



New Day in Medicine
Новый День в Медицине

NDM



TIBBIYOTDA YANGI KUN

Ilmiy referativ, marifiy-ma'naviy jurnal



AVICENNA-MED.UZ



ISSN 2181-712X.
EiSSN 2181-2187

5 (79) 2025

Сопредседатели редакционной коллегии:

**Ш. Ж. ТЕШАЕВ,
А. Ш. РЕВИШВИЛИ**

Ред. коллегия:

М.И. АБДУЛЛАЕВ
А.А. АБДУМАЖИДОВ
Р.Б. АБДУЛЛАЕВ
Л.М. АБДУЛЛАЕВА
А.Ш. АБДУМАЖИДОВ
М.А. АБДУЛЛАЕВА
Х.А. АБДУМАДЖИДОВ
Б.З. АБДУСАМАТОВ
М.М. АКБАРОВ
Х.А. АКИЛОВ
М.М. АЛИЕВ
С.Ж. АМИНОВ
Ш.Э. АМОНОВ
Ш.М. АХМЕДОВ
Ю.М. АХМЕДОВ
С.М. АХМЕДОВА
Т.А. АСКАРОВ
М.А. АРТИКОВА
Ж.Б. БЕКНАЗАРОВ (главный редактор)
Е.А. БЕРДИЕВ
Б.Т. БУЗРУКОВ
Р.К. ДАДАБАЕВА
М.Н. ДАМИНОВА
К.А. ДЕХКОНОВ
Э.С. ДЖУМАБАЕВ
А.А. ДЖАЛИЛОВ
Н.Н. ЗОЛотова
А.Ш. ИНОЯТОВ
С. ИНДАМИНОВ
А.И. ИСКАНДАРОВА
А.С. ИЛЬЯСОВ
Э.Э. КОБИЛОВ
А.М. МАННАНОВ
Д.М. МУСАЕВА
Т.С. МУСАЕВ
М.Р. МИРЗОЕВА
Ф.Г. НАЗИРОВ
Н.А. НУРАЛИЕВА
Ф.С. ОРИПОВ
Б.Т. РАХИМОВ
Х.А. РАСУЛОВ
Ш.И. РУЗИЕВ
С.А. РУЗИБОЕВ
С.А.ГАФФОРОВ
С.Т. ШАТМАНОВ (Кыргызстан)
Ж.Б. САТТАРОВ
Б.Б. САФОЕВ (отв. редактор)
И.А. САТИВАЛДИЕВА
Ш.Т. САЛИМОВ
Д.И. ТУКСАНОВА
М.М. ТАДЖИЕВ
А.Ж. ХАМРАЕВ
Д.А. ХАСАНОВА
Б.З. ХАМДАМОВ
А.М. ШАМСИЕВ
А.К. ШАДМАНОВ
Н.Ж. ЭРМАТОВ
Б.Б. ЕРГАШЕВ
Н.Ш. ЕРГАШЕВ
И.Р. ЮЛДАШЕВ
Д.Х. ЮЛДАШЕВА
А.С. ЮСУПОВ
Ш.Ш. ЯРИКУЛОВ
М.Ш. ХАКИМОВ
Д.О. ИВАНОВ (Россия)
К.А. ЕГЕЗАРЯН (Россия)
DONG JINCHENG (Китай)
КУЗАКОВ В.Е. (Россия)
Я. МЕЙЕРНИК (Словакия)
В.А. МИТИШ (Россия)
В.И. ПРИМАКОВ (Беларусь)
О.В. ПЕШИКОВ (Россия)
А.А. ПОТАПОВ (Россия)
А.А. ТЕПЛОВ (Россия)
Т.Ш. ШАРМАНОВ (Казахстан)
А.А. ЩЕГОЛОВ (Россия)
С.Н. ГУСЕЙНОВА (Азербайджан)
Prof. Dr. KURBANHAN MUSLUMOV(Azerbaijan)
Prof. Dr. DENIZ UYAK (Germany)

**ТИББИЁТДА ЯНГИ КУН
НОВЫЙ ДЕНЬ В МЕДИЦИНЕ
NEW DAY IN MEDICINE**

*Илмий-рефератив, маънавий-маърифий журнал
Научно-реферативный,
духовно-просветительский журнал*

УЧРЕДИТЕЛИ:

**БУХАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
ООО «ТИББИЁТДА ЯНГИ КУН»**

Национальный медицинский
исследовательский центр хирургии имени
А.В. Вишневского является генеральным
научно-практическим
консультантом редакции

Журнал был включен в список журнальных
изданий, рецензируемых Высшей
Аттестационной Комиссией
Республики Узбекистан
(Протокол № 201/03 от 30.12.2013 г.)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

М.М. АБДУРАХМАНОВ (Бухара)
Г.Ж. ЖАРЫЛКАСЫНОВА (Бухара)
А.Ш. ИНОЯТОВ (Ташкент)
Г.А. ИХТИЁРОВА (Бухара)
Ш.И. КАРИМОВ (Ташкент)
У.К. КАЮМОВ (Тошкент)
Ш.И. НАВРУЗОВА (Бухара)
А.А. НОСИРОВ (Ташкент)
А.Р. ОБЛОКУЛОВ (Бухара)
Б.Т. ОДИЛОВА (Ташкент)
Ш.Т. УРАКОВ (Бухара)

5 (79)

2025

май

www.bsmi.uz
https://newdaymedicine.com E:
ndmuz@mail.ru
Тел: +99890 8061882

Received: 20.04.2025, Accepted: 10.05.2025, Published: 15.05.2025

УДК 616.72-002.44:616.155.1

АКТИВАЦИЯ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ CD147 ТРОМБОЦИТАМИ СПОСОБСТВУЕТ ФОРМИРОВАНИЮ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ФЕНОТИПА МОНОЦИТОВ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

Рузиев Зариф Мухаммадович <https://orcid.org/0009-0009-3541-4725>

Бухарский государственный медицинский институт имени Абу Али ибн Сины, Узбекистан, г. Бухара, ул. А. Навои. 1 Тел: +998 (65) 223-00-50 e-mail: info@bsmi.uz

✓ Резюме

Ревматоидный артрит (РА) является хроническим аутоиммунным заболеванием, характеризующимся воспалением и повреждением суставов. Недавние исследования показали, что тромбоциты играют важную роль в патогенезе РА, участвуя в активации иммунных клеток и воспалительных процессов. В данной работе мы исследуем роль белка CD147 на поверхности тромбоцитов в индуцировании провоспалительного фенотипа моноцитов при РА. Мы обнаружили, что взаимодействие тромбоцитов с моноцитами через CD147 приводит к изменению фенотипа моноцитов, особенно в подмножестве CD14++CD16+CCR2+ (Mon2), которое связано с повышенной продукцией провоспалительных цитокинов и активацией транскрипционных факторов, таких как NF-κB. Эти результаты указывают на важную роль тромбоцитов в формировании воспалительного ответа при РА и предлагают CD147 как потенциальную мишень для разработки новых терапевтических подходов

Ключевые слова: Ревматоидный артрит, тромбоциты, моноциты, CD147, провоспалительный фенотип, воспаление, цитокины

ACTIVATION OF THE CD147 SIGNALING PATHWAY BY PLATELETS PROMOTES THE PROINFLAMMATORY PHENOTYPE OF MONOCYTES IN RHEUMATOID ARTHRITIS

Ruziyev Zarif Muxammadovich

Bukhara State Medical Institute named after Abu Ali ibn Sina, Uzbekistan, Bukhara, st. A. Navoi. 1 Tel: +998 (65) 223-00-50 e-mail: info@bsmi.uz

Bukhara State Medical Institute named after Abu Ali ibn Sina, Uzbekistan, Bukhara, st. A. Navoi. 1 Tel: +998 (65) 223-00-50 e-mail: info@bsmi.uz

✓ Resume

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic autoimmune disease characterized by joint inflammation and damage. Recent studies have highlighted the crucial role of platelets in the pathogenesis of RA through their interaction with immune cells and contribution to inflammatory processes. In this study, we investigated the role of the surface protein CD147 on platelets in inducing a proinflammatory monocyte phenotype in RA. We found that platelet-monocyte interactions mediated by CD147 lead to phenotypic changes in monocytes, particularly within the CD14++CD16+CCR2+ (Mon2) subset, which is associated with increased production of proinflammatory cytokines and activation of transcription factors such as NF-κB. These findings underscore the important role of platelets in shaping the inflammatory response in RA and propose CD147 as a potential therapeutic target for novel treatment strategies

Keywords: Rheumatoid arthritis, platelets, monocytes, CD147, proinflammatory phenotype, inflammation, cytokines

TROMBOSITLAR TOMONIDAN CD147 SIGNAL YO‘LINING FAOLLASHUVI REVMATOID ARTRITDA MONOTSITLARNING YALLIG‘LOVCHI FENOTIPINI SHAKLLANTIRADI

