

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

© 2019 г. С. А. Морозов<sup>1\*</sup>, Н. В. Пронкина<sup>1</sup>, Н. М. Старостина<sup>1</sup>,  
О. Ю. Леплина<sup>1</sup>, А. А. Останин<sup>1</sup>, А. А. Штоббе<sup>2</sup>,  
Е. Р. Черных<sup>1</sup>

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

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup>Городская 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<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>) и снижение Th1 (CD4<sup>+</sup>IFNγ<sup>+</sup>) клеток, а также увеличение лейкоцитов, нейтрофильно-лимфоцитарного индекса и уровня СРБ. Характерно, что у пациентов с развившейся впоследствии инфекцией возрастание CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> Т-клеток и снижение CD4<sup>+</sup>IFNγ<sup>+</sup> 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<sup>+</sup>IFNγ<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> Т-клеток. Индекс CD4<sup>+</sup>IFNγ<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> 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<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>, CD4<sup>+</sup>IFNγ<sup>+</sup>, 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- $\gamma$  ( $CD4^+IFN\gamma^+$ ), 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 (M) 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<sup>1\*</sup>, M. A. Tikhonova<sup>1</sup>, N. M. Starostina<sup>1</sup>,  
O. Y. Leplina<sup>1</sup>, E. Y. Shevela<sup>1</sup>, A. A. Ostanin<sup>1</sup>, A. A. Shtobbe<sup>2</sup>,  
E. R. Chernykh<sup>1</sup>

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

<sup>1</sup>Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

<sup>2</sup>City 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<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> regulatory T cells and a decrease in Th1 (CD4<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup> 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<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> T-cells and the decrease in CD4<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup> 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<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> T cells. The ratio of CD4<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> 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<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> T cells, CD4<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup> 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.