и тромбоцитов периферической крови, лейкоцитарную формулу, содержание в сыворотке крови билирубина, аспарагиновой и аланиновой трансаминаз, креатинина; проводили общие анализы мочи.

На лимфоцитах периферической крови проводилось определение экспрессии следующих поверхностных молекул: CD3 (эта молекула присутствует на поверхности Т-клеток и во взаимодействии с рецептором Т-лимфоцитов участвует в передаче активационного сигнала), CD4 (характерна для Т-хелперов, участвует в распознавании антигена, представляемого антиген-представляющей клеткой), CD5 (характерна для зрелых Т-клеток), CD7 (Т-клетки и естественные киллеры), CD8 (цитотоксические и супрессорные Т-клетки и естественные киллеры), CD11b (одна из цепей молекулы адгезии - интегрин), CD16 (опосредует проведение сигнала на естественных киллерах), CD18 (интегрин, взаимодействующий с CD11b и другими молекулами адгезии), CD19 и CD20 (В-клетки и их предшественники), CD25 (активированные Т- и В-клетки), CD26 (дипептидилпептидаза-4, экспрессируется на активированных Т- и В-клетках), CD50 (молекула адгезии ICAM-3), CD54 (молекула адгезии ICAM-1), CD56 (естественные киллеры, некоторые Т-клетки), CD71 (пролиферирующие клетки), CD95 (рецептор, передающий апоптотический сигнал) и HLA-DR (антиген главного комплекса гистосовместимости, участвующий в представлении антигена рецептору Т-лимфоцита). Определение этих молекул на поверхности лимфоцитов осуществлялось с использованием моноклональных антител серии ICO при помощи прямой и непрямой реакций иммунофлюоресценции и выполнялось на базе НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН (директор - проф. А.Ю. Барышников).

Регистрация клинических показателей и забор крови выполнялись до начала лечения и после предполагаемой полной реализации клинического эффекта МТ - через 6 мес терапии.

Статистическая обработка результатов проводилась на персональном компьютере с использованием программного пакета Statistica 5.1. Применялись непараметрические методы (ранговая корреляция по Спирмену, тест Манна-Уит-

ни, точный критерий Фишера), для описания распределения данных были использованы средняя величина (M) и стандартное отклонение (SD).

Результаты и обсуждение

На первом этапе мы исследовали особенности лейкоцитарного фенотипа ПК больных РА по сравнению с группой здоровых лиц (табл. 4).

У больных РА не было выявлено значимого преобладания CD4 лимфоцитов и повышения иммунорегуляторного индекса CD4/CD8. Однако наблюдалось ослабление экспрессии CD8 Т-лимфоцитов (23,5±6,9% и 29,0±9,0%, $p<0,05$). Экспрессия молекул адгезии на лимфоцитах периферической крови больных РА также оказалась сниженной. Уровень экспрессии CD18 при РА составил 71,8±19,0%, у здоровых - 83,0±13,0% ($p<0,05$), уровень экспрессии CD50, соответственно, 73,7±16,8% и 83,5±11,3% ($p<0,05$).

Особенно важными представляются эти находки в связи с достаточно жестким отбором больных, который позволил исключить влияние глюкокортикоидов и базисной терапии на лимфоцитарный фенотип. Возможно, что подобные изменения клонального состава лимфоцитов у пациентов с РА объясняются активной миграцией клеток с выраженной экспрессией молекул адгезии в воспаленную синовию.

Была выявлена обратная корреляционная связь между возрастом больных РА и уровнем экспрессии CD20 ($R = -0,46$). Не было обнаружено корреляций между лимфоцитарным фенотипом и продолжительностью, стадией и степенью активности РА, за исключением выявленной обратной корреляции между уровнем экспрессии CD26 и стадией РА ($R = -0,42$).

При оценке корреляционных связей между клиническими и лабораторными показателями активности РА и фенотипическими особенностями лимфоцитов ПК были получены следующие результаты. Выявлены прямые связи между уровнем утомляемости и CD5 ($R=0,4$), CD7 ($R=0,6$), CD26 ($R=0,4$), CD95 ($R=0,5$), а также между тяжестью состояния по оценке врача и пациента и экспрессией CD71 ($R=0,6$).

Мы обнаружили обратные связи между лабораторными показателями активности ревматоидного процесса и уровнями экспрессии отдельных CD-антигенов: содержание серомукоида и CD54 ($R=-0,47$), СРБ и CD4 ($R=-0,44$).

