

## АНАЛИЗ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК СУПРЕССОРНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

© 2019 Ю. А. Шевченко<sup>1\*</sup>, М. С. Кузнецова<sup>1</sup>, Ю. А. Лопатникова<sup>1</sup>,  
Д. В. Демина<sup>1</sup>, Ю. А. Сенникова<sup>3</sup>, О. П. Воробьева<sup>1,2</sup>

\*E-mail: shevcen@ngs.ru

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной  
и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный  
университет», Новосибирск, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, Новосибирск, Россия

Поступила: 19.02.2019. Принята: 04.03.2019

У пациентов с atopическими аллергическими заболеваниями количество или функциональные особенности Т-регуляторных клеток могут быть недостаточными. Существенный вклад в столь большое разнообразие полученных данных вносит и определение фенотипических характеристик Т-регуляторных клеток. Основные сложности в работе по поиску корреляций между супрессорными популяциями и развитием патогенетических процессов: отсутствие строго определенного набора маркеров для Т-регуляторных клеток, зависимость от стадии заболевания, длительности приема глюкокортикостероидов и других лекарственных препаратов. Не менее важным в изучении участия Т-регуляторных клеток при развитии патологических реакций является не только анализ содержания Т-регуляторных клеток, но и оценка их функциональной активности, по уровню экспрессии мембраносвязанных функциональных молекул и продукции ими растворимых факторов.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, иммунорегуляторные цитокины, Т-регуляторные клетки

DOI: 10.31857/S102872210007003-8

**Адрес:** 630099 г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, д.14, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория молекулярной иммунологии, Шевченко Юлия Александровна.  
**Тел./факс:** +7(383) 222-19-10.

**E-mail:** shevcen@ngs.ru

**Авторы:**

**Шевченко Ю. А.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Кузнецова М. С.**, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Лопатникова Ю. А.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Демина Д. В.**, к.м.н., заведующая аллергологическим отделением Клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-ис-

следовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Сенникова Ю. А.**, к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России;

**Воробьева О. П.**, к.м.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия; преподаватель кафедры клинической биохимии Института медицины и психологии им. В. Зельмана Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Основная масса научно-исследовательских работ по изучению участия Т-регуляторных популяций в патогенезе заболеваний связана с анализом их относительного содержания, при этом само фенотипирование популяций также

различается у разных авторов. Регуляторные Т-клетки представляют собой Т-клетки, которые подавляют потенциально опасные иммунные ответы. Двумя основными подмножествами Т-регуляторных клеток являются CD25<sup>hi</sup>, Foxp3<sup>+</sup> и IL-10-продуцирующие.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В нашей работе было проведено фенотипирование Т-регуляторных клеток у больных бронхиальной астмой в момент поступления в стационар, после базисной терапии, и через месяц после обострения заболевания. Было обследовано 11 пациентов с бронхиальной астмой: 10 человек со средней степенью тяжести, персистирующим течением, 1 тяжелым персистирующим течением; 9 женщин и 2 мужчин, средний возраст 40,09±3,1, 23 образца от условно-здоровых доноров (4 мужчины и 19 женщин, средний возраст 49,83±3,9).

Анализ проводился после подсчета лейкоцитоза с помощью клинического гемоанализатора. К цельной крови (500 тыс. лейкоцитов, но не более 100 мкл) в цитометрической пробирке добавляли моноклональные антитела к поверхностным маркерам CD45, CD4, CD25, GITR, LAG3, CD39, PD-1, CTLA-4. После мечения поверхностными маркерами проводили фиксацию, пермеабиллизацию и окрашивание клеток моноклональными антителами к внутриклеточным белкам FoxP3, IL-10, IDO, TGFb. Анализ образцов проводили на проточном цитометре BD FACS Verse. Обработка полученных данных выполнена в программе GraphPadPrizm, с использованием теста Kruskal-Wallis с поправкой

на множественные сравнения. Статистически значимыми считаются результаты при  $p < 0.05$ .

При анализе экспрессии фенотипических и функциональных молекул на клетках популяции Foxp3 Т-регуляторных клеток у пациентов с бронхиальной астмой было показано значимое снижение процента клеток экспрессирующих PD-1, а также клеток с одновременной экспрессией IDO<sup>+</sup> PD-1<sup>+</sup>, CD39<sup>+</sup>PD-1<sup>+</sup>, CTLA-4<sup>+</sup>TGFb<sup>+</sup>, CTLA-4<sup>+</sup>IL-10<sup>+</sup>, IL-10<sup>+</sup>TGFb<sup>+</sup>. Подобные изменения говорят о существенном нарушении функционального состояния натуральных Т-регуляторных клеток у пациентов с активным воспалительным процессом. Изучение субпопуляции IL-10 продуцирующих клеток CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> позволило обнаружить еще более выраженные нарушения фенотипического и функционального состояния супрессорных популяций у пациентов с бронхиальной астмой. Показано достоверное снижение количества клеток экспрессирующих IDO<sup>+</sup>GITR<sup>+</sup>, TGF<sup>+</sup>Lag3<sup>+</sup>, TGF<sup>+</sup>CTLA-4<sup>+</sup>, Lag3<sup>+</sup>CTLA-4<sup>+</sup> в группе больных с высокой активностью заболевания по сравнению со здоровыми донорами

Таким образом, проведенный анализ фенотипических и функциональных характеристик позволил получить статистически значимые различия на ограниченной выборке пациентов с бронхиальной астмой. Полученные результаты позволяют обосновать продолжение поисковых научных исследований по набору пациентов, увеличению базы данных для проведения корректного статистического анализа по поиску новых диагностических и прогностических критериев тяжести и течения патогенеза данного заболевания.

## ANALYSIS OF PHENOTYPIC AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF SUPPRESSOR POPULATIONS IN BRONCHIAL ASTHMA

© 2019 J. A. Shevchenko<sup>1\*</sup>, M. S. Kuznetsova<sup>1</sup>, Yu. A. Lopatnikova<sup>1</sup>,  
D. V. Demina<sup>1</sup>, J. A. Sennikova<sup>3</sup>, O. P. Vorobyova<sup>1,2</sup>

\*E-mail: shevcen@ngs.ru

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

<sup>2</sup>Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia;

<sup>3</sup>Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

Received: 19.02.2019. Accepted: 04.03.2019

In patients with atopic allergic diseases, the number or functional characteristics of T-regulatory cells may be insufficient. The determination of the phenotypic characteristics of T-regulatory cells also makes a significant contribution to such a large variety of data obtained. The main difficulties in finding correlations between suppressor populations and the development of pathogenetic processes: the absence of a well-defined set of markers for T-regulatory cells, dependence on the stage of the disease, the duration of taking glucocorticosteroids and other drugs. No less important in studying the involvement of T-regulatory cells in the development of pathological reactions is not only the analysis of the content of T-regulatory cells, but also the assessment of their functional activity, the level of expression of membrane-bound functional molecules and the production of soluble factors by them.

*Key words:* bronchial asthma, immunoregulatory cytokines, T-regulatory cells

### Authors:

**Shevchenko J. A.**, ✉ Ph.D., Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia. **E-mail:** shevcen@ngs.ru;

**Kuznetsova M. S.**, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Lopatnikova Yu. A.**, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Demina D. V.**, PhD, Head of Allergology Department, Clinic of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Sennikova J. A.**, PhD, Associate Professor, Department of Clinical Immunology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia;

**Vorobyeva O. P.**, PhD, Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia, Lecturer, Department of Clinical Biochemistry, Institute of Medicine and Psychology. V. Zelman Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia.