

АНАЛИЗ СУБПОПУЛЯЦИЙ В-ЛИМФОЦИТОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ САРКОИДОЗОМ ПРИ РАЗНОЙ СТЕПЕНИ АКТИВНОСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Лазарева Н.М.¹, Кудрявцев И.В.^{1,2}, Баранова О.П.¹,
Серебрякова М.К.², Бажанов А.А.¹, Сесь Т.П.¹, Илькович М.М.¹,
Тотолян Арег А.^{1,3}

¹ ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

³ ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Саркоидоз — воспалительное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся формированием эпителиоидно-клеточных гранул без некроза в результате гиперактивации разных клеток иммунной системы. Роль гуморальных механизмов в патогенезе саркоидоза менее изучена по сравнению с клеточно-опосредованными. Необходимо изучение роли активации или, напротив, анергии В-звена иммунитета при саркоидозе, степени его активности и особенностей клинического течения заболевания. Целью данного исследования явилось изучение особенностей субпопуляций В-лимфоцитов в периферической крови больных с хроническим течением ($n = 41$) саркоидоза в зависимости от активности заболевания. Контролем служили образцы периферической крови, полученные от 43 условно здоровых добровольцев. Для определения активности заболевания использовались объективные клинические и инструментальные критерии, в качестве лабораторного показателя — уровень активности АПФ (ангиотензин-конвертирующий фермент). С использованием многоцветной проточной цитометрии определялись В-лимфоциты на основе двух подходов: экспрессии IgD/CD38 (“Vml-Vm5” классификация) и IgD/CD27. Было показано, что у больных саркоидозом было достоверно выше относительное число Vm2 “активированных” “наивных” клеток (IgD⁺CD38⁺), чем у условно здоровых лиц, 65,38% против 55,66% ($p < 0,001$). Относительное и абсолютное содержание eVm5 (IgD⁺CD38⁺) и Vm5 (IgD⁺CD38⁻) клеток памяти было достоверно ниже в группе больных саркоидозом относительно группы контроля. Относительные значения: 6,59% против 13,31% ($p < 0,001$) и 3,43% против 8,49% ($p < 0,001$) соответственно. Показано, что при повышенном уровне АПФ в периферической крови больных достоверно снижено число “наивных” Vm1-клеток (IgD⁺CD38⁻), $r = -0,557$ при

Адрес для переписки:

Лазарева Наталья Михайловна
ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский
государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова» Министерства
здравоохранения РФ
197022, Россия, Санкт-Петербург,
ул. Льва Толстого, 6-8.
Тел.: 8 (921) 394-84-20.
E-mail: nmlazareva@gmail.com

Address for correspondence:

Lazareva Natalia M.
First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University
197022, Russian Federation, St. Petersburg,
L. Tolstoy str., 6-8.
Phone: 7 (921) 394-84-20.
E-mail: nmlazareva@gmail.com

Образец цитирования:

Н.М. Лазарева, И.В. Кудрявцев, О.П. Баранова,
М.К. Серебрякова, А.А. Бажанов, Т.П. Сесь,
М.М. Илькович, Арег А. Тотолян «Анализ субпопуляций
В-лимфоцитов в периферической крови больных
саркоидозом при разной степени активности
заболевания» // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21,
№ 6. С. 1081-1098.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-6-1081-1098

© Лазарева Н.М. и соавт., 2019

For citation:

N.M. Lazareva, I.V. Kudryavtsev, O.P. Baranova,
M.K. Serebriakova, A.A. Bazhanov, T.P. Ses', M.M. Ilkovich,
Areg A. Totolian "Peripheral blood B cell subsets from
patients with various activity of chronic sarcoidosis", *Medical
Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2019,
Vol. 21, no. 6, pp. 1081-1098.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-6-1081-1098

DOI: 10.15789/1563-0625-2019-6-1081-1098

$p < 0,001$. Относительное содержание В-клеток памяти, не переключивших класс синтезируемых антител ($\text{IgD}^+\text{CD27}^+$), в группе больных было снижено и составило 6,25%, а в группе контроля — 12,95% ($p < 0,001$). Число клеток памяти, переключивших класс синтезируемых антител ($\text{IgD}^+\text{CD27}^+$), было также существенно снижено у больных саркоидозом и составило 6,75% против 16,50% в контрольной группе ($p < 0,001$). У больных с высоким уровнем АПФ отмечалось повышение относительного содержания "наивных" В-клеток ($\text{IgD}^+\text{CD27}^-$), $r = 0,532$ при $p < 0,001$. Между числом В-клеток памяти ($\text{IgD}^+\text{CD27}^+$) и показателями уровня АПФ была установлена обратная зависимость, $r = -0,565$ при $p < 0,001$. Полученные данные свидетельствуют о важной роли В-клеточного иммунного ответа в патогенезе саркоидоза и дают возможность оценить особенности гуморального ответа при разной степени активности заболевания.

Ключевые слова: саркоидоз, активность заболевания, В-лимфоциты, проточная цитометрия, многоцветный анализ

PERIPHERAL BLOOD B CELL SUBSETS FROM PATIENTS WITH VARIOUS ACTIVITY OF CHRONIC SARCOIDOSIS

Lazareva N.M.^a, Kudryavtsev I.V.^{a,b}, Baranova O.P.^a,
Serebriakova M.K.^b, Bazhanov A.A.^a, Ses' T.P.^a, Ilkovich M.M.^a,
Totolian Areg A.^{a,c}

^a First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

^b Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

^c Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Sarcoidosis is an inflammatory disease of unknown etiology, characterized by development of necrosis-free epithelioid cell granulomas, resulting in hyperactivation of various cells of the immune system. The role of humoral mechanisms in the pathogenesis of sarcoidosis is less studied than cell-mediated. It is necessary to study the role of activation or the anergy of the B cell development of immunity in sarcoidosis, the degree of its activity and the characteristics of the clinical course of the disease. Our study was aimed at investigating the characteristics of the B cells subsets in the peripheral blood of patients with chronic sarcoidosis ($n = 41$), depending on the activity of the disease. The control was peripheral blood samples from healthy volunteers ($n = 43$). Objective clinical and instrumental criteria, angiotensin converting enzyme (ACE) were used to determine the activity of the disease. Using flow cytometry analysis of peripheral blood cell B cells were determined based on two approaches: expression of $\text{IgD}/\text{CD38}$ ("Bm1-Bm5" classification) and $\text{IgD}/\text{CD27}$. In patients with sarcoidosis there was a significantly higher relative number of Bm2 "activated" naive cells ($\text{IgD}^+\text{CD38}^+$) than in conditionally healthy volunteers, 65.38% versus 55.66% ($p < 0.001$). The relative and absolute contents of eBm5 ($\text{IgD}^+\text{CD38}^+$) and Bm5 ($\text{IgD}^+\text{CD38}^-$) memory cells were significantly lower in the group of patients with sarcoidosis relative to the control group. Relative values: 6.59% versus 13.31%, ($p < 0.001$), and 3.43% versus 8.49%, ($p < 0.001$), respectively. It was shown that with an increased level of ACE in the peripheral blood of patients, the number of naïve Bm1 cells ($\text{IgD}^+\text{CD38}^-$) was significantly reduced, $r = -0.557$, $p < 0.001$. The relative content of memory B cells that did not switch the class of synthesized antibodies ($\text{IgD}^+\text{CD27}^+$) in the group of patients was reduced to 6.25%, and in the control group — 12.95% ($p < 0.001$). The number of memory cells that switched the class of synthesized antibodies ($\text{IgD}^+\text{CD27}^+$) was also significantly reduced in patients with sarcoidosis and amounted to 6.75% versus 16.50% in the control group ($p < 0.001$). In patients with high levels of ACE, there was an increase in the relative content of naïve B cells ($\text{IgD}^+\text{CD27}^-$), $r = 0.532$, $p < 0.001$. An inverse relationship was established between the number of memory B cells ($\text{IgD}^+\text{CD27}^+$) and ACE levels, $r = -0.565$, $p < 0.001$. These results indicate the important role of the B cell immune response in the pathogenesis of sarcoidosis and make it possible to evaluate the characteristics of the humoral response with various degrees of disease activity.

Keywords: sarcoidosis, disease activity, B cells, flow cytometry, multicolor immunophenotyping

Введение

Саркоидоз — воспалительное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся формированием эпителиоидно-клеточных гранул без некроза, мультисистемным поражением различных органов и тканей, преимущественно внутригрудных лимфатических узлов, легких, реже других органов [1, 2].

Развитие саркоидоза является следствием взаимодействия экзогенных, окончательно не установленных, факторов на организм человека и генетической предрасположенности к формированию избыточно сильных иммунных ответов на такие факторы.

При саркоидозе происходит гиперактивация клеток иммунной системы, продуцируемые цитокины и хемокины играют важную роль в процессе гранулемообразования [40]. Согласно современным представлениям, клеточно-опосредованные реакции являются основными в патогенезе саркоидоза. В развитии таких реакций участвуют разные субпопуляции Т-хелперов: 1 типа (Th1), 17 типа (Th17), а также относительно недавно описанные «неклассические», «пластичные» субпопуляции Т-хелперов: Th1/Th17 и Th17.1 [20, 37, 40]. Считают, что именно «неклассические» субпопуляции Т-хелперов во многом определяют характер клинического течения саркоидоза благодаря их способности активировать макрофаги и нейтрофилы в очаге воспаления [12, 40, 43].

Эффективность механизмов сдерживания избыточно сильных иммунных реакций при саркоидозе, как и при других заболеваниях, определяется поддержанием баланса активности провоспалительных субпопуляций Т-хелперов (Th1/Th17/Th17) и Т-хелперов с иммунорегуляторными свойствами — так называемых Т-регуляторных лимфоцитов (Tregs) [24, 32, 40].

Роль гуморальных механизмов в патогенезе саркоидоза менее изучена по сравнению с клеточно-опосредованными. Повышенные уровни IgG-антител к ряду аутоантигенов (циклические цитруллинированные пептиды, антинуклеарные антитела, антитела к двуспиральной ДНК и ряд других) могут определяться в сыворотке крови и бронхоальвеолярном лаваже больных саркоидозом [28, 29, 46]. Эти и другие данные свидетельствуют о том, что, наряду с клеточно-опосредованными реакциями, в патогенезе саркоидоза могут принимать участие и циркулирующие аутоантитела, преимущественно класса IgG [12, 23, 40]. В других работах, напротив, указывают на отсутствие отличий уровней IgG-антител у больных саркоидозом и у здоровых лиц [8, 25]. Таким образом, в настоящее время роль гуморальных ме-

ханизмов в патогенезе саркоидоза окончательно не ясна.

