

РЕГУЛЯТОРНЫЕ Т-КЛЕТКИ ПРИ ОСТРОМ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ И ИХ ВЗАИМОСВЯЗЬ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ ОТВЕТом И РАЗВИТИЕМ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

© 2019 г. С. А. Морозов^{1*}, Н. В. Пронкина¹, Н. М. Старостина¹,
О. Ю. Леплина¹, А. А. Останин¹, А. А. Штоббе²,
Е. Р. Черных¹

*E-mail: el-gorra@mail.ru

¹ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

²Городская клиническая больница № 1, Новосибирск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 01.04.2019

В работе продемонстрировано, что в первые 24–48 час после ишемического инсульта (ИИ) у пациентов отмечалось достоверное возрастание в циркуляции относительного содержания регуляторных Т-клеток (CD4⁺CD25^{hi}) и снижение Th1 (CD4⁺IFNγ⁺) клеток, а также увеличение лейкоцитов, нейтрофильно-лимфоцитарного индекса и уровня СРБ. Характерно, что у пациентов с развившейся впоследствии инфекцией возрастание CD4⁺CD25^{hi} Т-клеток и снижение CD4⁺IFNγ⁺ Т-лимфоцитов было менее выраженным, а уровень воспалительной реакции – достоверно выше, чем в оппоритной группой. Наибольшие различия между анализируемыми группами проявлялись при оценке соотношения CD4⁺IFNγ⁺ и CD4⁺CD25^{hi} Т-клеток. Индекс CD4⁺IFNγ⁺/CD4⁺CD25^{hi} в группе с инфекцией 3-кратно превышал таковой у пациентов с отсутствием инфекционных осложнений, коррелировал с концентрацией СРБ (R=0,54; p=0,02) и при значении >1,14 позволял прогнозировать развитие инфекции со специфичностью 85,7% и чувствительностью 68,8%.

Ключевые слова: CD4⁺CD25^{hi}, CD4⁺IFNγ⁺, СРБ, ишемический инсульт, инфекционные осложнения

DOI: 10.31857/S102872210006918-4

Адрес: 630091 Новосибирск, ул. Ядринцевская 14, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория клеточной иммунотерапии, Морозов Сергей Александрович. Тел.: +79139523270

E-mail: el-gorra@mail.ru

Авторы:

Морозов С. А., аспирант лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Пронкина Н. В., к.б.н., зав. лабораторией клинической иммунологии ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Старостина Н. М., к.м.н., зав. отделением иммунологии ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии» Новосибирск, Россия;

Леплина О. Ю., д.м.н., ведущий научный сотрудник ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Останин А. А., д.м.н., главный научный сотрудник ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Штоббе А. А., к.м.н., зав. отделением неврологии МБУЗ «Городская клиническая больница № 1», Новосибирск, Россия;

Черных Е. Р., д.м.н., зав. лабораторией клеточной иммунотерапии ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии» Новосибирск, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

Регуляторные Т-клетки (Трег) играют важную роль в патогенезе ишемического инсульта (ИИ), однако данные об изменении этих клеток в остром периоде заболевания представлены единичными исследованиями, а роль Трег остается неоднозначной. Обладая способностью ингибировать воспалительную реакцию, выработку металлопротеиназ, активность эффекторных Т-клеток и активацию микроглии, Трег могут оказывать нейропротективный эффект [1, 2]. Позитивный эффект Трег так же может быть обусловлен стимулирующим влиянием на нейрогенез [3] и постишемическую неоваскуляризацию [4]. С другой стороны, Трег могут участвовать в индукции иммуносупрессии, являющейся

ведущей причиной инфекционных осложнений и летальности при ИИ [5].