Ruziyev Zarif Muxammadovich

Abu Ali ibn Sino nomidagi Buxoro davlat tibbiyot instituti, O‘zbekiston, Buxoro, st. A. Navoiy. 1
Tel: +998 (65) 223-00-50 e-mail: info@bsmi.uz

✓ *Rezyume*

Revmatoid artrit (RA) — bu bo‘g‘imlarning yallig‘lanishi va shikastlanishi bilan kechadigan surunkali avtoimmun kasallikdir. So‘nggi tadqiqotlar shuni ko‘rsatmoqdaki, trombositlar immun hujayralari bilan o‘zaro ta’sirlashib, yallig‘lanish jarayonlarida muhim rol o‘ynaydi va RA patogenezida ishtirok etadi. Ushbu ishda biz RA bilan og‘rigan bemorlarda trombositlar yuzasidagi CD147 oqsili monotsitlarning yallig‘lovchi fenotipini qanday qilib yuzaga keltirishini o‘rgandik. Trombositlar va monotsitlar o‘rtasidagi CD147 vositasida yuz beradigan o‘zaro ta’sir monotsit fenotipining o‘zgarishiga olib kelishini aniqladik, ayniqsa CD14++CD16+CCR2+ (Mon2) subpopulyatsiyasida, bu esa yallig‘lovchi sitokinlar ishlab chiqarilishining ortishi va NF-κB kabi transkripsion omillar faollashuvi bilan bog‘liq. Ushbu natijalar RA dagi yallig‘lanish javobining shakllanishida trombositlarning muhim rolini tasdiqlaydi va CD147 molekulasini yangi terapevtik yondashuvlar uchun potentsial nishon sifatida ko‘rsatadi

Kalit so‘zlar: Revmatoid artrit, trombositlar, monotsitlar, CD147, yallig‘lovchi fenotip, yallig‘lanish, sitokinlar

Актуальность

Ревматоидный артрит (РА) — хроническое воспалительное заболевание с активацией иммунной системы в синовиальной оболочке суставов и системными проявлениями. Важную роль в патогенезе РА играют моноциты и макрофаги, которые выделяют провоспалительные цитокины, такие как ФНО-α и ИЛ-6. Ранее моноциты рассматривались как однородная популяция, но современные исследования выделяют три подтипа моноцитов: классические CD14++CD16–CCR2+ (Mon1), промежуточные CD14++CD16+CCR2+ (Mon2) и неклассические CD14+CD16++CCR2– (Mon3). У пациентов с РА наблюдается увеличение числа CD16+ моноцитов, в частности Mon2, что связано с воспалительными процессами. Недавние исследования показали, что тромбоциты играют ключевую роль в патофизиологии воспалительного артрита, а CD147, экспрессия которого увеличивается при активации тромбоцитов, активирует сигнальные пути, включая NF-κB, что способствует продукции ММП, ФНО-α и ИЛ-6. Однако роль взаимодействий между моноцитами и тромбоцитами в патогенезе РА и механизмы изменения фенотипа моноцитов требуют дальнейшего изучения.

Цель исследования: оценить активацию тромбоцитов, динамику изменений в популяциях моноцитов и их ассоциацию с образованием АМТ у пациентов с РА. Вторая цель — выявить механизм, посредством которого взаимодействия между моноцитами и тромбоцитами влияют на фенотип и функции моноцитов.

Материал и метод исследования

В исследование были включены 30 пациентов с активной формой ревматоидного артрита (РА), соответствующих классификационным критериям Американского колледжа ревматологии/Европейской антиревматической лиги (ACR/EULAR) [1]. Средний возраст пациентов составлял 44 года (в диапазоне от 20 до 72 лет), средняя продолжительность заболевания — 8 лет. У всех пациентов отмечалась активная форма болезни, соответствующая следующим критериям: (1) припухлость как минимум шести суставов; (2) болезненность как минимум шести суставов; и (3) выполнение двух из следующих трёх условий: (а) утренняя скованность длится более 45 минут в день визита; (б) скорость оседания эритроцитов (СОЭ) ≥28 мм/ч; (в) уровень С-реактивного белка (CRP) ≥20 мг/дл. Все пациенты либо не получали лечения, либо принимали только нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП). Для оценки

активности заболевания у всех пациентов рассчитывался суммарный балл активности болезни по 28 суставам (DAS-28) [24]. Показатель DAS > 3,6 свидетельствовал об активной фазе болезни, тогда как DAS < 2,6 рассматривался как ремиссия. Контрольные образцы периферической крови были получены у 10 здоровых доноров, сопоставимых по возрасту и полу с группой пациентов. Исследование было одобрено этическим комитетом Четвёртого военно-медицинского университета. Все участники исследования (пациенты и контрольная группа) подписали информированное согласие.