Следующим этапом исследования было оценить влияние терапии МТ на лимфоцитарный фенотип. Под влиянием МТ наблюдалась положительная динамика 7 из 10 основных клинических показателей (боль в суставах, число припухших, число болезненных суставов, индекс припухлости, сила сжатия правой кисти, тяжесть состояния по оценке врача и больного) и 2 лабораторных (серомукоид, СРБ) показателей активности РА (табл. 2). Наблюдалось уменьшение числа внесуставных проявлений на 19% (с 22 до 18). Среди 20 больных, завершивших 6-мес срок лечения, терапия оказалась эффективной у 60% пациентов: значительное улучшение наблюдалось у 40%, улучшение - у 10%, незначительное - у 10%. Эффект от лечения отсутствовал у 25% больных, ухудшение зафиксировано у 15% больных (табл. 3). Переносимость МТ была удовлетворительной. Спектр и частота побочных реакций в нашем исследовании не отличались от таковых в других исследованиях [2].

При оценке влияния терапии на фенотипические особенности лимфоцитов ПК установлено, что МТ не оказывал заметного действия на основные популяции лимфоцитов (CD4, CD8, CD16, CD20) (табл. 4), что совпадает с данными других исследователей [11]. Однако нами было обнаружено, что под влиянием терапии МТ отмечается значимое снижение процента лимфоцитов, экспрессирующих CD50 (т.е. молекулу адгезии ICAM-3) с 75,2±15,0% до 58,7±24,5%, $p<0,05$ (табл. 4). ICAM-3 является рецептором для $\beta 2$ -интегринов. Она индуцируется на поверхности лимфоцитов при их активации и может играть определенную

Таблица 2. Динамика клинических и лабораторных показателей активности РА под влиянием терапии метотрексатом (МТ)

Показатель	До лечения, n=24	После лечения МТ, n=20
Боль, по ВАШ (0-10 см)	6,5±1,3	4,3±2,8**
Утренняя скованность (мин)	117,0±160,9	86,9±118,8
Число припухших суставов	7,4±4,1	2,7±2,8***
Число болезненных суставов	15,8±7,8	7,1±7,2***
Индекс припухлости	9,0±4,1	2,7±2,8***
Сила сжатия правой кисти (кПа)	64,7±37,7	96,0±47,5**
Сила сжатия левой кисти (кПа)	70,6±50,2	92,0±50,5
Утомляемость, по ВАШ (0-10 см)	6,7±2,0	5,6±2,2
Тяжесть состояния (оценка больного)	3,5±0,6	2,4±1,0**
Тяжесть состояния (оценка врача)	3,5±0,6	2,4±1,0***
Фибриноген (ммоль/л)	4,1±1,3	4,0±0,8
Серомукоид (Ед)	0,46±0,2	0,35±0,1*
СОЭ (мм/ч)	34,8±12,4	25,0±13,5
C-реактивный белок (мг%)	1,7±1,6	1,0±1,0*
Ревматоидный фактор (log титра)	2,0±0,5	1,7±0,9

* $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$.

роль во взаимодействии Т- и В-клеток [5]. Не было выявлено какой-либо зависимости между клиническим эффектом МТ и уровнем экспрессии CD50. Есть данные, что МТ подавляет экспрессию и других молекул адгезии - таких, как Е-селектин и VCAM-1 [8]. Таким образом, можно предположить, что в результате лечения МТ уменьшается интенсивность межклеточных взаимодействий лимфоцитов и их приток в синовию. Возможно, что этот процесс осуществляется опосредованно, через изменение цитокинового баланса. Известно, что экспрессия молекул адгезии на поверхности лимфоцитов увеличивается под влиянием таких цитокинов, как интерлейкин-1, фактор некроза опухоли альфа (TNF α), IFN- γ и др. [6].

Мы обнаружили также, что под влиянием МТ уменьшается экспрессия патогенетически важного маркера активации Т-лимфоцитов - CD26 с 24,3±14,6% до 15,7±12,2%, $p<0,05$ (табл. 4). При оценке динамики этого антигена в зависимости от эффекта терапии было выявлено, что в группе больных с хорошим эффектом терапии отмечалось достоверное снижение экспрессии CD26. В группе больных, резистентных к лечению, статистически значимой динамики экспрессии этого маркера не наблюдалось. Можно предположить, что выраженный клинический эффект МТ и его

Таблица 3. Оценка эффекта терапии МТ

Эффект терапии	Число больных n (%)
Значительное улучшение	8 (40)
Улучшение	2(10)
Незначительное улучшение	2(10)
Нет эффекта	5(25)
Ухудшение	3(15)

Таблица 4. Характеристика лимфоцитарного фенотипа здоровых лиц и больных РА (до и после лечения МТ)