Какова же роль активации или, напротив, анергии В-звена иммунитета при саркоидозе? Вероятно, это во многом коррелирует с особенностями клинического течения заболевания. При активном течении саркоидоза, характеризующимся лучшим прогнозом и возможностью спонтанной ремиссии, в периферической крови больных отмечается повышенное содержание «переходных» субпопуляций В-лимфоцитов и «регуляторных» В-лимфоцитов, продуцирующих IL-10 [41]. При тяжелом прогрессирующем течении саркоидоза в периферической крови больных отмечается анергия В-лимфоцитов, В-клеточная лимфопения и существенное снижение числа В-клеток памяти [31].

Результаты гистологического исследования биопсионных образцов легочной ткани у больных саркоидозом при остром и при хроническом течении заболевания свидетельствуют о присутствии в гранулемах В-лимфоцитов и плазматических клеток [12, 40].

Анализ литературы показал, что часть авторов склоняется к ведущей роли активации или анергии В-лимфоцитов в патогенезе саркоидоза, а другие связывают более тяжелое течение саркоидоза с гиперактивацией В-звена иммунитета и образованием антицитруллиновых аутоантител. Косвенным подтверждением правомочности последнего положения являются положительные результаты включения таргетной анти-В-клеточной терапии ритуксимабом в общую схему лечения больных саркоидозом [9, 11].

Необходимы объективные критерии для сопоставления иммунологических параметров и клинико-лабораторных показателей активности заболевания с целью выбора возможных предикторов спонтанной ремиссии заболевания вследствие активации иммунорегуляторных механизмов, направленных на сдерживание гиперчувствительных реакций в пораженных органах и тканях. Назначение иммуносупрессивной терапии у таких больных может исключить возможность развития спонтанной ремиссии.

Наряду с существующими, но не оптимальными, клиническими и инструментальными критериями активности саркоидоза, существуют лабораторные критерии, которые носят дискуссионный характер. Следует отметить, что в целом в настоящее время лабораторные критерии постановки диагноза «саркоидоз» отсутствуют. Ранее для оценки активности саркоидоза широко использовали так называемый иммунорегуляторный индекс, представляющий соотношение Т-хелперов и Т-цитотоксических лимфоцитов в бронхоальвеолярном лаваже. В последние деся-

титетия в качестве возможных диагностических маркеров саркоидоза изучены новые показатели, в том числе растворимый рецептор интерлейкина-2 (sIL-2), хитотриозидаза, сывороточный амилоид А и ряд других. Однако критериев, соответствующих «золотому стандарту лабораторной диагностики» с целью более ранней постановки диагноза «саркоидоз», в настоящее время не существует [14, 15, 17, 21, 22].

Одним из лабораторных критериев, успешно применяющихся для оценки активности саркоидоза, является уровень ангиотензин-конвертирующего фермента (АПФ) в периферической крови больных. Исследования, посвященные изучению содержания АПФ, свидетельствуют, что при одних заболеваниях (саркоидоз, фиброзирующий альвеолит, пневмония) этот показатель может существенно повышаться, а при других (туберкулез, муковисцидоз), напротив, снижаться по сравнению с нормой [13, 15, 17, 26].

Изначально АПФ является мембраносвязанным белком, экспрессирующимся на поверхности многих типов клеток, а в циркуляцию АПФ попадает в результате протеолитического расщепления. У здоровых уровень АПФ в сыворотке крови составляет менее 70 (ACE Unit). В норме АПФ выполняет целый ряд важных функций. Металлопротеиназа АПФ катализирует выработку ангиотензина II путем превращения из ангиотензина I, инактивирует брадикинин через ренин-ангиотензиновую систему и тем самым участвует в поддержании артериального давления. Наряду с функцией контроля показателей артериального давления, АПФ участвует в развитии тканей почки, эритропоэзе, миелопоэзе и развитии иммунных ответов [10].

В патологических условиях фермент может избыточно продуцироваться альвеолярными макрофагами и гранулоцитами. Считается, что основными продуцентами АПФ в гранулемах при саркоидозе служат эпителиоидные клетки, образующиеся из гиперактивированных провоспалительными цитокинами макрофагов. Поскольку сывороточный АПФ происходит в основном из микроциркуляторного русла легочной ткани, при развитии активного гранулематозного воспаления при саркоидозе в кровоток попадает существенно большее количество АПФ [17, 27, 47]. У детей младшего возраста уровень АПФ варьирует, по этой причине этот биомаркер обычно не используют в клинической практике [1].

У взрослых повышенные уровни АПФ при саркоидозе коррелируют с распространенностью гранулематозного процесса в различных органах и тканях и с тяжестью заболевания [27]. Таким образом, высокие уровни АПФ в сыворотке крови больных саркоидозом используют

в качестве маркера активности заболевания [19, 33, 36, 38, 45].

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей субпопуляций В-лимфоцитов в периферической крови больных с хроническим течением саркоидоза в зависимости от активности заболевания.

Материалы и методы

Объектом исследования служила венозная кровь, полученная путем пункции периферической вены и собранная в вакуумные пробирки с содержанием K_3 ЭДТА, больных хроническим дебютом саркоидоза ($n = 41$) в возрасте 20-65 лет, не получавших иммуносупрессивную терапию, в том числе системные кортикостероиды, и плазмаферез. Все больные саркоидозом проходили обследование на базе клиники НИИ интерстициальных и орфанных заболеваний легких при ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России. Диагноз «саркоидоз» был подтвержден с помощью гистологического исследования у 85% (35/41) больных и по клинико-рентгенологическим данным у 15% (6/41) больных. В качестве контроля использовали образцы периферической крови 43 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными больными саркоидозом. Все исследования были проведены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Анализ иммунологических параметров проводили в сопоставлении с активностью заболевания, определяемой по ряду клинических, инструментальных и лабораторных показателей. При обследовании больных учитывались появление жалоб, симптомов, системности поражений в разных органах, увеличение давления в легочной артерии (рЛА, мм рт. ст.) по данным эхокардиографического исследования (ЭХО-КГ), увеличение лимфоузлов, нарастание изменений в легочной ткани, распространенности очагов поражений, появление и прогрессирование признаков фиброза и другие проявления неблагоприятного течения саркоидоза по данным мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ), изменения показателей функции внешнего дыхания, в том числе оценивали снижение диффузионной способности легких (DLCO, %).

В качестве лабораторного показателя активности использовали определение уровня АПФ. Активность АПФ определялась в сыворотке крови и измерялась в единицах активности ACE Unit (= 1 IU/ml) с помощью колориметрического теста с пептидным субстратом. Положительным считался результат активности АПФ больше 70 ACE Unit, референсные значения для лиц старше 18 лет составляли 20–70 ACE Unit.

Все лабораторные исследования проводились в день взятия крови. Подготовку образцов периферической крови и настройку проточного цитофлуориметра проводили в соответствии с рекомендациями, изложенными С.В. Хайдуковым и соавт. [4]. Для выявления популяции В-лимфоцитов периферической крови использовали антитела против CD45 (клон J33, кат. № A96416) и CD19 (клон J3-119, кат. № A94681), конъюгированными с Krome Orange и APC-AlexaFluor750 соответственно. Для анализа распределения В-лимфоцитов по основным субпопуляциям применяли антитела против поверхностных IgD (клон IA6-2, кат. № B30652), CD38 (клон LS198-4-3, кат. № A07779) и CD27 (клон 1A4CD27, кат. № A54823), конъюгированными с FITC, PE и PC7 соответственно. Все использованные в работе антитела были производства Beckman Coulter Inc. (США). Окраску антителами производили в соответствии с рекомендациями производителя. Удаление эритроцитов из образцов осуществляли при помощи коммерческого лизирующего раствора VersaLyse (кат. № A09777), к 975 мкл которого *ex tempore* добавляли 25 мкл фиксирующего раствора IOTest 3 Fixative Solution (кат. № A07800). По завершении инкубации образцы однократно отмывали от несвязавшихся антител избытком забуференного фосфатами физиологического раствора (7 минут при 330 g), а полученный клеточный осадок ресуспендировали в 200 мкл забуференного фосфатами физиологического раствора, содержавшего 2% нейтрального параформальдегида (кат. № HT5011, Sigma-Aldrich, США). Анализ образцов проводился при помощи проточного цитофлуориметра Navios (Beckman Coulter, Inc., США), оснащенного тремя лазерами с длинами волн излучения 405, 488 и 638 нм. В каждом образце анализировалось не менее 5000 CD19⁺В-лимфоцитов периферической крови.

Выявления основных стадий дифференцировки В-лимфоцитов производили на основе анализа коэкспрессии IgD и CD38, а также IgD и CD27, как это было описано нами ранее [3].

Окраска антителами против IgD и CD38 позволяет идентифицировать следующие популяции В-клеток:

- наивные Вm1-клетки с фенотипом IgD⁺CD38⁻;
- активированные наивные Вm2-клетки (IgD⁺CD38⁺);
- Вm2' – клетки-предшественники В-клеток зародышевых центров периферических лимфоидных органов (IgD⁺CD38⁺⁺);
- общая субпопуляция, включающая в себя центробласты и центроциты – так называемые Вm3+Вm4 клетки (IgD⁻CD38⁺⁺);
- клетки ранней памяти eВm5 (IgD⁻CD38⁺);
- покоящиеся клетки памяти Вm5 (IgD⁻CD38⁻).

Оценка коэкспрессии IgD и CD27 позволяет разделить общий пул В-лимфоцитов на наивные клетки с фенотипом IgD⁺CD27⁻ и три типа В-клеток памяти:

- клетки памяти с непереключенным классом синтезируемых антител (так называемые unswitched memory, IgD⁺CD27⁺);
- клетки памяти с переключенным классом синтезируемых антител (так называемые class-switched memory, IgD⁻CD27⁺);
- так называемые дважды негативные клетки памяти (IgD⁻CD27⁻).

Метод позволяет также определять субпопуляции циркулирующих предшественников плазматических клеток с фенотипом IgD⁻CD27⁺⁺.