Флуоресцентные антитела с предварительной конъюгацией были приобретены в компании BD Biosciences (Сан-Хосе, Калифорния, США): CD14–фикоэритрин (PE), P-селектин (CD62P)–PE, иммуноглобулин G (IgG1)–PE, CD16–PE-Cy5, CD40L–PE, CD42a–флуоресцеинизотиоцианат (FITC), PAC-1–FITC, CD147–FITC, TNF- α –FITC, IL-6–FITC, CD61–PerCP, CCR2–Alexa Fluor и набор BrdU Flow Kit. Антитело против CD147 было предоставлено кафедрой клеточной биологии Четвёртого военно-медицинского университета. Также использовалось антитело против ИКК-бета.

Пробирки с кровью натошак брали с добавлением антикоагулянта АСД (кислота–цитрат–декстроза), а мононуклеарные клетки периферической крови (PBMCS) выделяли с использованием градиента плотности Фиколла для последующего анализа методом проточной цитометрии [2]. Моноциты дополнительно выделяли после градиентной центрифугации Фиколла методом положительной селекции с помощью микросфер, покрытых антителами (Miltenyi Biotec, Бергш-Гладбах, Германия), согласно протоколу производителя. Чистоту полученной популяции моноцитов оценивали с использованием проточной цитометрии по показателям прямого и бокового рассеяния света (FSC и SSC); доля моноцитов составляла 96% от общего числа клеток. Моноциты ресуспендировали до концентрации 10^6 клеток/мл в полном культуральном растворе (RPMI 1640, содержащий 100 Ед/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 2 мМ глутамин и 10% инактивированной при нагревании эмбриональной телячьей сыворотки; Gibco BRL/Life Technologies, Гранд-Айленд, штат Нью-Йорк, США). К суспензии моноцитов добавляли очищенные тромбоциты (в итоговом объёме 1 мл; соотношение моноциты:тромбоциты = 1:100) и инкубировали при 37 °С в атмосфере 5% CO₂ в течение 48 часов.

Методика окрашивания поверхностных белков клеток была ранее описана [3]. Моноциты изначально отбирались (гейтировались) на основе их характеристик по прямому и боковому рассеянию света, после чего в пределах гейта измеряли трехцветную флуоресценцию. Подтипирование моноцитов проводили по экспрессии CD14 и CD16. Клетки CD14+CD16– (Mon1) определялись как моноциты, экспрессирующие CD14, но не CD16. Далее CD14+CD16+ моноциты подразделялись по экспрессии CCR2 на CD14++CD16+CCR2+ (Mon2) и CD14+CD16++CCR2– (Mon3). В каждом эксперименте анализировали не менее 20 000 событий в гейте моноцитов. Результаты представлялись в виде процента положительных клеток. Циркулирующие моноцит-тромбоцитарные агрегаты (MPA) определялись по двойной экспрессии CD14 и CD42a. Внутриклеточное окрашивание цитокинов выполнялось с использованием набора фиксации и проницаемости BD Cytotfix/Cytoperm (BD Biosciences). Соответствующие антитела IgG использовались в качестве изотипических контролей. После промывки в фосфатно-солевом буфере (PBS), окрашенные клетки анализировались на проточном цитофлуориметре FACS Calibur с использованием программного обеспечения CellQuest (BD Biosciences).

Моноциты (1×10^6 клеток/мл), выделенные от здоровых доноров, инкубировали с липополисахаридом (LPS), моноклональным антителом против CD147 [4] или ингибитором ИКК (Cell Signaling Technology, Данверс, Массачусетс, США) в течение 2 часов до начала совместного культивирования (co-culture) или непрямого совместного культивирования (indirect co-culture). Для совместного культивирования очищенные тромбоциты добавляли к моноцитам (соотношение моноциты:тромбоциты = 1:100) и инкубировали при 37 °С и 5% CO₂ в течение 48 часов. Для непрямого совместного культивирования использовали камеры Transwell (Merck Millipore, Биллерика, Массачусетс, США) с полиcarbonateовыми фильтрами (поровой размер 0,4 мкм), что позволяло обмениваться растворимыми молекулами, но исключало контакт клеток. Вкратце, моноциты (1×10^6 клеток/мл) помещались в верхнюю камеру, тогда как в нижнюю

камеру добавляли тромбоциты (1×10^8 клеток/мл) или только культуральную среду. Пролиферацию подтипов моноцитов измеряли с использованием набора BrdU Flow Kit в соответствии с инструкциями производителя.