CD-маркер	Здоровые, n=18	Больные РА до лечения, n=24	Больные РА после лечения МТ, n=20
CD-3	65,6±11,4	61,8±11,7	58,7±15,6
CD-4	35,2±10,2	36,0±10,7	31,9±11,3
CD-5	61,3±10,8	55,5±14,1	46,1±18,4
CD-7	58,6±14,1	51,7±14,8	48,3±13,4
CD-8	29,0±9,0	23,5±6,9*	20,3±8,6
CD4/8	1,3±0,6	1,6±1,0	2,1±1,0
CD-11b	20,2±9,9	22,2±11,2	22,3±18,9
CD-16	11,1±6,2	13,0±1,9	12,0±9,4
CD-18	83,0±13,0	71,8±19,0*	55,9±25,1
CD-19		6,6±2,8	7,8±4,2
CD-20	8,1±3,2	7,1±5,7	6,6±3,2
CD-25	4,9±5,1	4,9±4,6	3,4±3,7
CD-26	25,2±12,2	24,2±14,6	15,7±12,2#
CD-50	83,5±11,3	73,7±16,8*	58,7±24,5#
CD-54	9,3±6,6	8,2±8,0	6,5±4,6
CD-56	5,8±3,5	5,1±4,7	5,3±5,0
CD-71	3,7±3,4	4,6±4,7	3,8±4,3
CD-95	25,6±12,3	27,2±17,4	15,0±15,7
HLA-DR	9,1±2,9	9,1±4,2	8,2± 4,7

* p>0,05 - при сравнении показателей в группах больных РА до лечения и здоровых. # - p<0,05 в группе больных РА при сравнении показателей до и после терапии МТ.

способность модулировать цитокиновый профиль осуществляется отчасти посредством влияния на экспрессию CD26.

Была выявлена обратная корреляция между уровнем экспрессии молекулы главного комплекса гистосовместимости HLA-DR до лечения и эффектом терапии МТ (-0,47,

p<0,05). У больных с повышенным уровнем экспрессии HLA-DR (> 2SD от средней в нашем исследовании) терапия МТ оказалась неэффективной (подтверждается методом Фишера, p<0,05).

Не было выявлено корреляционных связей между побочными эффектами от терапии и фенотипическими особенностями лимфоцитов ПК до лечения МТ.

Заключение

Особенностью фенотипа лимфоцитов ПК больных РА оказалось более низкое - по сравнению со здоровыми - количество лимфоцитов, несущих CD8, и преобладание клеток с экспрессией CD4. Выявились также уменьшение процента лимфоцитов, экспрессирующих молекулы адгезии CD18 и CD50. Эти данные в соответствии с существующими представлениями о патогенезе заболевания могут быть объяснены тем, что лимфоциты, имеющие молекулы адгезии, поступают в зоны ревматоидного воспаления, результатом чего оказывается относительное уменьшение процента этих клеток в ПК.

Наше исследование позволило дополнить знания о механизмах действия МТ. Было выявлено, что терапия этим препаратом уменьшает экспрессию молекулы адгезии ICAM-3, уменьшая тем самым участие соответствующих клеток в иммуно-воспалительных реакциях. Важной находкой явилась способность МТ снижать уровень экспрессии дипептидиллениптазы-4 (CD26). Это может приводить к уменьшению продукции таких патогенетически важных цитокинов, как интерлейкин-2 и IFN-γ, с последующим торможением иммунных и воспалительных реакций.

Кроме того, было выявлено, что исходный уровень экспрессии молекулы HLA-DR может оказывать влияние на результаты терапии МТ при РА. При наиболее высокой экспрессии этих молекул, свидетельствующей об активном представлении антигенов (и аутоантигенов) иммунокомпетентным клеткам, клинический эффект МТ был наименьшим. Таким образом, проведенное исследование дает основание полагать, что дальнейшее изучение фенотипа лимфоцитов больных РА в клинических условиях способно расширить представления о патогенетических особенностях заболевания и механизмах действия антиревматической терапии.