Целью исследования явилось изучение взаимосвязи Трег с выраженностью системной воспалительной реакции и Th1 ответа, а также развитием инфекционных осложнений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было рекрутировано 44 пациента (22 мужчины и 22 женщины в возрасте от 53 до 80 лет) с ИИ > 8 баллов по шкале тяжести инсульта (NIHSS). Обследование проводилось в первые двое суток с момента развития ИИ. Контролем служили 20 сопоставимых по полу и возрасту доноров. Количество Трег ($CD4^+CD25^{hi}$) и $CD4^+$ Т-клеток, экспрессирующих внутриклеточно интерферон- γ ($CD4^+IFN\gamma^+$), исследовали методом проточной цитофлюориметрии с использованием соответствующих моноклональных антител (BD PharMingen, NJ, USA). Лабораторные исследования включали определение СРБ и общий анализ крови. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программ Statistica 6.0 и Graph Pad Prism 5.0. Данные представлены в виде среднего значения (М) и стандартной ошибки среднего значения (S.E.M.). Корреляционную связь оценивали с помощью коэффициента корреляции Спирмена (rs), оценка прогностической значимости – с использованием ROC-анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Пациенты в остром периоде ИИ характеризовались достоверно повышенным содержанием $CD4^+CD25^{hi}$ ($2,1 \pm 0,15$ против $1,04 \pm 0,1\%$; $p=0,0002$) Т-клеток и сниженной долей $CD4^+IFN\gamma^+$ Т-лимфоцитов ($5,3 \pm 1,2$ против $15,7 \pm 4,5\%$; $p=0,005$), уровень которых обратно коррелировал с содержанием $CD4^+CD25^{hi}$ Т-клеток ($R_s = -0,47$; $p=0,007$). Развитие инфекционных осложнений в сроки до 28 дней было зарегистрировано у 19 (43%) пациентов. В 8 случаях диагностировалась пневмония, в 11 – мочевиная инфекция ($n=11$). В 11 из 19 случаев инфекция явилась причиной 28-суточной летальности. Относительное содержание $CD4^+CD25^{hi}$ Т-клеток у пациентов с инфекционными осложнениями составляло $1,65 \pm 0,19\%$ и было достоверно ниже, чем у больных с отсутствием инфекции ($2,64 \pm 0,26\%$; $p = 0,009$), тогда как содержание $CD4^+IFN\gamma^+$ Т-клеток в группе с инфекционными осложнениями было выше, чем в группе без инфекций ($8,1 \pm 2,2$ против $3,04 \pm 0,86\%$; $p=0,035$).

Соответственно, индекс соотношения $CD4^+IFN\gamma^+ / CD4^+CD25^{hi}$ в группе с инфекционными осложнениями 3-кратно превышал таковой в группе без инфекций. Пациенты с наличием инфекционных осложнений отличались также от оппозитной группы более высокими показателями лейкоцитоза ($12,7 \pm 1,2$ против $9,3 \pm 0,51$; $p=0,016$), нейтрофильно-лейкоцитарного индекса ($10,6 \pm 2,0$ против $6,95 \pm 1,1$; $p=0,007$) и СРБ ($94,3 \pm 18,4$ против $32,8 \pm 6,4$ мг/л; $p=0,0002$), отражающих выраженность системной воспалительной реакции. Причем индекс $CD4^+IFN\gamma^+ / CD4^+CD25^{hi}$ прямо коррелировал с концентрацией СРБ ($R=0,54$; $p=0,02$). Более того, оценка прогностической значимости индекса $CD4^+IFN\gamma^+ / CD4^+CD25^{high}$ с привлечением ROC-анализа показала, что площадь под ROC-кривой составляла 0,80 (ДИ 0,64–0,96, $p=0,005$), и пороговое значение индекса > 1,14 позволяло прогнозировать развитие инфекции со специфичностью 85,7% и чувствительностью 68,8%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Возрастание $CD4^+CD25^{high}$ Трег в первые двое суток после ИИ ассоциировано с меньшей выраженностью системного воспалительного ответа, меньшим количеством $CD4^+IFN\gamma^+$ Т-клеток и меньшим риском развития инфекционных осложнений в последующие 28 суток. Причем индекс $CD4^+IFN\gamma^+ / CD4^+CD25^{hi}$ Т-клеток в первые 24–48 час после ИИ может быть использован в качестве предиктора развития инфекционных осложнений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Yan J., Read S.J., Henderson R.D., Hull R., O'Sullivan J., McCombe P., Greer J. Frequency and function of regulatory T cells after ischaemic stroke in humans. *Journal of Neuroimmunology*. 2012, 243; 1–2, 89–94.
2. Liesz A., Kleinschnitz C. Regulatory T cells in Post-stroke Immune Homeostasis. *Transl Stroke Res*. 2016, 7; 4, 313–321.
3. Saino O., Taguchi A., Nakagomi T., Nakano-Doi A., Kashiwamura S., Doe N., Nakagomi N., Soma T., Yoshikawa H., Stern D., Okamura H. Immunodeficiency reduces neural stem/progenitor cell apoptosis and enhances neurogenesis in the cerebral cortex after stroke. *J. Neurosci Res*, 2010, 88, 2385–2389.
4. Zougari Y., Ait-Oufella H., Waeckel L., Vilar J., Loizard C., Cochain C., Recalde A., Duriez M., Levy B., Lutgens E., Silvestre J. Regulatory T cells modulate postischemic neovascularization. *Circulation*. 2009, 120, 1415–1425.
5. Shi K., Wood K., Shi F., Wang X, Liu Q. Stroke-induced immunosuppression and poststroke infection. *Stroke Vasc Neurol*. 2018, 3, 34–41.