Представленные результаты являются репрезентативными минимум для трёх независимых экспериментов и выражены как среднее значение \pm стандартное отклонение (SD). Статистический анализ проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента или критерия Манна–Уитни, в зависимости от применимости. Для множественных сравнений с одной контрольной группой применяли дисперсионный анализ с поправкой по тесту Даннетта. Все статистические расчеты выполнялись в программе GraphPad. Значения $P < 0,05$ считались статистически значимыми.

Результат и обсуждение

Согласно данным проточной цитометрии, доля клеток, положительных по маркерам CD147, PAC-1 и P-селектину (CD62P), была значительно выше среди тромбоцитов активных больных РА (в среднем \pm СК: $47,63 \pm 3,1\%$, $41,73 \pm 2,89\%$ и $10,18 \pm 1,15\%$ соответственно) и у пациентов с неактивной формой РА ($28,69 \pm 1,42\%$, $17,41 \pm 1,63\%$ и $3,99 \pm 0,46\%$ соответственно), по сравнению со здоровыми донорскими тромбоцитами ($12,26 \pm 0,83\%$, $3,8 \pm 0,44\%$ и $0,39 \pm 0,07\%$ соответственно; $P < 0,05$), особенно в группе с активным течением заболевания. Доля тромбоцитов, положительных по экспрессии CD40L у пациентов с активной формой РА ($6,11 \pm 0,44\%$), также была выше, чем у здоровых лиц ($3,3 \pm 0,56\%$; $P < 0,05$), в то время как при неактивной форме РА этот показатель не отличался от такового у здоровых ($P > 0,05$). Выраженность экспрессии CD147, PAC-1, CD62P и CD40L на тромбоцитах у пациентов с активной формой РА была достоверно выше, чем у пациентов с неактивной формой ($P < 0,01$). Кроме того, уровень экспрессии CD147 на тромбоцитах был значительно выше, чем уровни экспрессии PAC-1, CD62P и CD40L в общей популяции испытуемых. Активность заболевания, оцениваемая по шкале DAS-28, достоверно положительно коррелировала с экспрессией PAC-1, CD62P и CD147 (коэффициенты корреляции: $r = 0,50$, $r = 0,57$ и $r = 0,63$ соответственно; $P < 0,05$) в группе пациентов с активным РА.

Моноциты были классифицированы на CD14⁺⁺CD16⁻CCR2⁺ (Mon1), CD14⁺⁺CD16⁺CCR2⁺ (Mon2) и CD14⁺CD16⁺⁺CCR2⁻ (Mon3). Частота Mon2 и Mon3 в периферической крови пациентов с активной формой РА ($22,2 \pm 1,45\%$ и $17,17 \pm 1,41\%$ соответственно) и с неактивной формой ($12,87 \pm 1,27\%$ и $13,33 \pm 1,04\%$ соответственно) была выше, чем у здоровых людей ($7,26 \pm 0,51\%$ и $10,64 \pm 0,56\%$ соответственно; $P < 0,05$), особенно выражено это было для Mon2. Подробный анализ демографических и клинических данных не выявил значимой связи между расширением популяции Mon2 и другими параметрами (данные не представлены). Экспрессия CD147 была повышена во всех трех подтипах моноцитов у пациентов с РА по сравнению со здоровыми. Доля CD147-положительных клеток среди Mon1, Mon2 и Mon3 у пациентов с активным РА ($45,15 \pm 2,28\%$, $24 \pm 1,52\%$ и $15,46 \pm 0,911\%$ соответственно) и у пациентов с неактивной формой ($34,47 \pm 1,33\%$, $12,24 \pm 0,61\%$ и $12,19 \pm 0,65\%$ соответственно) была достоверно выше, чем у здоровых лиц ($29,47 \pm 2,39\%$, $6,74 \pm 0,51\%$ и $9,79 \pm 0,46\%$ соответственно), за исключением Mon1 при неактивном РА. Уровень экспрессии CD147 на Mon2 у пациентов с активным и неактивным РА был значительно выше (в 3,56 и 1,82 раза соответственно), чем на Mon1 (в 1,55 и 1,17 раза) и Mon3 (в 1,58 и 1,25 раза).

Уровень циркулирующих моноцит-тромбоцитарных агрегатов (МРА) был значительно выше у пациентов с РА (активной и неактивной формами — $55,36 \pm 2,53\%$ и $37,32 \pm 1,22\%$ соответственно) по сравнению со здоровыми донорами ($15,69 \pm 3,33\%$; $P < 0,0001$). Также была увеличена доля моноцитов Mon1, Mon2 и Mon3, образующих агрегаты с тромбоцитами у пациентов с активным РА ($30,38 \pm 1,65\%$, $14,41 \pm 1,28\%$ и $9,23 \pm 0,68\%$ соответственно) и с неактивным РА ($12 \pm 0,72\%$, $6,65 \pm 0,33\%$ и $5,87 \pm 0,53\%$ соответственно) по сравнению со здоровыми ($11,34 \pm 0,82\%$, $1,68 \pm 0,39\%$ и $2,67 \pm 0,16\%$ соответственно; $P < 0,0001$), за исключением Mon1 при неактивном РА. Доля Mon2, образующих агрегаты с тромбоцитами, была выше (в 8,6 и 4 раза при активном и неактивном РА соответственно), чем у Mon1 (в 2,7 и 1,1 раза) и Mon3 (в 3,5 и 2,2 раза). При анализе взаимосвязей между уровнями МРА и другими показателями (процентом Mon2, экспрессией CD147 на тромбоцитах и на Mon2), выявлены

линейные положительные корреляции: между МРА и процентом Mon2 ($r = 0,66$; $P < 0,0001$), между МРА и экспрессией CD147 на тромбоцитах ($r = 0,61$; $P = 0,0004$), между МРА и экспрессией CD147 на Mon2 ($r = 0,77$; $P < 0,0001$). При этом уровень МРА коррелировал в большей степени с уровнем экспрессии CD147 на Mon2, чем с их процентным содержанием в образцах отдельных пациентов. У здоровых контрольных субъектов подобной корреляции не наблюдалось. Уровень МРА не коррелировал с количеством Mon1 и Mon3.

Ревматоидный артрит (РА) — это хроническое аутоиммунное воспалительное заболевание, поражающее в первую очередь синовиальные суставы, и его причины до сих пор остаются неясными. Целью данного исследования было выяснить, могут ли тромбоциты индуцировать про-воспалительный фенотип моноцитов при РА.

У пациентов с активным РА наблюдалась повышенная частота моноцитов CD14^{high}CD16⁺ [5]. Однако, поскольку подмножества CD14⁺⁺CD16⁺ и CD14⁺CD16⁺⁺ пересекаются при определении только по экспрессии CD14/16, необходима более точная классификация. В соответствии с последними данными и консенсусом по номенклатуре подтипов моноцитов, мы определили, что два фенотипически и функционально различных подтипа CD16⁺ можно надёжно различать по экспрессии рецептора CCR2. Клетки CD14⁺⁺CD16⁺CCR2⁺ (Mon2) представляют собой отдельную популяцию моноцитов, отличную от классических CD14⁺⁺CD16⁻CCR2⁺ (Mon1) и неклассических CD14⁺CD16⁺⁺CCR2⁻ (Mon3) подтипов. Наше исследование показало высокую частоту Mon2 моноцитов в периферической крови пациентов с активным РА, что согласуется с другими исследованиями, связывающими Mon2 с воспалительными заболеваниями [6], и подтверждает их про-воспалительную роль.

Повышенная частота Mon2 может быть опосредованным следствием снижения циркулирующих Mon1, которые считаются менее зрелыми, чем Mon2, что говорит о более зрелом состоянии моноцитов в крови больных РА или об их миграции в воспалённые суставы. Однако точные механизмы повышения Mon2 при РА пока не изучены и требуют дальнейших исследований.

Ранее было показано, что CD147 преимущественно экспрессируется на активированных воспалительных клетках, таких как моноциты. Мы предположили, что повышенная экспрессия CD147 на Mon2 дополнительно подтверждает их участие в воспалительном ответе. Экспрессия CD147 на тромбоцитах также была описана [7] и может выполнять различные биологические функции, включая индукцию MMP. Мы обнаружили высокую экспрессию CD147 на циркулирующих тромбоцитах у пациентов с РА. Также была выявлена выраженная корреляция между экспрессией CD147 на тромбоцитах, экспрессией CD147 на моноцитах (и их подмножествах), воспалительными маркерами и традиционными маркерами активации тромбоцитов (CD62P и PAC-1).

Кроме того, при использовании проточной цитометрии цельной крови, минимизирующей активацию клеток при обработке, оказалось, что доля CD147⁺ тромбоцитов значительно превышает долю CD62P⁺ или PAC-1⁺, что указывает на более конститутивную (постоянную) экспрессию CD147 по сравнению с другими маркерами. CD147 может быть уникальным маркером активности заболевания, отражающим степень активации тромбоцитов при РА. Также установлена положительная корреляция между экспрессией CD147 на тромбоцитах и индексом активности заболевания DAS-28, что согласуется с данными по традиционным маркерам. CD147 способен к гомотипическому связыванию, что может вызывать дегрануляцию тромбоцитов [7]. Эти данные подтверждают патогенетическую значимость CD147 при РА. Мы также выявили линейную корреляцию между уровнями образования комплексов тромбоцит–моноцит (МРА) и экспрессией CD147 на тромбоцитах. В ходе исследования мы продемонстрировали, что количество Mon2 возрастает при активной фазе РА при наличии активированных тромбоцитов и формировании МРА, тогда как блокада CD147 устраняла образование МРА и фенотипические сдвиги, что наблюдалось только при контактной ко-культуре тромбоцитов и моноцитов.

Ранее сообщалось, что тромбоциты могут изменять экспрессию CD16 у моноцитов [8], и это связывали с терминальной дифференцировкой в макрофаги. Наши данные *in vitro* и модель ко-культуры показывают, что физический контакт между тромбоцитами и моноцитами критически важен и, скорее всего, осуществляется через взаимодействие CD147/CD147, что запускает изменения фенотипа циркулирующих моноцитов, но не их терминальную дифференцировку.

Более того, была выявлена линейная корреляция между уровнями МРА, процентом Mon2 и экспрессией CD147 на Mon2, что подтверждает функциональную связь между тромбоцитами и расширением подгруппы Mon2 при РА. Эксперименты с BrdU подтвердили, что тромбоциты с повышенной экспрессией CD147 могут усиливать воспалительный каскад посредством прямого контакта с моноцитами.

Контактная ко-культура тромбоцитов и моноцитов приводила к увеличению Mon2, в то время как при отсутствии контакта этого не наблюдалось; аналогично эффект нивелировался при блокировке CD147. Mon2 содержали более высокие уровни внутриклеточных провоспалительных цитокинов (IL-6 и TNF- α), чем Mon1 и Mon3, что подтверждает их усиленный про-воспалительный потенциал. Связь между тромбоцитами и моноцитами, вероятно, объясняется синхронной активацией CD147 на обеих популяциях — особенно у Mon2 — под действием общих агонистов. Например, гомотипическое связывание CD147 на моноцитах индуцирует выработку IL-6 и TNF- α [7]. Некоторые из этих факторов активируют тромбоциты [30–32] и, как показано, коррелируют с активностью РА, что подтверждается и нашей оценкой экспрессии CD147 на тромбоцитах.

Также показано, что экспрессия CD147 усиливается при дифференцировке моноцитов в макрофаги, что приводит к секреции MMP-2 и MMP-9 и повышению инвазивных свойств моноцитов [9], что согласуется с нашими данными об увеличении активности MMP-9 при контактной ко-культуре с РА-тромбоцитами. Как и у Galt et al. [4], блокада CD147 снижала этот эффект, что указывает на участие взаимодействия CD147–CD147 в секреции MMP-9. Совокупность данных свидетельствует о том, что CD147 на поверхности тромбоцитов взаимодействует с CD147 на моноцитах, активируя MMP-9, и может рассматриваться как новая терапевтическая мишень для снижения протеазной активности и воспаления при РА. Хотя CD147 играет важную роль во взаимодействии тромбоцитов с Mon2, точные внутриклеточные пути его действия пока остаются неясными. Мы показали, что CD147 активирует NF- κ B, который, в свою очередь, стимулирует продукцию MMP-9 и провоспалительных цитокинов (IL-6 и TNF- α), при этом этот эффект может быть снижен блокадой CD147 или ингибитором NF- κ B *in vitro*. Эти данные подтверждают более ранние наблюдения о повышенной экспрессии CD147 на циркулирующих моноцитах при РА [34], сопровождающейся повышением уровней IL-6 и TNF- α в плазме [10–12]. Хотя путь NF- κ B активировался и в Mon2, и в Mon3 при контактной ко-культуре, наибольшее его повышение наблюдалось в Mon2, что объясняется их ведущей ролью в формировании воспалительного цитокинового фона.