Обработку цитофлуориметрических результатов проводили при помощи программ Navios Software v. 1.2 и Kaluza™ v. 1.2 (Beckman Coulter, США). Статистическую обработку проводили при помощи пакетов программ Statistica 8.0 (StatSoft, США) и GraphPad Prism 4.00 for Windows (GraphPad Prism Software Inc., США). Полученные результаты по относительному и абсолютному содержанию В-лимфоцитов различных популяций приводили в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q_{0,25}–Q_{0,75}). Для сравнения полученных выборок использовали непараметрический критерий Манна–Уитни, корреляционный анализ проводили с использованием коэффициента ранговой корреляции r Спирмена.

Результаты

Активность АПФ в группе больных саркоидозом была выше нормы (более 70 ACE Unit) в 63% (26/41) случаев, нормальный уровень АПФ отмечался у 37 % (15/41). В соответствии с этим нами были выделены две основные подгруппы пациентов: I подгруппа – больные с нормальным уровнем АПФ, II подгруппа – больные с повышенным уровнем АПФ в сыворотке крови.

У больных саркоидозом с нормальными показателями АПФ жалобы и симптомы были минимальными и отмечались лишь у 6 из 15 (40%),

ТАБЛИЦА 1. СРАВНЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ, ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ОБСЛЕДУЕМЫХ ГРУПП БОЛЬНЫХ САРКОИДОЗОМ

TABLE 1. CLINICAL, INSTRUMENTAL AND LABORATORY PARAMETERS IN GROUPS OF PATIENTS WITH SARCOIDOSIS

Параметры Parameters	Группа больных саркоидозом Group of patients with sarcoidosis	
	I (n = 15)	II (n = 26)
АПФ* ACE*	≤ 70 ACE Unit	> 70 ACE Unit
Наличие жалоб, симптомов Complaints, clinical symptoms	6/15 (40%)	23/26 (88%)
Проявления системности (гепато/ спленомегалия, артралгии и др.) Systemic manifestations (hepato/splenomegaly, arthralgia, etc.)	2/15 (13%)	13/26 (50%)
Ухудшения по МСКТ** легких (внутригрудная лимфаденопатия и/или очаги в легких) СТ** evidence (hilar lymphadenopathy and/or chest micronodules)	2/15 (13%)	15/26 (58%)
Увеличение давления в ЛА*** (р выше 30 мм рт. ст.) РА*** pressure increase (> 30 mmHg)	2/15 (13%)	5/26 (19%)
Изменения по КИФВД**** Changes in LFG****	3/15 (15%)	2/26 (8%)

Примечание. I подгруппа – больные с нормальными уровнями АПФ, II подгруппа – больные с повышенными уровнями АПФ в сыворотке крови. * – уровень активности ангиотензин-превращающего фермента; ** – мультиспиральная компьютерная томография; *** – легочная артерия; **** – комплексное исследование функции внешнего дыхания.

Note. Group I, sarcoidosis patients with normal ACE levels (≤ 70 ACE Unit); group II, sarcoidosis patients with increased ACE levels (> 70 ACE Unit). *, angiotensin-converting enzyme; **, computed tomography; ***, pulmonary artery; ****, lung function testing.

ТАБЛИЦА 2. ОТНОСИТЕЛЬНОЕ И АБСОЛЮТНОЕ СОДЕРЖАНИЕ В-КЛЕТОК РАЗНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ, ВЫДЕЛЯЕМЫХ НА ОСНОВАНИИ “ВМ1-ВМ5” КЛАССИФИКАЦИИ, У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ САРКОИДОЗОМ (n = 41) И УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ (n = 43), Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. RELATIVE AND ABSOLUTE OF B CELL SUBSETS USING “BM1-BM5” CLASSIFICATION IN SARCOIDOSIS PATIENTS (SP, n = 41) VERSUS HEALTHY CONTROL (HC, n = 43), Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Субпопуляции В-клеток B cell subsets		Саркоидоз SP	Контроль HC	p
Bm1, IgD ⁺ CD38 ⁻	%	4,87 (3,21-8,57)	11,33 (7,52-16,79)	p < 0,001
	#	10 (6-19)	26 (16-38)	p < 0,001
Bm2, IgD ⁺ CD38 ⁺	%	65,38 (58,86-70,61)	55,66 (48,48-63,29)	p < 0,001
	#	140 (78,88-177,81)	116 (83-184)	p = 0,830
Bm2', IgD ⁺ CD38 ⁺⁺	%	15,05 (12,48-19,60)	6,46 (4,39-10,06)	p < 0,001
	#	28 (15-48)	15 (8-24)	p < 0,001
Bm3+Bm4, IgD ⁻ CD38 ⁺⁺	%	1,14 (0,78-1,75)	0,72 (0,49-1,13)	p = 0,006
	#	2 (1-4)	2 (1-2)	p = 0,060
eBm5, IgD ⁻ CD38 ⁺	%	6,59 (4,15-10,18)	13,31 (10,02-16,75)	p < 0,001
	#	12 (7-21)	33 (22-40)	p < 0,001
Bm5, IgD ⁻ CD38 ⁻	%	3,43 (2,64-4,87)	8,49 (6,21-11,06)	p < 0,001
	#	7 (3-11)	18 (13-25)	p < 0,001

Примечание. % – процент от общей популяции CD19⁺ клеток; # – абсолютные значения, количество клеток в 1 мкл крови.

Note. %, with CD19⁺ subset. #, number of cells in 1 µl of peripheral blood.

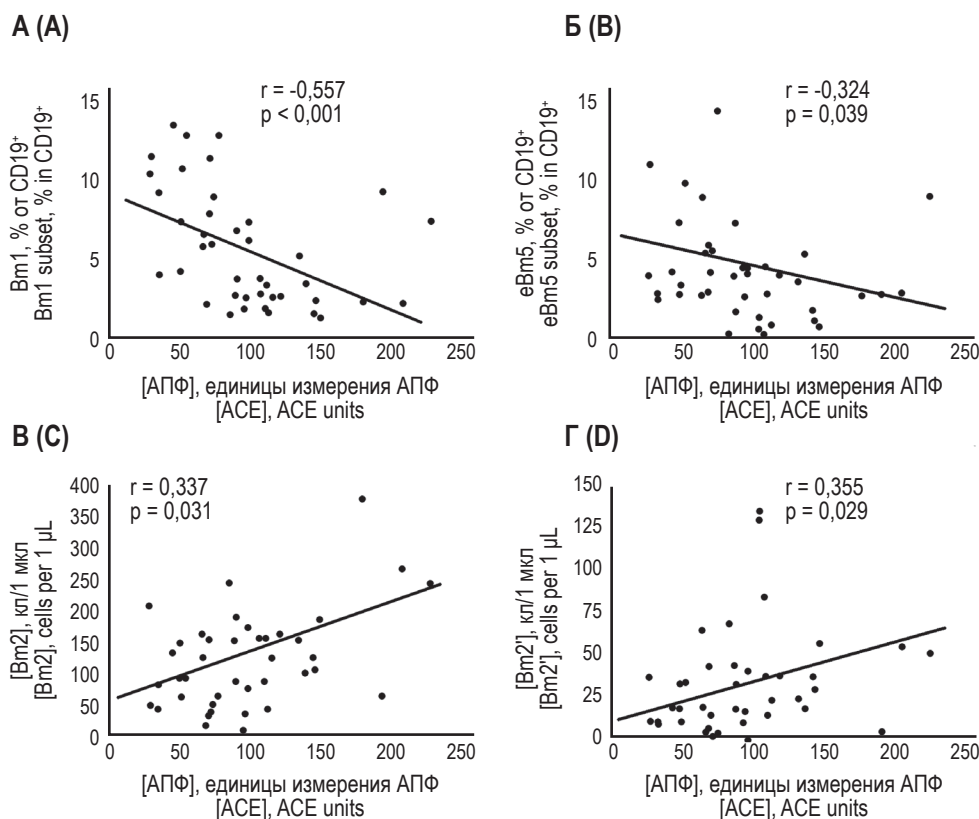


Рисунок 1. Взаимосвязь между уровнем АПФ и субпопуляциями В-лимфоцитов, выявленными с применением “Bm1-Bm5” классификации

Примечание. А – корреляционный анализ между относительным содержанием наивных Bm1-клеток ($\text{IgD}^+\text{CD38}^-$) и активностью АПФ. Б – корреляционный анализ между относительным содержанием клеток ранней памяти eBm5 ($\text{IgD}^+\text{CD38}^+$) и активностью АПФ. В – корреляционный анализ между абсолютным содержанием активированных наивных Bm2-клеток ($\text{IgD}^+\text{CD38}^+$) и активностью АПФ. Г – корреляционный анализ между абсолютным содержанием Bm2' – клеток-предшественников В-клеток зародышевых центров периферических лимфоидных органов ($\text{IgD}^+\text{CD38}^{++}$) и активностью АПФ.

Figure 1. Correlations between ACE levels and B cell subsets using “Bm1-Bm5” classification in sarcoidosis patients according to Spearman rank correlation test

Note. A, relative numbers of naïve B cells. B, relative numbers of eBm5 cells. C, absolute numbers of Bm2 cells. D, absolute numbers of Bm2' cells.

в то время как у больных II подгруппы с высокими уровнями АПФ выраженные клинические проявления активности заболевания, в том числе указывающие на наличие системности патологического процесса, отмечались у 23 из 26 обследованных (88%).

В таблице 1 представлено сравнение клинических проявлений активности заболевания в подгруппах обследованных пациентов.

При оценке относительного и абсолютного числа CD19^+ В-лимфоцитов в периферической крови больных саркоидозом и у здоровых лиц достоверных различий не выявлено. Относительное число CD19^+ клеток у пациентов составило 14,20% (9,98-17,18), у здоровых – 13,78% (9,71-15,48) от общего числа циркулирующих лимфоцитов соответственно ($p = 0,364$), абсолютное число CD19^+ клеток составило 209 кл/мкл

(119-285) и 234 кл/мкл (163-305) соответственно ($p = 0,229$).

В таблице 2 представлены данные субпопуляционного состава В-лимфоцитов, полученные на основе “Bm1-Bm5” классификации.

У больных саркоидозом среди всех В-лимфоцитов было достоверно выше относительное число Bm2 активированных наивных клеток ($\text{IgD}^+\text{CD38}^+$), чем у условно здоровых лиц, 65,38 против 55,66% ($p < 0,001$).

Относительное и абсолютное содержание eBm5 ($\text{IgD}^+\text{CD38}^+$) и Bm5 ($\text{IgD}^+\text{CD38}^-$) клеток памяти было достоверно ниже в группе больных саркоидозом относительно группы контроля. Относительные значения составили 6,59 против 13,31% ($p < 0,001$) и 3,43 против 8,49% ($p < 0,001$) соответственно.

Проведение корреляционного анализа выявило зависимость между повышением уровня

ТАБЛИЦА 3. ОТНОСИТЕЛЬНОЕ И АБСОЛЮТНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАЗНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ В-ЛИМФОЦИТОВ, ВЫДЕЛЯЕМЫХ НА ОСНОВАНИИ “BM1-BM5” КЛАССИФИКАЦИИ, У БОЛЬНЫХ САРКОИДОЗОМ С НОРМАЛЬНЫМ (n = 15) И ПОВЫШЕННЫМ (n = 26) УРОВНЯМИ АПФ И УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ (n = 43), Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 3. RELATIVE AND ABSOLUTE OF B CELL SUBSETS USING “BM1-BM5” CLASSIFICATION IN SARCOIDOSIS PATIENTS WITH NORMAL (GROUP 1, n = 15) OR INCREASED ACE (GROUP 2, n = 26) LEVELS VERSUS HEALTHY CONTROL (n = 43), Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Субпопуляции В-клеток B cell subset		Саркоидоз I подгруппа Sarcoidosis Group 1	Саркоидоз II подгруппа Sarcoidosis Group 2	Контроль Healthy control	p
Bm1, IgD ⁺ CD38 ⁻	%	8,57 (6,45-12,09)	3,39 (2,85-6,85)	11,33 (7,52-16,79)	p ₁₋₃ = 0,008 p ₂₋₃ < 0,001 p ₁₋₂ = 0,11
	#	15 (6-30)	9 (5-14)	26 (16-38)	p ₁₋₃ = 0,04 p ₂₋₃ < 0,001 p ₁₋₂ < 0,001
Bm2, IgD ⁺ CD38 ⁺	%	62,77 (57,36-67,44)	68,82 (58,86-72,13)	55,66 (48,48-63,29)	p ₁₋₃ = 0,02 p ₂₋₃ < 0,001 p ₁₋₂ = 0,14
	#	107 (58-164)	154 (91-201)	116 (83-184)	p ₁₋₃ = 0,27 p ₂₋₃ = 0,29 p ₁₋₂ = 0,08
Bm2', IgD ⁺ CD38 ⁺⁺	%	14,88 (11,73-16,15)	15,77 (13,01-20,92)	6,46 (4,39-10,06)	p ₁₋₃ < 0,001 p ₂₋₃ < 0,001 p ₁₋₂ = 0,22
	#	22 (14-38)	39 (21-59)	15 (8-24)	p ₁₋₃ = 0,09 p ₂₋₃ < 0,001 p ₁₋₂ = 0,11
Bm3+Bm4, IgD ⁻ CD38 ⁺⁺	%	1,54 (0,78-2,43)	1,02 (0,68-1,46)	0,72 (0,49-1,13)	p ₁₋₃ = 0,002 p ₂₋₃ = 0,088 p ₁₋₂ = 0,098
	#	3 (1-5)	2 (1-4)	2 (1-2)	p ₁₋₃ = 0,08 p ₂₋₃ = 0,16 p ₁₋₂ = 0,46
eBm5, IgD ⁻ CD38 ⁺	%	6,92 (5,05-10,22)	6,03 (4,11-9,18)	13,31 (10,02-16,75)	p ₁₋₃ < 0,001 p ₂₋₃ < 0,001 p ₁₋₂ = 0,48
	#	8 (6-21)	13 (7-20)	33 (22-40)	p ₁₋₃ < 0,001 p ₂₋₃ < 0,001 p ₁₋₂ = 0,49
Bm5, IgD ⁻ CD38 ⁻	%	3,92 (2,82-6,49)	2,82 (1,56-4,15)	8,49 (6,21-11,06)	p ₁₋₃ < 0,001 p ₂₋₃ < 0,001 p ₁₋₂ = 0,05
	#	8 (3-12)	4,91 (2,85-10,55)	18 (13-25)	p ₁₋₃ < 0,001 p ₂₋₃ < 0,001 p ₁₋₂ = 0,46

Примечание. % – процент от общей популяции CD19⁺ клеток; # – абсолютные значения, количество клеток в 1 мкл крови. p₁₋₃ – статистически значимые различия между показателями контрольной группы и I подгруппы больных; p₂₋₃ – статистически значимые различия между показателями контрольной группы и II подгруппы больных; p₁₋₂ – статистически значимые различия между показателями больных I и II подгрупп. Статистический анализ проводился с использованием U-критерия Манна-Уитни.

Note. %, with CD19⁺ subset. #, number of cells in 1 µl of peripheral blood. p₁₋₃, statistically significant differences between sarcoidosis group 1 and healthy control; p₂₋₃, statistically significant differences between sarcoidosis group 2 and healthy control; p₁₋₂, statistically significant differences between patients group 1 and 2. Statistical analysis was performed with the Mann-Whitney U test.

АПФ и приростом относительного содержания В-клеток в рамках общего пула циркулирующих лимфоцитов у больных саркоидозом ($r = 0,316$ при $p = 0,044$).

Результаты корреляционного анализа субпопуляций В-лимфоцитов и активности АПФ приведены на рисунке 1.

Показано, что при повышенном уровне АПФ в периферической крови больных достоверно снижено число наивных Vm1-клеток с фенотипом IgD^+CD38^- и клеток ранней памяти eVm5 с фенотипом IgD^-CD38^- ($r = -0,557$ при $p < 0,001$ и $r = -0,324$ при $p = 0,039$ соответственно). При этом абсолютное число активированных наивных В-лимфоцитов популяции Vm2 ($r = 0,337$ при $p = 0,031$) и клеток-предшественников В-лимфоцитов зародышевых центров периферических лимфоидных органов с фенотипом IgD^+CD38^{++} повышено ($r = 0,355$ при $p = 0,029$).

Относительное и абсолютное число субпопуляций В-лимфоцитов, выделяемых на основании "Vm1-Vm5" классификации, у больных саркоидозом с нормальным (I подгруппа) и повышенным (II подгруппа) уровнями активности АПФ, а также в группе контроля, представлены в таблице 3.

Было отмечено, что относительное и абсолютное содержание наивных Vm1-клеток (IgD^+CD38^-) достоверно ниже как у пациентов с нормальной, так и с высокой активностью АПФ относительно контрольной группы.

Количество Vm2 активированных наивных клеток с фенотипом IgD^+CD38^+ достоверно повышено в обеих группах больных саркоидозом по сравнению с контрольной группой: 62,77 против 55,66% ($p = 0,02$) и 68,82 против 55,66% ($p < 0,001$). Относительное и абсолютное содержание eVm5 (IgD^-CD38^+) и Vm5 (IgD^-CD38^-) клеток памяти было достоверно ниже в группе больных саркоидозом как с нормальной, так и высокой активностью АПФ относительно группы контроля ($p < 0,001$).

Анализ субпопуляционного состава В-лимфоцитов периферической крови больных хроническим саркоидозом и практически здоровых лиц, на основе " IgD^- против $CD27^-$ " классификации, представлен в таблице 4.

Следует отметить, что относительное содержание наивных IgD^+CD27^- клеток среди общей популяции $CD19^+$ лимфоцитов было достоверно выше у больных саркоидозом и составило 81,35%, в то время как в группе контроля – 60,91% ($p < 0,001$). При этом число В-клеток памяти и клеток-предшественников клеток памяти в образцах крови больных саркоидозом относительно контроля было снижено. Относительное содержание В-клеток памяти, не переключивших класс синтезируемых антител (IgD^+CD27^+), в группе больных было снижено и составило 6,25%, а в группе контроля – 12,95% ($p < 0,001$). Число клеток памяти, переключивших класс синтезируемых антител (IgD^-CD27^+), было также существенно снижено у больных саркоидозом

ТАБЛИЦА 4. ОТНОСИТЕЛЬНОЕ И АБСОЛЮТНОЕ СОДЕРЖАНИЕ В-КЛЕТОК РАЗНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ, ВЫДЕЛЯЕМЫХ НА ОСНОВАНИИ ЭКСПРЕССИИ IgD И $CD27$, У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ САРКОИДОЗОМ ($n = 41$) И УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ ($n = 43$), Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

TABLE 4. RELATIVE AND ABSOLUTE OF B CELL SUBSETS WITH DIFFERENT PATTERNS OF IgD -vs- $CD27$ EXPRESSION IN SARCOIDOSIS PATIENTS (SP, $n = 41$) VERSUS HEALTHY CONTROL (HC, $n = 43$), Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Субпопуляции В-клеток B cell subsets		Саркоидоз SP	Контроль HC	p
IgD^+CD27^-	%	81,35 (75,57-87,61)	60,91 (54,16-72,42)	$p < 0,001$
	#	166 (85-235)	136 (91-190)	$p = 0,28$
IgD^+CD27^+	%	6,25 (4,05-10,13)	12,95 (9,37-19,69)	$p < 0,001$
	#	13 (7-22)	31 (21-43)	$p < 0,001$
IgD^-CD27^+	%	6,75 (4,06-11,60)	16,50 (13,01-21,91)	$p < 0,001$
	#	12 (7-22)	37 (29-51)	$p < 0,001$
IgD^-CD27^-	%	3,07 (2,15-4,55)	4,77 (3,17-5,83)	$p < 0,001$
	#	6 (3-8)	10 (7-14)	$p < 0,001$
IgD^-CD27^{++}	%	0,28 (0,16-0,52)	0,45 (0,31-0,69)	$p = 0,008$
	#	1 (0-1)	1 (1-2)	$p = 0,003$

Примечание. См. примечание к таблице 2.

Note. As for Table 2.

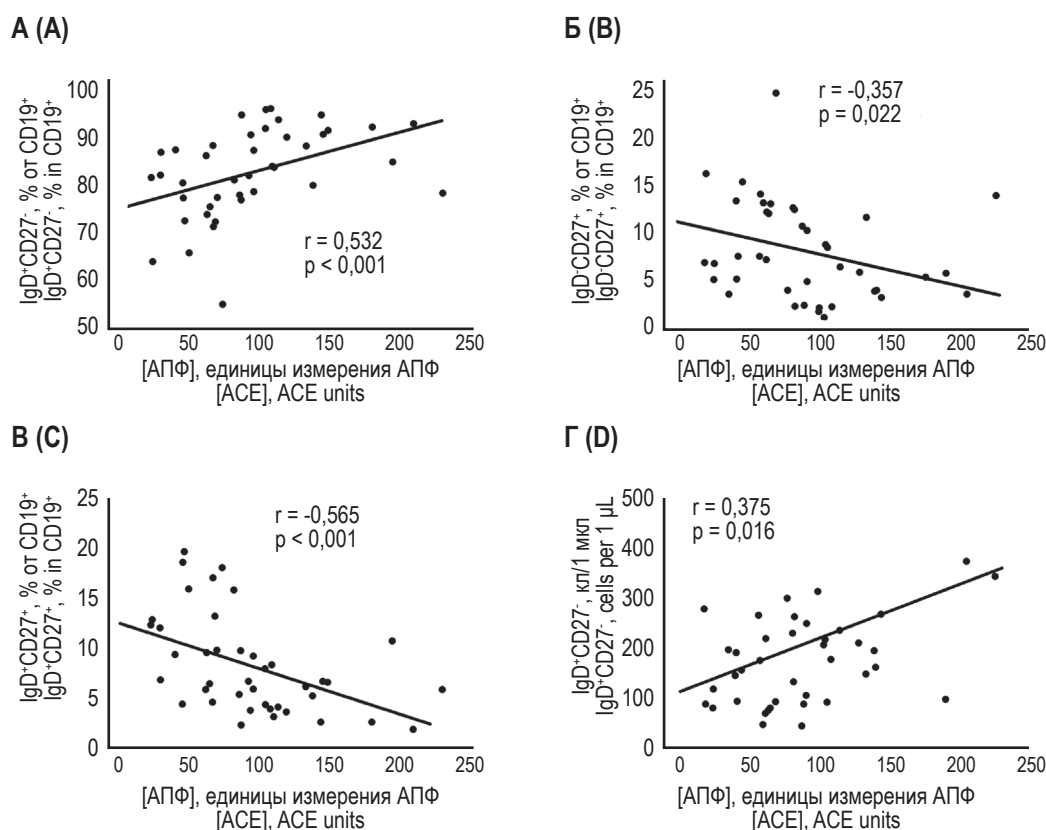


Рисунок 2. Взаимосвязь между уровнем АПФ и субпопуляциями В-лимфоцитов, выявленными на основании экспрессии IgD и CD27

Примечание. А – корреляционный анализ между относительным содержанием наивных клеток (IgD⁺CD27⁻) и активностью АПФ. Б – корреляционный анализ между относительным содержанием клеток памяти с переключенным классом синтезируемых антител (class-switched memory, IgD⁺CD27⁺) и активностью АПФ. В – корреляционный анализ между относительным содержанием клеток памяти с непереключенным классом синтезируемых антител (unswitched memory, IgD⁺CD27⁻) и активностью АПФ. Г – корреляционный анализ между абсолютным содержанием наивных клеток (IgD⁺CD27⁻) и активностью АПФ.

Figure 2. Correlations between ACE levels and B cell subsets with different patterns of IgD-vs-CD27 expression in sarcoidosis patients according to Spearman rank correlation test

Note. A, relative numbers of naïve IgD⁺CD27⁻ B cells. B, relative numbers of class-switched memory IgD⁺CD27⁺ B cells. C, absolute numbers of unswitched memory IgD⁺CD27⁻ B cells. D, absolute numbers of naïve IgD⁺CD27⁻ B cells.

и составило 6,75 против 16,50% в контрольной группе ($p < 0,001$). Содержание «дважды негативных» клеток с фенотипом IgD⁺CD27⁻ составило 3,07 и 4,77% в исследованных группах соответственно ($p < 0,001$).

Результаты анализа зависимости между уровнем сывороточного АПФ и различными популяциями В-лимфоцитов периферической крови, выявленных на основании коэкспрессии IgD и CD27, приведены на рисунке 2.

Так, у больных с повышенным уровнем АПФ отмечалось увеличением не только относительного содержания наивных В-клеток с фенотипом IgD⁺CD27⁻ ($r = 0,532$ при $p < 0,001$), но и их концентрации ($r = 0,375$ при $p = 0,016$). Интересно, что между числом В-лимфоцитов, принадлежа-

щих к популяции В-клеток памяти с фенотипами IgD⁺CD27⁺, IgD⁺CD27⁻ и показателями уровня АПФ была установлена обратная зависимость ($r = -0,565$ при $p < 0,001$ и $r = -0,357$ при $p = 0,022$ соответственно).

Относительное и абсолютное содержание разных субпопуляций В-лимфоцитов, выделяемых на основании экспрессии IgD и CD27, у больных саркоидозом с нормальным и повышенным уровнями активности АПФ, а также в группе контроля, представлены в таблице 5.

Так, среди всех CD19⁺ клеток у больных хроническим течением саркоидоза, как с высокой, так и с низкой активностью АПФ, было достоверно повышено число наивных клеток (IgD⁺CD27⁻) относительно контрольной группы. Значения

ТАБЛИЦА 5. ОТНОСИТЕЛЬНОЕ И АБСОЛЮТНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАЗНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ В-ЛИМФОЦИТОВ, ВЫДЕЛЯЕМЫХ НА ОСНОВАНИИ ЭКСПРЕССИИ IgD И CD27, У БОЛЬНЫХ САРКОИДОЗОМ С НОРМАЛЬНЫМ (n = 15) И ПОВЫШЕННЫМ (n = 26) АПФ И УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ (n = 43), Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 5. RELATIVE AND ABSOLUTE OF B CELL SUBSETS WITH DIFFERENT PATTERNS OF IgD-vs-CD27 EXPRESSION IN SARCOIDOSIS PATIENTS WITH NORMAL (GROUP 1, n = 15) OR INCREASED ACE (GROUP 2, n = 26) LEVELS VERSUS HEALTHY CONTROL (n = 43), Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Субпопуляции В-клеток B cell subsets		Саркоидоз I подгруппа Sarcoidosis Group 1	Саркоидоз II подгруппа Sarcoidosis Group 2	Контроль Healthy control	p
IgD ⁺ CD27 ⁻	%	75,47 (70,89-83,62)	85,04 (77,89-89,09)	60,91 (54,16-72,42)	p ₁₋₃ < 0,001 p ₂₋₃ < 0,001 p ₁₋₂ = 0,003
	#	135 (71-184)	195 (96-253)	136 (91-190)	p ₁₋₃ = 0,65 p ₂₋₃ = 0,07 p ₁₋₂ = 0,05
IgD ⁺ CD27 ⁺	%	11,43 (6,04-15,15)	5,48 (3,47-7,85)	12,95 (9,37-19,69)	p ₁₋₃ = 0,035 p ₂₋₃ < 0,001 p ₁₋₂ = 0,003
	#	16 (8-34)	11 (6-20)	31 (21-43)	p ₁₋₃ = 0,003 p ₂₋₃ < 0,001 p ₁₋₂ = 0,21
IgD ⁻ CD27 ⁺	%	7,35 (6,63-12,66)	5,53 (3,34-10,22)	16,50 (13,01-21,91)	p ₁₋₃ < 0,001 p ₂₋₃ < 0,001 p ₁₋₂ = 0,026
	#	12 (8,05-22,34)	13 (7-21)	37 (29-51)	p ₁₋₃ < 0,001 p ₂₋₃ < 0,001 p ₁₋₂ = 0,61
IgD ⁻ CD27 ⁻	%	3,32 (2,39-4,65)	3,07 (1,93-4,55)	4,77 (3,17-5,83)	p ₁₋₃ = 0,01 p ₂₋₃ = 0,003 p ₁₋₂ = 0,89
	#	6 (3-8)	6 (4-10)	10 (7-14)	p ₁₋₃ < 0,001 p ₂₋₃ = 0,006 p ₁₋₂ = 0,36
IgD ⁻ CD27 ⁺⁺	%	0,34 (0,21-1,17)	0,22 (0,10-0,50)	0,45 (0,31-0,69)	p ₁₋₃ = 0,56 p ₂₋₃ = 0,001 p ₁₋₂ = 0,04
	#	1 (0-1)	1 (0-1)	1 (1-2)	p ₁₋₃ = 0,14 p ₂₋₃ = 0,002 p ₁₋₂ = 0,16

Примечание. См. примечание к таблице 3.

Note. As for Table 3.

составили 75,47% в группе пациентов с нормальными значениями АПФ и 85,04% при высоких уровнях АПФ относительно 60,91% в образцах контрольной группы (p < 0,001).

Количество В-клеток памяти и клеток-предшественников клеток памяти в образцах крови больных саркоидозом было снижено в группе как с нормальной, так и повышенной активностью АПФ, относительно образцов группы контроля. Относительное содержание В-клеток памяти, которые еще не переключили класс синтезируемых антител (IgD⁺CD27⁺), в первой группе больных

составило 11,43%, во второй группе больных — 5,48%, что было достоверно ниже, чем в группе контроля — 12,95%, при p₁₋₃ = 0,035 и p₂₋₃ < 0,001 соответственно. Количество клеток памяти, переключивших класс синтезируемых антител (IgD⁻CD27⁺), составило 7,35 и 5,53% у пациентов с нормальной и высокой активностью АПФ, эти показатели были достоверно ниже у больных саркоидозом по сравнению с контрольной группой (16,50%), p < 0,001.

Относительное число В-лимфоцитов с фенотипами IgD⁺CD27⁺ и IgD⁻CD27⁺ было достовер-

но снижено в группе больных с высоким уровнем АПФ относительно группы больных с нормальным уровнем АПФ при $p_{1-2} = 0,003$ и $p_{1-2} = 0,026$ соответственно.

Обсуждение

Для клинко-иммунологических сопоставлений необходимы объективные критерии, позволяющие оценить активность воспалительного процесса, особенности клинического течения, эффективность проводимой терапии, прогноз заболевания.

Комплексность оценки наиболее значимых клинко-иммунологических показателей с целью поиска предикторов спонтанной ремиссии, риска рецидива заболевания, исхода воспалительного процесса в стадию фиброза обычно проводят с помощью ретроспективного анализа. В данной работе стояла задача анализа изменений изучаемых субпопуляций В-лимфоцитов в крови больных первично-хроническим саркоидозом в зависимости от степени активности заболевания.

Поскольку АПФ секретируется эпителиоидными клетками, активированными макрофагами, и его уровень в сыворотке крови коррелирует с объемом гранулем, многие авторы отмечают правомерность использования этого параметра для оценки вероятности развития фиброза легких при системном саркоидозе, а также при саркоидоз-ассоциированном увеите [6, 19, 35].

В настоящем исследовании выполнен анализ целого ряда клинко-лабораторных параметров (табл. 1), и обнаружено, что уровень АПФ, наряду с другими показателями, может служить для объективизации оценки активности хронического воспалительного процесса. Среди обследованных не леченных кортикостероидными препаратами больных саркоидозом с первично-хроническим течением заболевания, были выделены две подгруппы. В первую подгруппу вошли 15 пациентов с менее выраженными показателями активности патологического процесса и с нормальным уровнем АПФ в крови, во вторую подгруппу — 26 пациентов с повышенным уровнем АПФ и более выраженными, по сравнению с первой группой, клиническими изменениями, оцениваемыми по объективным критериям (табл. 1).

Такое распределение пациентов на группы сравнения способствует более четкому анализу возможной патогенетической и клинко-диагностической значимости изучаемых в работе иммунологических параметров.

Достоверность различий в числе разных субпопуляций В-лимфоцитов, циркулирующих в периферической крови больных саркоидозом, а также сравнение этих показателей с числом В-лимфоцитов на разной стадии дифференци-

ровки у здоровых лиц позволило сделать предположения об особенностях гуморального звена иммунитета у больных с первично-хронической формой саркоидоза при разной степени активности заболевания.

Выполненные в работе исследования не являются рутинными, однако полученные данные способствуют выбору наиболее информативных для клинической практики форматов при изучении субпопуляций лимфоцитов крови с использованием “Вm1-Вm5” классификации или на основании экспрессии молекул IgD и CD27 на поверхности В-клеток.

Как видно из таблицы 2, при анализе субпопуляций В-лимфоцитов с помощью маркеров “Вm1-Вm5” классификации, в целом по группе всех обследованных больных саркоидозом ($n = 41$), содержание изученных субпопуляций в крови отличалось по большинству параметров от показателей у здоровых лиц, за исключением Вm3+Вm4 лимфоцитов с фенотипом IgD⁻CD38⁺⁺, представляющих общую субпопуляцию centroцитов и centroбластов, присутствующих в основном во вторичных органах иммунитета.

Большинство исследуемых показателей у больных саркоидозом было снижено относительно группы контроля, к их числу относились абсолютные значения Вm1, IgD⁺CD38⁻ В-лимфоцитов, eВm5, IgD⁻CD38⁺ В-лимфоцитов и Вm5, IgD⁻CD38⁻, в то время как число Вm2⁺ клеток с фенотипом IgD⁺CD38⁺⁺ было достоверно повышено относительно здоровых лиц (табл. 2).

Таким образом, в целом по группе обследуемых больных с первично-хроническим течением саркоидоза, до начала применения иммуносупрессивной терапии, отмечается выраженная анергия В-клеточного звена иммунитета. Полученные данные могут свидетельствовать о компартментализации В-звена иммунного ответа с преобладанием клеток в очагах поражения и с выраженной анергией на периферии.

Повышенное число В-лимфоцитов с фенотипом IgD⁻CD38⁺⁺, представляющих собой общую субпопуляцию centroбластов и centroцитов (Вm3+Вm4 клетки) (IgD⁻CD38⁺⁺), также подтверждают эту гипотезу. Как известно, такие же закономерности перераспределения клеток в пораженные ткани из периферической крови отмечаются и для Т-лимфоцитов у больных саркоидозом, при этом на периферии отмечается выраженная анергия Т-звена.

Данные анализа субпопуляций В-лимфоцитов крови в группах больных саркоидозом с разной степенью активности заболевания представлены в таблице 3. Оказалось, что абсолютные значения большинства исследуемых субпопуляций В-лимфоцитов (активированных наивных

В-лимфоцитов (Вm2), клеток-предшественников В-лимфоцитов зародышевых центров периферических лимфоидных органов (Вm2'), а также двойных негативных Вm5) при более активном патологическом процессе (у больных II подгруппы) достоверно выше по сравнению с первой группой больных с менее активным воспалительным процессом.

Эти выводы согласуются также с полученными данными о достоверном снижении числа Вm1-наивных клеток, а также Вm5-покоящихся В-клеток памяти в периферической крови больных с более активно протекающим заболеванием (II подгруппа) по сравнению с первой подгруппой пациентов с признаками менее активного воспаления (табл. 3).

Таким образом, полученные данные указывают на активное участие В-лимфоцитов в патогенезе саркоидоза, поскольку при активации воспаления отмечается выраженная активация и В-звена иммунитета, а по мере прогрессирования заболевания снижается число наивных В-лимфоцитов и покоящихся В-клеток памяти в крови.

При использовании метода оценки распределения субпопуляций В-лимфоцитов с помощью маркеров IgD и CD27 получены данные, представленные в таблицах 4 и 5.

В целом по группе обследованных больных саркоидозом ($n = 41$), по сравнению с группой здоровых ($n = 43$) установлено повышенное содержание относительного числа наивных В-лимфоцитов, а также повышенное количество В-лимфоцитов памяти, переключивших изотип иммуноглобулинов и двойных негативных В-лимфоцитов памяти (табл. 4).

Данные о снижении числа В-лимфоцитов совпадают с полученными результатами при использовании классификации "Вm1-Вm5" и указывают, что в целом по группе обследуемых больных с первично-хроническим течением саркоидоза, до начала применения иммуносуперессивной терапии, отмечается анергия В-клеточного звена иммунитета. Обращает на себя внимание достоверное снижение процента В-лимфоцитов памяти, не переключивших изотип иммуноглобулинов ($\text{IgD}^+\text{CD27}^+$) и В-лимфоцитов памяти, переключивших изотип ($\text{IgD}^-\text{CD27}^+$) в периферической крови у обследованных больных саркоидозом II подгруппы по сравнению с больными I подгруппы с менее активным воспалительным процессом (табл. 5). Полученные результаты косвенно могут свидетельствовать о перераспределении субпопуляций В-лимфоцитов памяти из периферической крови в очаги воспаления и также указывают на роль В-звена иммунитета в патогенезе саркоидоза

При использовании оценки коэкспрессии молекул IgD и CD27 для характеристики субпопуляционного состава В-лимфоцитов периферической крови у больных саркоидозом, при подсчете абсолютного числа клеток, достоверных различий между группами больных саркоидозом выявлено не было, в отличие от ранее полученных данных при использовании маркеров "Вm1-Вm5" (табл. 3, 5).

По-видимому, определение субпопуляций В-лимфоцитов крови с помощью классификации маркеров "Вm1-Вm5" является более информативным по сравнению с определением коэкспрессии молекул IgD и CD27 для обследованных групп больных с хроническим течением саркоидоза при разной степени активности заболевания.

При анализе данных литературы отмечены совпадения с нашими данными. Так, Lee N.S. и соавт. отметили выраженное снижение числа $\text{CD27}^+\text{В}$ -клеток памяти у пациентов с тяжелым течением хронического саркоидоза и В-клеточную лимфопению [31]. Изменения в составе В-лимфоцитов периферической крови на разных стадиях дифференцировки и сниженное число В-клеток памяти у пациентов с активным хроническим саркоидозом описаны и другими авторами [41]. Повышенное число активированных наивных В-лимфоцитов с фенотипом $\text{IgD}^+\text{CD38}^+$, сравнительно недавно получивших сигнал активации от В-клеточного рецептора в крови больных саркоидозом, позволяет выдвинуть гипотезу о том, что антигены, вызывающие активацию В-лимфоцитов, постоянно персистируют в организме у таких больных. К числу этиологически значимых антигенов при саркоидозе могут относиться фрагменты внутриклеточно паразитирующих микроорганизмов, например *P. acnes* или ряда других.

Анализ взаимосвязи между числом определяемых субпопуляций В-лимфоцитов и уровнем АПФ в крови больных саркоидозом также подтвердил информативность предложенного в данной работе подхода к разделению больных на две группы — с менее активным (подгруппа I) и более активным (подгруппа II) воспалительным процессом.

Установлены достоверные зависимости между числом клеток, принадлежащих к разным субпопуляциям В-лимфоцитов крови, и значениями активности АПФ (рис. 1-2):

— обратная зависимость, $r = -0,557$ при $p < 0,001$, между относительным числом наивных Вm1-клеток ($\text{IgD}^+\text{CD38}^-$) и уровнем АПФ (рис. 1А);

— прямая зависимость, $r = 0,532$ при $p < 0,001$, между относительным числом наивных клеток с фенотипом IgD^+CD27^- и уровнем АПФ (рис. 2А);

— обратная зависимость, $r = -0,565$ при $p < 0,001$, между относительным числом В-клеток памяти, не переключивших класс синтезируемых антител (IgD^+CD27^+), и уровнем АПФ (рис. 2В).

Данных о сравнении субпопуляционного состава В-лимфоцитов в сопоставлении с активностью саркоидоза в современной литературе крайне мало.

В исследовании Ando M. и соавт. проводится сравнение ряда лабораторных маркеров с активностью и тяжестью течения саркоидоза. Отмечается, что уровень BAFF (B-cell activating factor) в сыворотке крови достоверно коррелирует с активностью саркоидоза, тяжестью заболевания и уровнем АПФ как одним из лабораторных маркеров активности заболевания [5, 7, 44]. Активирующий фактор BAFF относится к TNF-семейству и необходим для развития и нормального функционирования В-лимфоцитов. Он играет важную роль в выживании, дифференцировке клеток и дальнейшей продукции антител. В экспериментальных работах показано, что чрезмерная экспрессия BAFF приводит к активации В- и Т-лимфоцитов, гипергаммаглобулинемии и отложению иммунных комплексов [42]. Блокировка передачи сигнала от сывороточного BAFF на В-клетки при помощи таргетной терапии с применением моноклональных антител к рецептору BAFF (анти-BAFF-R mAb) резко снижает число В-лимфоцитов как фолликулярных, так и маргинальной зоны *in vivo* [39]. Следует отметить, что определение уровня BAFF в крови больных саркоидозом не является рутинным исследованием.

К числу новых лабораторных маркеров активности саркоидоза также относятся растворимый рецептор интерлейкина-2 (sIL-2), хитотриозидаза, сывороточный амилоид А, однако показано, что именно АПФ является по-прежнему наиболее информативным для оценки активности саркоидоза, поскольку его уровни коррелируют с клиническими критериями — проявлениями системности и нарастанием изменений на МСКТ [19, 27, 36, 45].

Изучение особенностей активации гуморального звена иммунитета может способствовать не только более полному пониманию механизмов иммунопатогенеза саркоидоза и роли В-лимфоцитов, но, возможно, со временем будет служить обоснованием для выработки критериев назначения таргетной иммунотерапии.

Таргетная терапия достаточно в редких случаях применяется при лечении саркоидоза и в основном “of label”. Поскольку известно, что Т-механизмы гиперчувствительности, наряду с

активацией В-звена иммунитета, играют важнейшую роль в патогенезе саркоидоза, ряд авторов указывают на необходимость использования в терапии саркоидоза препаратов, обеспечивающих снижение гиперактивных Т-клеточных ответов. Известно, что в процессе гранулемообразования при саркоидозе гиперактивированные интерфероном гамма и фактором некроза опухоли-альфа макрофаги сливаются в гигантские клетки воспаления, в этой связи препарат инфликсимаб, представляющий собой моноклональные антитела к фактору некроза опухоли, мог бы существенно снизить активность гиперчувствительных Т-клеточных иммунных ответов в пораженных тканях у больных саркоидозом.

В последние годы появились работы, свидетельствующие о благоприятном таргетном воздействии и на В-лимфоциты при ряде заболеваний. Терапия с помощью анти-CD20 моноклональных антител приводит к положительному клиническому эффекту при таких классических аутоиммунных заболеваниях, как системная красная волчанка и ревматоидный артрит. Показан также положительный клинический эффект такой терапии при тяжелых формах саркоидоза, нейросаркоидозе, саркоидозе с поражением глаз, сердца [6, 9, 11, 16, 18, 30]. Эти данные успешной таргетной иммунотерапии больных саркоидозом с использованием анти-CD20 моноклональных антител (препарат ритуксимаб) подтверждают важную патогенетическую роль гуморальных механизмов при хроническом течении заболевания с проявлениями системности поражений.

Belkhou A. и соавт. описали случай применения ритуксимаба в качестве альтернативного лечения больной саркоидозом при неэффективности применения системных кортикостероидов. Авторы описывают улучшение клинического состояния пациентки: снижение интенсивности суставных проявлений, снижение астении, нормализацию легочных функциональных тестов [9].

Другая группа авторов описала случай применения ритуксимаба (анти-CD20) после отмены проведенной терапии метотрексатом и инфликсимабом (анти-TNF α) у пациентки с саркоидозом с поражением легочных, медиастинальных, брыжеечных, перитонеальных лимфатических узлов и высокой активностью АПФ. Отмечалось улучшение состояния больной, нормализация уровня АПФ, уменьшение размеров легочных и перитонеальных лимфатических узлов [18]. Cinetto F. и соавт. отмечают снижение прогрессирования поражения легких при хроническом рефрактерном саркоидозе и возможности отмены системных кортикостероидов с течением времени [16]. У больных нейросаркоидозом ритукси-

маб может быть рекомендован при устойчивости к кортикостероидам и другим обычно используемым методам супрессивной иммунотерапии [11]. Применение ритуксимаба также показано при саркоидозе с поражением глаз в качестве альтернативного подхода, при резистентности к другим методам лечения или при наличии противопоказаний к терапии кортикостероидами [6].

В заключение следует отметить, что полученные данные свидетельствуют о важной роли В-клеточного иммунного ответа в патогенезе

саркоидоза и дают возможность оценить особенности гуморального ответа при разной степени активности заболевания.

В дальнейшем необходимы более углубленные клиничко-иммунологические сопоставления, основанные на многофакторном анализе показателей активности заболевания с целью разработки возможных клиничко-иммунологических критериев оценки эффективности терапии саркоидоза и своевременной ее коррекции, возможно, с использованием таргетной иммунотерапии.

Список литературы / References

1. Айсанов З.Р., Амиров Н.Б., Баранова О.П., Визель А.А., Визель И.Ю., Гурылева М.Э., Фаткуллин И.Ф., Чучалин А.Г. Саркоидоз. М.: Атмосфера, 2010. 416 с. [Aisanov Z.R., Amirov N.B., Baranova O.P., Vizel A.A., Vizel I.Yu., Gurileva M.E., Fatkullin I.F., Chuchalin A.G. Sarcoidosis]. Moscow: Atmosphaera, 2010. 416 p.
2. Акопов А.Л., Баранова О.П., Богданов А.Н., Бондаренко И.Б., Двораковская И.В., Илькович М.М., Илькович Ю.М., Лучкевич В.С., Новикова Л.Н., Орлова Г.П., Орлов С.В. Интерстициальные и орфанные заболевания легких. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 560 с. [Akopov A.L., Baranova O.P., Bogdanov A.N., Bondarenko I.B., Dvorakovskaya I.V., Ilkovich M.M., Ilkovich Yu.M., Luchkevich V.S., Novikova L.N., Orlova G.P., Orlov S.V. Interstitial and orphan lung diseases]. Moscow: GEOTAR-Media, 2016. 560 p.
3. Будкова А.И., Лапин С.В., Серебрякова М.К., Кудрявцев И.В., Тришина И.Н., Маслянский А.Л., Тотолян А.А. Субпопуляционный состав В-клеток периферической крови у больных системной красной волчанкой // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, № 2. С. 175-184. [Budkova A.I., Lapin S.V., Serebriakova M.K., Kudryavtsev I.V., Trishina I.N., Maslyansky A.L., Totolian A.A. B-cell subpopulations of peripheral blood in systemic lupus erythematosus. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2017, Vol. 19, no. 2, pp. 175-184. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2017-2-175-184.
4. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян Арег А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» (Проект) // Медицинская иммунология, 2012. Т. 14, № 3. С. 255-268. [Khaydukov S.V., Baydun L.A., Zurochka A.V., Totolian Areg A. Standardized technology "Research of lymphocytes subpopulation composition in peripheral blood using flow cytometry analyzers" (Draft). *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, Vol. 14, no. 3, pp. 255-268. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2012-3-255-268.
5. Ando M., Goto A., Takeno Y., Yamasue M., Komiya K., Umeki K., Nureki S.I., Miyazaki E., Kadota J.I. Significant elevation of the levels of B-cell activating factor (BAFF) in patients with sarcoidosis. *Clin. Rheumatol.*, 2018, Vol. 37, no. 10, pp. 2833-2838.
6. Beccastrini E., Vannozzi L., Bacherini D., Squatrito D., Emmi L. Successful treatment of ocular sarcoidosis with rituximab. *Ocul. Immunol. Inflamm.*, 2013, Vol. 21, no. 3, pp. 244-246.
7. Beijer E., Velthkamp M., Meek B., Moller D.R. Etiology and immunopathogenesis of sarcoidosis: Novel insights. *Semin. Respir. Crit. Care Med.*, 2017, Vol. 38, no. 4, pp. 404-416.
8. Belhomme N., Jouneau S., Bouzillat G., Decaux O., Lederlin M., Guillot S., Perlat A., Jégo P. Role of serum immunoglobulins for predicting sarcoidosis outcome: A cohort study. *PLoS ONE*, 2018, Vol. 13, no. 4, e0193122. doi: 10.1371/journal.pone.0193122.
9. Belkhou A., Younsi R., Bouchti I., Hassani S. Rituximab as a treatment alternative in sarcoidosis. *Joint Bone Spine*, 2008, Vol. 75, pp. 511-512.
10. Bernstein K.E., Ong F.S., Blackwell W.L., Shah K.H., Giani J.F., Gonzalez-Villalobos R.A., Shen X.Z., Fuchs S., Touyz R.M. A modern understanding of the traditional and nontraditional biological functions of angiotensin-converting enzyme. *Pharmacol. Rev.*, 2012, Vol. 65, pp. 1-46.
11. Bompreszi R., Pati S., Chansakul C., Vollmer T. A case of neurosarcoidosis successfully treated with rituximab. *Neurology*, 2010, Vol. 75, pp. 568-570.
12. Broos C.E., van Nimwegen M., Hoogsteden H.C., Hendriks R.W., Kool M., van den Blink B. Granuloma formation in pulmonary sarcoidosis. *Front. Immunol.*, 2013, Vol. 10, no. 4, p. 437.
13. Cannon R.O., Cunnion R.E., Parrillo J.E., Palmeri S.T., Tucker E.E., Schenke W.H., Epstein S.E. Dynamic limitation of coronary vasodilator reserve in patients with dilated cardiomyopathy and chest pain. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1987, Vol. 10, pp. 190-200.
14. Casanova N., Zhou T., Knox K.S., Garcia J.G. Identifying novel biomarkers in sarcoidosis using genome-based approaches. *Clin. Chest Med.*, 2015, Vol. 36, pp. 621-630.

15. Chopra A., Kalkanis A., Judson M.A. Biomarkers in sarcoidosis. *Expert Rev. Clin. Immunol.*, 2016, Vol. 12, pp. 1191-1208.
16. Cinetto F., Compagno N., Scarpa R., Malipiero G., Agostini C. Rituximab in refractory sarcoidosis: a single centre experience. *Clin. Mol. Allergy*, 2015, Vol. 13, no. 1, p. 19.
17. Csongrádi A., Enyedi A., Takács I., Végh T., Mányiné I.S., Pólik Z., Altörjay I.T., Balla J., Balla G., Édes I., Kappelmayer J., Tóth A., Papp Z., Fagyas M. Optimized angiotensin-converting enzyme activity assay for the accurate diagnosis of sarcoidosis. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2018, Vol. 56, no. 7, pp. 1117-1125.
18. Dasilva V., Breuil V., Chevallier P., Euller-Ziegler L. Relapse of severe sarcoidosis with an uncommon peritoneal location after TNFalpha blockade. Efficacy of rituximab, report of a single case. *Joint Bone Spine*, 2010, Vol. 77, pp. 82-83.
19. Duan J., Xu Y., Zhu H., Zhang H., Sun S., Sun H., Wang W., Xie S. Relationship between CT activity score with lung function and the serum angiotensin converting enzyme in pulmonary sarcoidosis on chest HRCT. *Medicine (Baltimore)*, 2018, Vol. 97, no. 36, e12205. doi: 10.1097/MD.00000000000012205.
20. Georas S.N., Chapman T.J., Crouser E.D. Sarcoidosis and T-helper cells. Th1, Th17, or Th17.1? *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2016, Vol. 193, no. 11, pp. 1198-200.
21. Grosso S., Margollicci M.A., Bargagli E., Buccoliero Q.R., Perrone A., Galimberti D., Morgese G., Balestri P., Rottoli P. Serum levels of chitotriosidase as a marker of disease activity and clinical stage in sarcoidosis. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2004, Vol. 64, pp. 57-62.
22. Grutters J.C., Fellrath J.-M., Mulder L., Janssen R., van den Bosch J.M., van Velzen-Blad H. Serum soluble interleukin-2 receptor measurement in patients with sarcoidosis: a clinical evaluation. *Chest*, 2003, Vol. 124, no. 1, pp. 186-195.
23. Häggmark A., Hamsten C., Wiklundh E., Lindskog C., Mattsson C., Andersson E., Lundberg I.E., Grönlund H., Schwenk J.M., Eklund A., Grunewald J., Nilsson P. Proteomic profiling reveals autoimmune targets in sarcoidosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2015, Vol. 191, no. 5, pp. 574-583.
24. Huang H., Lu Z., Jiang C., Liu J., Wang Y., Xu Z. Imbalance between Th17 and regulatory T-cells in sarcoidosis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2013, Vol. 14, no. 11, pp. 21463-21473.
25. Hunninghake G.W., Crystal R.G. Mechanisms of hypergammaglobulinemia in pulmonary sarcoidosis. Site of increased antibody production and role of T lymphocytes. *J. Clin. Invest.*, 1981, Vol. 67, no. 1, pp. 86-92.
26. Janiak P., Libert O., Vilaine J.P. Role of the renin-angiotensin system in neointima formation after injury in rabbits. *Hypertension*, 1994, Vol. 24, pp. 671-678.
27. Kahkouee S., Samadi K., Alai A., Abedini A., Rezaiian L. Serum ACE level in sarcoidosis patients with typical and atypical HRCT manifestation. *Pol. J. Radiol.*, 2016, Vol. 81, pp. 458-461.
28. Kobak S., Yilmaz H., Sever F., Duran A., Sen N., Karaarslan A. The prevalence of antinuclear antibodies in patients with sarcoidosis. *Autoimmune Dis.*, 2014, Vol. 2014, 351852. doi: 10.1155/2014/351852.
29. Kobak S., Yilmaz H., Sever F., Duran A., Sen N. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in patients with sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.*, 2014, Vol. 31, no. 3, pp. 206-210.
30. Krause M.L., Cooper L.T., Chareonthaitawee P., Amin S. Successful use of rituximab in refractory cardiac sarcoidosis. *Rheumatology (Oxford)*, 2016, Vol. 55, no. 1, pp. 189-191.
31. Lee N.S., Barber L., Akula S.M., Sigounas G., Kataria Y.P., Arce S. Disturbed homeostasis and multiple signaling defects in the peripheral blood B-cell compartment of patients with severe chronic sarcoidosis. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2011, Vol. 18, no. 8, pp. 1306-1316.
32. Liu Y., Qiu L., Wang Y., Aimuro H., Zhao Y., Li S., Xu Z. The circulating Treg/Th17 cell ratio is correlated with relapse and treatment response in pulmonary sarcoidosis patients after corticosteroid withdrawal. *PLoS ONE*, 2016, Vol. 11, no. 2, e0148207. doi: 10.1371/journal.pone.0148207.
33. Mathur R.S., Kurdikar V.L., Shah J.R. Serum angiotensin converting enzyme in the diagnosis of pulmonary sarcoidosis. *J. Assoc. Physicians India*, 1990, Vol. 38, pp. 474-475.
34. Miedema J.R., Kaiser Y., Broos C.E., Wijsenbeek M.S., Grunewald J., Kool M. Th17-lineage cells in pulmonary sarcoidosis and Löfgren's syndrome: Friend or foe? *J. Autoimmun.*, 2018, Vol. 87, pp. 82-96.
35. O'Reilly P.J., Ding Q., Akthar S., Cai G., Genschmer K.R., Patel D.F., Jackson P.L., Viera L., Roda M., Locy M.L., Bernstein E.A., Lloyd C.M., Bernstein K.E., Snelgrove R.J., Blalock J.E. Angiotensin-converting enzyme defines matrikine-regulated inflammation and fibrosis. *JCI Insight*, 2017, Vol. 2, no. 22, 91923. doi: 10.1172/jci.insight.91923.
36. Ors F., Gumus S., Aydogan M., Sari S., Verim S., Deniz O. HRCT findings of pulmonary sarcoidosis; relation to pulmonary function tests. *Multidiscip. Respir. Med.*, 2013, Vol. 8, p. 8.
37. Palchevskiy V., Hashemi N., Weigt S.S., Xue Y.Y., Derhovanessian A., Keane M.P., Strieter R.M., Fishbein M.C., Deng J.C., Lynch J.P., Elashoff R., Belperio J.A. Immune response CC chemokines CCL2 and CCL5 are associated with pulmonary sarcoidosis. *Fibrogenesis Tissue Repair*, 2011, Vol. 4, p. 10.
38. Popević S., Šumarac Z., Jovanović D., Babić D., Stjepanović M., Jovičić S., Šobić-Šaranović D., Filipović S., Gvozdenović B., Omčikus M., Milovanović A., Videnović-Ivanov J., Radović A., Žugić V., Mihailović-Vučinić V. Verifying sarcoidosis activity: chitotriosidase versus ace in sarcoidosis – case-control study. *J. Med. Biochem*, 2016, Vol. 35, pp. 390-400.
39. Rauch M., Tussiwand R., Bosco N., Rolink A.G. Crucial role for BAFF-BAFF-R signaling in the survival and maintenance of mature B cells. *PLoS ONE*, 2009, Vol. 4, e5456. doi: 10.1371/journal.pone.0005456.

40. Sakthivel P, Bruder D. Mechanism of granuloma formation in sarcoidosis. *Curr. Opin. Hematol.*, 2017, Vol. 24, no. 1, pp. 59-65.
41. Saussine A., Tazi A., Feuillet S., Rybojad M., Juillard C., Bergeron A., Dessirier V., Bouhidel F., Janin A., Bensussan A., Bagot M., Bouaziz J.D. Active chronic sarcoidosis is characterized by increased transitional blood B cells, increased IL-10-producing regulatory B cells and high BAFF levels. *PLoS ONE*, 2012, Vol. 7, no. 8, 43588. doi: 10.1371/journal.pone.0043588.
42. Stohl W., Xu D., Kim K.S., Koss M.N., Jorgensen T.N., Deocharan B., Metzger T.E., Bixler S.A., Hong Y.S., Ambrose C.M., Mackay F., Morel L., Putterman C., Kotzin B.L., Kallied S.L. BAFF overexpression and accelerated glomerular disease in mice with an incomplete genetic predisposition to systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 2005, Vol. 52, pp. 2080-2091.
43. Ten Berge B., Paats M.S., Bergen I.M., van den Blink B., Hoogsteden H.C., Lambrecht B.N., Hendriks R.W., Kleinjan A. Increased IL-17A expression in granulomas and in circulating memory T cells in sarcoidosis. *Rheumatology (Oxford)*, 2012, Vol. 51, no. 1, pp. 37-46.
44. Ueda-Hayakawa I., Tanimura H., Osawa M., Iwasaka H., Ohe S., Yamazaki F., Mizuno K., Okamoto H. Elevated serum BAFF levels in patients with sarcoidosis: association with disease activity. *Rheumatology (Oxford)*, 2013, Vol. 52, no. 9, pp. 1658-1666.
45. Vorselaars A.D., van Moersel C.H., Zanen P., Ruven H.J., Claessen A.M., van Velzen-Blad H., Grutters J.C. ACE and sIL-2R correlate with lung function improvement in sarcoidosis during methotrexate therapy. *Respir. Med.*, 2015, Vol. 109, pp. 279-285.
46. Weinberg I., Vasiliev L., Gotsman I. Anti-dsDNA antibodies in sarcoidosis. *Semin. Arthritis Rheum.*, 2000, Vol. 29, no. 5, pp. 328-331.
47. Weir E.K. Hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Chest*, 1982, Vol. 82, pp. 519-521.

Авторы:

Лазарева Н.М. — старший лаборант кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Кудрявцев И.В. — к.б.н., доцент кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения; старший научный сотрудник отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Баранова О.П. — к.м.н., старший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт интерстициальных и орфанных заболеваний легких, доцент кафедры пульмонологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Серебрякова М.К. — научный сотрудник отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Бажанов А.А. — врач, Научно-исследовательский институт хирургии и неотложной медицины ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Сесь Т.П. — д.б.н., профессор, профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Lazareva N.M., Senior Laboratory Assistant, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Kudryavtsev I.V., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University; Senior Research Associate, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Baranova O.P., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Research Institute of Interstitial and Orphan Diseases, Associate Professor, Department of Pulmonology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Serebriakova M.K., Research Associate, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Bazhanov A.A., Doctor, Research Institute of Surgery and Emergency Medicine, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Ses' T.P., PhD, MD (Biology), Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Илькович М.М. — д.м.н., профессор, директор Научно-исследовательского института интерстициальных и орфанных заболеваний легких, заведующий кафедрой пульмонологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Тотolian Арег А. — д.м.н., профессор, академик РАН, заведующий кафедрой иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ; заведующий лабораторией молекулярной иммунологии, директор ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Ilkovich M.M., PhD, MD (Medicine), Professor, Director, Research Institute of Interstitial and Orphan Diseases, Head, Department of Pulmonology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Totolian Areg A., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Head, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University; Head, Laboratory of Molecular Immunology, Director, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 31.10.2019
Отправлена на доработку 20.11.2019
Принята к печати 28.11.2019

Received 31.10.2019
Revision received 20.11.2019
Accepted 28.11.2019