

## THE IMPACT OF CYTOMEGALOVIRUS INFECTION ON IMMUNOREGULATORY MECHANISMS IN RHEUMATOID ARTHRITIS

**Madumarova Mahfuza Maksimovna**

Senior Lecturer,  
Department of Pathological Physiology,  
Andijan State Medical Institute,  
Republic of Uzbekistan

**Alimov Nurmukhammad Ilkhomjon ugli**

6th year student, Faculty of General Medicine  
Andijan State Medical Institute,  
Republic of Uzbekistan

### Annotation

Disruption of the balance between effector and regulatory components of the immune system represents the principal pathogenetic mechanism of rheumatoid arthritis. The main etiological factors include the combined effects of genetic predisposition and environmental influences. Disruption of the balance between effector and regulatory components of the immune system represents the main pathogenetic mechanism of rheumatoid arthritis (RA). The principal etiological factors include the combined effects of genetic predisposition and environmental influences. T cells, particularly regulatory T lymphocytes (Tregs), play a significant role in maintaining this balance; however, the functional mechanisms of T-cell subpopulations, as well as the contribution of individual etiological factors in RA, have not yet been fully elucidated.

The aim of this study was to investigate parameters of cellular immunity in RA, with special emphasis on T cells and regulatory T cells, depending on the degree of disease activity and the presence of cytomegalovirus (CMV) infection. In patients with RA, a statistically significant decrease in the number of cells with the CD4<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> phenotypes was observed, depending on the stage of RA activity. The presence of CMV infection in RA patients was associated with a reduction in the number of regulatory T cells (Tregs), CD3<sup>+</sup> T lymphocytes, and CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> cells in peripheral blood.

At the same time, RA was characterized by an increase in the levels of B lymphocytes and CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cells. An increase in anti-CMV antibody levels was also noted, correlating with the degree of RA activity.

**Key words:** cytomegalovirus infection, rheumatoid arthritis, immunity, lymphocytes, regulatory T cells (Tregs).

## ВЛИЯНИЕ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ НА ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

**Мадумарова Махфуза Максимовна**

старший преподаватель кафедры патологической физиологии  
Андижанский государственный медицинский институт  
Республика Узбекистан

**Алимов Нурмухаммад Илхомжон угли**

студент 6-го курса, лечебный факультет  
Андижанский государственный медицинский институт  
Республика Узбекистан

### АННОТАЦИЯ



Нарушения баланса между эффекторными и регуляторными компонентами иммунной системы являются основным патогенетическим механизмом ревматоидного артрита. Основными этиологическими факторами являются комплексное действие генетических факторов и факторов внешней среды. Значительную роль в поддержании такого баланса играют Т-клетки и, в особенности, регуляторные Т-лимфоциты (Treg). Однако механизмы функционирования субпопуляций Т-клеток, а также роль отдельных этиологических факторов при РА до конца не изучены. Целью работы было изучение показателей клеточного иммунитета при РА, в особенности Т- и Treg-клеток при РА в зависимости от степени активности заболевания и наличия цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекции. У пациентов с РА наблюдалось достоверное снижение количества клеток с фенотипами  $CD4^+FOXP3^+$ ,  $CD4^+CD25^+FOXP3^+$  в зависимости от стадии активности РА. Наличие ЦМВ-инфекции у больных РА сопровождалось снижением числа регуляторных Т-клеток (Treg),  $CD3^+$  Т-лимфоцитов,  $CD3^+CD8^+$  клеток периферической крови. Наряду с этим при РА отмечался рост уровня В-лимфоцитов и  $CD4^+CD25^+$  Т-клеток. Отмечено увеличение уровня антител к ЦМВ в зависимости от степени активности РА.

**Ключевые слова:** цитомегаловирусная инфекция, ревматоидный артрит, иммунитет, лимфоциты, Т-регуляторные клетки.

**Актуальность проблемы.** Ревматоидный артрит (РА) представляет собой системное аутоиммунное заболевание с неустановленной этиологией, характеризующееся хроническим воспалением соединительнотканых структур суставов. Формирование и прогрессирование РА сопровождается нарушением иммунорегуляторного равновесия, определяющего функциональное взаимодействие эффекторных и супрессорных клеточных субпопуляций. В физиологических условиях данные механизмы обеспечивают контроль патологической активации Т- и В-лимфоцитов, участвующих в иммуновоспалительных реакциях, и препятствуют развитию аутореактивных процессов. Ведущая роль в реализации аутоиммунного воспаления при РА принадлежит Т-клеточно-опосредованным реакциям. Особое значение при этом отводится регуляторным Т-лимфоцитам (Treg), которые обеспечивают контроль интенсивности иммунного ответа и подавление функциональной активности различных популяций иммунных клеток как в норме, так и при патологических состояниях. Существенный научный интерес представляет изучение участия цитомегаловирусной инфекции человека (ЦМВ), способной оказывать выраженное модулирующее влияние на функции отдельных иммуноцитов и характер воспалительных процессов у пациентов с РА. ЦМВ отличается широкой распространённостью в популяции и высокой тропностью к ряду лимфоидных клеток, вовлечённых в ключевые звенья патогенеза ревматоидного артрита.

**Цель исследования.** Целью исследования стало изучение особенностей субпопуляционного состава иммунных клеток, включая регуляторные Т-лимфоциты, у пациентов с ревматоидным артритом при наличии цитомегаловирусной инфекции.

**Материалы и методы.** В ходе исследования был проведен анализ 18 образцов периферической крови пациентов с диагнозом «ревматоидный артрит» в возрасте  $54,75 \pm 9,8$  лет. Критерии включения пациентов в исследование: мужчины и женщины 25-73 лет с подтвержденным диагнозом «ревматоидный артрит», проинформированные и подписавшие согласие об участии в эксперименте. Критерии исключения из работы: инфекционно-воспалительные заболевания за последний месяц, беременность и лактация, курение, сахарный диабет, наличие иных заболеваний, влияющих на функциональность Treg-клеток (аллергии, наличие опухолей и аутоиммунных заболеваний, за исключением РА). Постановка диагноза «ревматоидный артрит» проводилась с использованием критериев Американской коллегии ревматологов (ACR). Пациенты проходили терапию на основе базисных противовоспалительных препаратов. В качестве контроля анализировали лимфоцитарную фракцию 10 здоровых доноров ( $48,89 \pm 10,5$  лет). Забор материала в



стандартные вакуумные пробирки, содержащие антикоагулянт ЭДТА К3, объемом 4 мл проводили из локтевой вены. С целью исследования лимфоцитов цельной крови применяли метод многоцветной проточной цитометрии на приборе Cytomics FC500. Окрашивание клеток осуществлялось моноклональными антителами: CD3-FITC, CD4-PE, CD8-PC5, CD19-PC7, CD16/56-PE, CD4-PC7, CD25-PC5 FOXP3-FITC и соответствующими изотипическими контролями. Для внутриклеточного окрашивания антителами к FOXP3 применяли набор реагентов с возможностью пермеабиллизации и фиксации клеток. Определение антител к ЦМВ в плазме проводили с использованием метода иммуноферментного анализа.

**Результаты.** В данной работе была проведена оценка относительного содержания основных субпопуляций лимфоцитов (цитотоксических Т-лимфоцитов, Т-хелперов, В-клеток, натуральных киллеров), а также Treg-клеток. В общей группе пациентов с поставленным диагнозом «ревматоидный артрит», по сравнению с контрольной группой, наблюдалось достоверное увеличение численности Т-хелперов ( $CD3^+CD4^+$ ) и активированных  $CD4^+CD25^+$  Т-клеток, а также снижение НК с фенотипом  $CD3^-CD16^+CD56^+$ . Достоверные различия в других субпопуляциях лимфоцитов ( $CD3^-CD19^+$  и  $CD3^+CD8^+$ ) и клеток, экспрессирующих FOXP3 ( $CD4^+FOXP3^+$  и  $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ ) отсутствовали. При прогрессировании РА были установлены значительные изменения в популяционном составе лимфоцитов, в т.ч. Treg-клеток. Разделение пациентов на две группы осуществлялось в зависимости от стадии активности заболевания: первая группа - I степень активности (минимальная), вторая группа - II (средняя) и III (высокая) степенями активности. Наивысший уровень Т-хелперов отмечался в случае пациентов с II-III степенью РА ( $46,42 \pm 9,13$  против  $39,1 \pm 5,6$  в контроле,  $p < 0,05$ ). Также было отмечено достоверное увеличение активированных клеток с фенотипом  $CD4^+CD25^+$  как в первой, так и во второй группах, при этом сравнительная характеристика с контрольной группой показала, что содержание данной субпопуляции клеток вдвое превышает норму в группе со II и III степенями активности. Вместе с тем, с ростом степени активности заболевания наблюдаются значительные изменения в содержании Treg-клеток, экспрессирующих маркер FOXP3. У пациентов с I степенью активности ревматоидного артрита число  $CD4^+FOXP3^+$  и  $CD4^+CD25^+FOXP3^+$  клеток был выше по сравнению с контролем, тогда как в группе пациентов с II и III степенью РА число  $FOXP3^+$  было достоверно ниже ( $p < 0,05$ ). Так, содержание Treg-клеток с фенотипом  $CD4^+CD25^+FOXP3^+$  на ранней стадии заболевания составило  $5,37 \pm 1,5\%$ , а по мере прогрессирования (у пациентов с II и III степенью активности) -  $3,57 \pm 0,9$ , против  $4,39 \pm 0,8\%$  в контроле ( $p < 0,05$ ). Была выявлена обратная корреляция между степенью активности РА, количеством  $CD4^+FOXP3^+$  клеток ( $-0,49$ ,  $p = 0,03$ ) и  $CD4^+CD25^+FOXP3^+$  Treg-клеток ( $-0,54$ ,  $p = 0,02$ ). В данном исследовании проводили оценку влияния цитомегаловирусной инфекции на патогенез РА и состояние различных субпопуляций лимфоцитов. Для этого проводили анализ наличия специфических антител к ЦМВ. Среди пациентов было установлено 33% серопозитивных лиц по титру антител к ЦМВ. В контрольной группе число ЦМВ-серопозитивных лиц составило 5,3%. Вместе с тем была отмечена положительная корреляция между уровнем антител класса IgM к ЦМВ и стадией активности ревматоидного артрита ( $r = 0,59$ ,  $p < 0,05$ ). В группе ЦМВ-серопозитивных пациентов с ЦМВ-инфекцией нами выявлено достоверное понижение уровня Т-лимфоцитов, ЦТЛ, Т-хелперов, а также повышение численности В-лимфоцитов, по сравнению с группой состоящей из ЦМВ-серонегативных пациентов ( $p < 0,05$ ). Было отмечено, что количество активированных Т-хелперов не менялось в зависимости от наличия антител к ЦМВ. Изучение группы ЦМВ-серопозитивных пациентов показало значительное снижение уровня Treg-клеток (в сравнении с ЦМВ-серонегативными больными РА и контролем) (рис.1). При ревматоидном артрите наблюдается обратная корреляция между уровнем IgM антител к ЦМВ и Treg-клеток с