Насколько нам известно, регуляторная функция CD147 в подгруппах моноцитов и продукции воспалительных цитокинов ранее не описывалась для РА. Таким образом, полученные нами данные поддерживают концепцию того, что CD147-опосредованные взаимодействия регулируют широкую, NF- κ B-зависимую активность Mon2, выходящую за рамки только продукции MMP. Кроме того, CD147 может играть важную роль в системном воспалении и быть потенциальной терапевтической мишенью при РА.

Заключение

В целом, результаты данного исследования расширяют понимание роли экспрессии CD147 на тромбоцитах при ревматоидном артрите (РА). Кроме того, полученные данные указывают на важную роль моноцитов подтипа Mon2 в поддержании и формировании провоспалительной цитокиновой среды, что тесно связано с уровнем активации тромбоцитов и, возможно, обусловлено им. Наши результаты проливают новый свет на значимость взаимодействий между тромбоцитами и моноцитами в патофизиологии РА, причём CD147 может играть ключевую роль в этом процессе через путь NF- κ B. Блокада CD147 представляется перспективной терапевтической стратегией для пациентов с РА.

Несмотря на значительный прогресс в понимании роли тромбоцитов и моноцитов в патогенезе ревматоидного артрита, существующие исследования остаются ограниченными. Механизмы, через которые взаимодействия между этими клетками влияют на воспалительные процессы и изменение фенотипа моноцитов, ещё недостаточно изучены. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы полноценно раскрыть эти сложные взаимодействия и их

влияние на развитие заболевания. Изучение этих процессов откроет новые горизонты для разработки более эффективных терапевтических стратегий, направленных на борьбу с РА.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРА:

1. Aletaha D, Neogi T, Silman A. J., Funovits J, Felson D.T., Bingham C.O. 3rd, Birnbaum N.S., Burmester G.R., Bykerk V.P., Cohen M.D., Combe B., Costenbader K.H., Dougados M, Emery P, Ferraccioli G, Hazes J.M., Hobbs K, Huizinga T.W., Kavanaugh A, Kay J, Kvien T.K., Laing T, Mease P, Ménard H.A., Moreland L.W., Naden R.L., Pincus T, Smolen J.S., Stanislawski-Biernat E, Symmons D, et al: 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* 2010, 62:2569–2581
2. Rossol M, Kaltenhäuser S, Scholz R, Häntzschel H, Hauschildt S, and Wagner U: The contact-mediated response of peripheral blood monocytes to preactivated T cells is suppressed by serum factors in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2005, 7:1189–1199.
3. Rossol M, Meusch U, Pierer M, Kaltenhäuser S, Häntzschel H, Hauschildt S, Wagner U: Interaction between transmembrane TNF and TNFR1/2 mediates the activation of monocytes by contact with T cells. *J Immunol* 2007, 15:4239–4248
4. Galt SW, Lindemann S, Medd D, Allen LL, Kraiss LW, Harris ES, Prescott SM, McIntyre TM, Weyrich AS, Zimmerman GA: Differential regulation of matrix metalloproteinase-9 by monocytes adherent to collagen and platelets. *Circ Res* 2001, 89:509–516
5. Rossol M, Kraus S, Pierer M, Baerwald C, Wagner U: The CD14bright CD16+ monocyte subset is expanded in rheumatoid arthritis and promotes Th17 expansion. *Arthritis Rheum* 2012, 64:671–677
6. Tapp LD, Shantsila E, Wrigley BJ, Pamukcu B, Lip GY: The CD14++CD16+ monocyte subset and monocyte-platelet interactions in patients with ST-elevation myocardial infarction. *J Thromb Haemost* 2012, 10:1231–1241
7. Mickelson JK, Lakkis NM, Villarreal-Levy G, Hughes BJ, Smith CW: Leukocyte activation with platelet adhesion after coronary angioplasty: a mechanism for recurrent disease? *J Am Coll Cardiol* 1996, 28:345–353
8. Ammon C, Kreutz M, Rehli M, Krause SW, Andreesen R: Platelets induce monocyte differentiation in serum-free coculture. *J Leukoc Biol* 1998, 63:469–476.
9. Zhou J, Zhu P, Jiang JL, Zhang Q, Wu ZB, Yao XY, Tang H, Lu N, Yang Y, Chen ZN: Involvement of CD147 in over expression of MMP-2 and MMP-9 and enhancement of invasive potential of PMA-differentiated THP-1. *BMC Cell Biol* 2005, 6:25.
10. Shore A, Jaglal S, Keystone EC: Enhanced interleukin 1 generation by monocytes in vitro is temporally linked to an early event in the onset or exacerbation of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 1986, 65:293–302.

Поступила 20.03.2025