ЛИТЕРАТУРА

- Насонов Е.Л., Самсонов М.Ю., Тилз Г.П. и соавт. Растворимые молекулы адгезии (P-селектин, ICAM-1 и ICAM-3) при ревматоидном артрите. Тер. архив, 1999, 5, 17-20.
- Насонов Е.Л. 50 лет применения метотрексата в ревматологии. Русский мед. журнал, 2000, 8-9, 372-376.
- Сигидин Я.А., Лукина Г.В. Ревматоидный артрит. М., "Анко", 2001
- Сигидин Я.А., Лукина Г.В. Базисная (патогенетическая) терапия ревматоидного артрита. М., Новартис, 2000.
- Ярилин А.А. Основы иммунологии. М., Медицина, 1999.
- Ярилина А.А. Роль молекул адгезии в патогенезе ревматоидного артрита. Научно-практич. ревматол., 2000, 1, 61-69.
- Afeltra A., Galeazzi M., Sebastiani G. et al. Coexpression of CD69 and HLA-DR activation markers on synovial fluid T lymphocytes of patients affected by rheumatoid arthritis: a three-color cytometric analysis. Int. J.Exp.Pathol., 1997, 78, 5, 331-336.
- Cutolo M., Sulli A., Pizzorni C. et al. Anti-inflammatory mechanisms of methotrexate in rheumatoid arthritis. Ann. Rheum.Dis., 2001, 60, 729-735.
- Dolhain R., Tak P., Dijkmans B. et al. Methotrexate reduces inflammatory cell numbers, expression of monokines and of adhesion molecules in synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis. Br. J. Rheumatol., 1998, 37 (5), 502-508.
- Gerli R., Muscat C., Bertotto A. et al. CD26 surface molecule involvement in T cell activation and lymphokine synthesis in rheumatoid and other inflammatory synovitis. Clin. Immunol. Immunopathol., 1996, 80 (1), 31-37.
- Isomaki P., Aversa G., Cocks B. et al. Increased expression of signaling lymphocytic activation molecule in patients with rheumatoid arthritis and its role in the regulation of cytokine production in rheumatoid synovium. J. Immunol., 1997, 159 (6), 2986-2993.
- Lacki J., Mackiewicz S., Wiktorowicz U. et al. Lymphocyte phenotype studies of rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate. Arch. Immunol. Ther., Exp. (Warsz). 1994, 42, 4, 287-290.
- Masuco-Hongo K., Sekine T., Ueda S. et al. Long-term persistent accumulation of CD8+ T cells in synovial fluid of rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Dis., 1997, 56 (10), 613-621.
- Mizokami A., Eguchi K., Kawakami A. et al. Increased population of high fluorescence 1F7 (CD26) antigen on T cells in synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. J. Rheumatol., 1996, 23, 12, 2022-2026.
- Muscat C., Bertotto A., Agea E. et al. Expression and functional role of 1F7 (CD26) antigen on peripheral blood and

- synovial fluid T cells in rheumatoid arthritis patients. Clin. Exp. Immunol., 1994, 98, 2, 252-256.
16. Sfikakis P., Charalambopoulos D., Vaiopoulos G. et al. Circulating P- and L-selectin and T-lymphocyte activation in patients with autoimmune rheumatic diseases. Clin. Rheumatol., 1999, 18, 28-32.
17. Takahashi H., Soderstrom K., Nilsson E. et al. Integrins and other adhesion molecules on lymphocytes from synovial fluid and peripheral blood of rheumatoid arthritis patients. Eur.J.Immunol., 1992, 22, 11, 2879-2885.
18. Tanaka S., Murakami T., Horikawa H. et al. Suppression of arthritis by inhibitors of dipeptidylpeptidase 4. Int. J. Immunopharmacol., 1997, 19, 15-24.
19. Voskuyl A., Martin S., Melchers I. et al. Levels of circulating intercellular adhesion molecule-1 and -3 but not circulating endothelial leucocytes adhesion molecule are increased in patients with rheumatoid vasculitis. Br. J. Rheumatol., 1995, 34, 311-315.

Поступила: 6.06.02

Abstract

Molecular characterization of peripheral blood lymphocytes in patients with rheumatoid arthritis

I.R. Kolosova, E.R. Polosuhina, A.Y. Barishnikov, G.V. Lukina, Y.A. Sigidin

Objective. To study lymphocytes phenotype in rheumatoid arthritis (RA) and its changes during methotrexate (MT) therapy.

Methods. 24 RA pts with high clinical and laboratory activity of the disease and 18 healthy donors (control group) were included. All patients received MT 7,5-15 mg/week. They were followed up for 6 months. Expression of CD3, CD5, CD7, CD8, CD16, CD18, CD19, CD20, CD25, CD26, CD50, CD54, HLA DR, CD95 on peripheral blood lymphocytes was assessed before and after treatment by immunofluorescence method.

Results. There was decreased expression of CD8, CD18, and CD50 in RA patients vs control. MT treatment resulted in reduction of CD 50 and CD 26 expression on lymphocytes.

Conclusion. Peripheral blood in RA is characterized by decrease of CD8+ lymphocyte percent. Reduction of CD18 and CD50 adhesion molecules expression may be connected with migration of appropriate effector cells bearing these molecules on there surface into inflamed synovial membrane. Treatment with MT decreased expression of some adhesion molecules. Decrease of CD 26 lymphocytes activation marker expression is one of the mechanisms of MT antirheumatic action.

Key words: *rheumatoid arthritis, methotrexate, leucocyte phenotype.*