фенотипами  $CD4^+FOXP3^+$  ( $-0,43$ ,  $p=0,04$ ), а также  $CD4^+CD25^+FOXP3^+$  ( $-0,46$ ,  $p=0,03$ ). Обсуждение. Аутоиммунные заболевания, включая РА, определяются как клинические состояния, сопровождаемые активацией иммунцитов, в особенности Т- и В-клеток, и вызывающие развитие воспалений и деструкцию тканей. Другим важным звеном в процессе аутоиммунизации являются Тreg-клетки, снижение количества или нарушение функциональной активности которых приводит к несостоятельности механизмов иммунной супрессии. Имеющиеся данные о качественном и количественном содержании Тreg-клеток при РА достаточно противоречивы, поскольку ранее отмечалось как снижение, так и увеличение их уровня. Также, многие исследования не подтвердили отличие от нормы по содержанию Тreg-клеток у пациентов с РА. В данной работе мы провели анализ показателей клеточного иммунитета у пациентов с РА в зависимости от степени активности заболевания и наличия ЦМВ-инфекции.

По полученным данным, при ревматоидном артрите происходит значительное увеличение доли субпопуляций  $CD4^+$  Т-хелперов - основных эффекторов патологического процесса воспаления при РА. С ростом активности РА эти показатели имеют тенденцию к росту, что соответствует классической картине развития этого заболевания.

Результаты оценки состояния пула Тreg-клеток оказались не столь однозначны. На ранних этапах развития ревматоидного артрита было зафиксировано увеличение доли Тreg-клеток, экспрессирующих транскрипционный фактор FOXP3. Затем, с ростом степени активности заболевания (I - средняя и II - высокая), обнаруживалось достоверное снижение численности Тreg-клеток как в сравнении с группой пациентов с I степенью активности, так и контролем. По всей вероятности, у пациентов с I степенью активности, Тreg-клетки эффективнее сдерживают процесс воспаления, что соответствует пониженным показателям Т-хелперов. По мере прогрессирования РА, у пациентов с II и III степенью активности заболевания, наблюдалось уменьшение количества Тreg-клеток периферической крови наряду с ростом показателей Т-хелперов, равно, как и  $CD4^+CD25^+$  активированных клеток. Изучение литературных данных, содержащих результаты исследований, показало негативную корреляцию между уровнем Тreg-клеток и степенью активности РА по критерию. По мнению других авторов такой связь отсутствует. В связи с этим, представляет значительный интерес понимание механизмов, приводящих к нарушению функционального состояния и содержания Тreg-клеток при РА. В последние годы активно обсуждается гипотеза, рассматривающая герпесвирусную инфекцию как возможный этиологический фактор, инициирующий аутоиммунизацию. Исследуется роль ЦМВ-инфекции при различных аутоиммунных заболеваниях. Однако степень вовлеченности ЦМВ-инфекции в процессы возникновения и развития РА, а также ее влияние на состояние субпопуляций лимфоцитов, не установлены. Одним из центральных механизмов влияния ЦМВ-инфекции на патогенез РА можно считать индукцию ЦМВ-специфичных регуляторных Т-клеток, при этом источником дифференцировки Тreg являются зрелые  $CD4^+$  Т-хелперы. ЦМВ-инфекция человека вызывает стойкие изменения в иммунной системе, которые приводят к способности FOXP3<sup>+</sup> Тreg-клеток супрессировать эффекторные Т-лимфоциты и стимулировать репликацию ЦМВ в слюнных железах и в селезенке в острую инфекционную фазу. При этом сокращение уровня Тreg-клеток приводит к значительному увеличению ЦМВ-специфических  $CD4^+$  Т и  $CD8^+$  Т-клеток. Значительный вклад в данных реакциях играют молекулярные механизмы, связанные с экспрессией CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte associated antigen 4) и трансформирующего фактора роста- $\beta$  (TGF- $\beta$ ). По нашим данным, у ЦМВ-серопозитивных пациентов с диагнозом «ревматоидный артрит» наблюдается достоверное снижение доли Т-хелперов, экспрессирующих маркер FOXP3, а также Тreg-лимфоцитов. В тоже время общее содержание  $CD4^+$  Т-хелперов было значительно выше в группе ЦМВ-серопозитивных пациентов с РА.



**Выводы.** Полученные в ходе исследования данные указывают на наличие у пациентов с ревматоидным артритом смещения иммунного равновесия между аутореактивными CD4<sup>+</sup> Т-хелперами и регуляторными Т-клетками, что свидетельствует о нарушении механизмов иммунной супрессии, направленных на ограничение патологических аутоиммунных реакций. По мере нарастания активности заболевания, а также при наличии цитомегаловирусной инфекции, отмечается выраженное уменьшение доли Трег-клеток, экспрессирующих ключевые регуляторные маркеры CD25 и FOXP3. Одновременно выявляется повышение относительного и абсолютного содержания CD3<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Т-хелперов и CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> цитотоксических Т-лимфоцитов. Вероятно, персистенция ЦМВ-инфекции может способствовать утяжелению клинического течения ревматоидного артрита за счёт функционального угнетения регуляторных Т-клеток, которые в физиологических условиях обеспечивают контроль над развитием иммуновоспалительных процессов. Установление роли цитомегаловирусной инфекции в патогенезе РА представляет значимый клинический интерес и может быть использовано при разработке прогностических и диагностических биомаркеров, а также стратегий персонифицированной терапии. Вместе с тем в настоящее время сведения о влиянии ЦМВ-инфекции на отдельные звенья патогенетического каскада ревматоидного артрита остаются ограниченными. В связи с этим требуется дальнейшее проведение исследований, направленных на углублённое изучение функциональных характеристик клеточного звена иммунной системы при сочетании РА и ЦМВ-инфекции.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Насонов Е.Л., Александрова Е.Н., Авдеева А.С. и др. Т-регуляторные клетки при ревматоидном артрите. Научно-практическая ревматология. 2014; 52: 430–7.
2. Балабанова Р.М., Эрдес Ш.Ф. Динамика распространенности ревматических заболеваний, входящих в XIII класс МКБ-10, в популяции взрослого населения Российской Федерации за 2000–2010 гг. Научно-практическая ревматология. 2012; 52: 10–2.
3. Жулай Г.А., Чуров А.В., Олейник Е.К., Романов А.А., Семакова П.Н., Олейник В.М. Активация CD4<sup>+</sup>CD39<sup>+</sup> Т-клеток при колоректальном раке. Вестник РГМУ. 2018; 3: 49–55.
4. Чуров А.В. Регуляторные Т-клетки и старение организма. Успехи геронтологии. 2013; 26: 603–9.
5. Кравченко П.Н., Жулай Г.А., Чуров А.В., Олейник Е.К., Олейник В.М., Барышева О.Ю., Везикова Н.Н., Марусенко И.М. Субпопуляции регуляторных Т-лимфоцитов в периферической крови больных ревматоидным артритом. Вестник Российской академии медицинских наук. 2016; 71: 148–53.
6. Жулай Г.А., Олейник Е.К., Островский К.А., Олейник В.М., Кравченко П.Н., Чуров А.В. Субпопуляционный состав лимфоцитов как показатель иммунной супрессии при остром панкреатите. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2014; 9: 21–5.
7. Alimov Nurmukhammad, & Madumarova M.M. (2023). Pharmacological, farmodynamic properties of antioxidant drugs. European International Journal of Multidisciplinary Research and Management Studies, 3(11), 17–20.