**REGULATORY T-CELLS IN ACUTE ISCHEMIC STROKE
AND THEIR RELATION WITH INFLAMMATORY RESPONSE
AND DEVELOPMENT OF INFECTIOUS COMPLICATIONS**

© 2019 S. A. Morozov^{1*}, M. A. Tikhonova¹, N. M. Starostina¹,
O. Y. Leplina¹, E. Y. Shevela¹, A. A. Ostanin¹, A. A. Shtobbe²,
E. R. Chernykh¹

*E-mail: el-gorra@mail.ru

¹Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

²City Clinical Hospital № 1, Novosibirsk, Russia

Received: 15.03.2019. **Accepted:** 01.04.2019

The study has demonstrated a significant increase in percentage of circulating CD4⁺CD25^{hi} regulatory T cells and a decrease in Th1 (CD4⁺IFN γ ⁺ N cells), as well as elevated leukocyte count, neutrophil-to-lymphocyte ratio and CRP level during the first 24–48 hours after onset of ischemic stroke (IS). Of note, patients with poststroke infection had less pronounced increase in CD4⁺CD25^{hi} T-cells and the decrease in CD4⁺IFN γ ⁺ T lymphocytes, while inflammatory response was significantly higher than in the opposite group. The largest difference between groups was observed when assessing the ratio of CD4⁺IFN γ ⁺ and CD4⁺CD25^{hi} T cells. The ratio of CD4⁺IFN γ ⁺/CD4⁺CD25^{hi} in patients with infections was 3 times higher than in the group without infectious complications, correlated with the concentration of CRP (R = 0.54; p = 0.02) and the value of ratio > 1.14 allowed to predict infection with a specificity of 85.7% and a sensitivity of 68.8%.

Key words: CD4⁺CD25^{hi} T cells, CD4⁺IFN γ ⁺ T cells, CRP, ischemic stroke, infectious complications

Authors:

Morozov S. A., ☒ post-graduate student, laboratory of cellular immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia. **E-mail:** el-gorra@mail.ru;

Pronkina N. V., PhD, Head of laboratory of clinical immunology, Researcher Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

Starostina N. M., PhD, Head of Department of immunology, Researcher Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

Leplina O. Yu., MD, Leading Researcher, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

Ostanin A. A., MD, Chief Researcher Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

Shtobbe A. A., PhD, Head of Department of neurilgy, City Clinical Hospital № 1, Novosibirsk, Russia;

Chernykh E. R., MD, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of laboratory of cellular immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia.