

Authors:

Anikeeva O. S., ✉ junior researcher of Neuroimmunology Laboratory FSBSI “Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology”, Novosibirsk, Russia;

630099, Novosibirsk, 14 Yadrintzevskaya Street. **E-mail:** osa7.7@mail.ru;

Markova E. V., Ph.D., M.D., head of Neuroimmunology laboratory, FSBSI “Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology”, Novosibirsk, Russia.

ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ Т-ЛИМФОЦИТЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ТЕЧЕНИИ САРКОИДОЗА

© 2018 г. **О. П. Баранова¹, И. В. Кудрявцев^{1,2*}, Н. М. Лазарева^{1,3},
М. К. Серебрякова², Т. П. Сесь^{1,3}, М. М. Илькович¹,
Арег А. Тотолян^{1,4}**

*E-mail: igorek1981@yandex.ru

¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия;

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия;

³ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

⁴ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

В исследовании показаны особенности экспрессии CD39 и CD73 цитотоксическими Т-лимфоцитами у больных хроническим саркоидозом (n=58). Относительное количество CD39⁺ было достоверно выше среди «наивных» и клеток центральной памяти. Также отмечалось достоверное снижение CD73⁺ клеток по мере уровня их созревания. Полученные данные могут помочь в расширении понимания участия цитотоксических Т-лимфоцитов в патогенезе саркоидоза с учетом их роли в функционировании системы пуринаргической регуляции.

Ключевые слова: саркоидоз, цитотоксические Т-лимфоциты, CD39, CD73, проточная цитометрия

DOI: 10.31857/S102872210002610-6

Адрес: 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», отдел иммунологии, Кудрявцеву Игорю Владимировичу
Тел.: +7 812 234 29 29. **E-mail:** igorek1981@yandex.ru.

Авторы:

Баранова О. П., к.м.н., с.н.с. Научно-исследовательского института интерстициальных и орфанных заболеваний легких, доцент кафедры пульмонологии ФПО ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия;

Кудрявцев И. В., к.б.н., с.н.с. отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; доцент кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия;

Лазарева Н. М., старший лаборант кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»; научный сотрудник лаборатории морфофизиологии микроорганизмов ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

Серебрякова М. К., н.с. отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия;

Сесь Т. П., д.б.н., проф., профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»; ведущий научный сотрудник лаборатории морфофизиологии микроорганизмов ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

Илькович М. М., д.м.н., профессор, директор Научно-исследовательского института интерстициальных и орфанных заболеваний легких, заведующий кафедрой пульмонологии ФПО ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия;

Тотолян Арег А., академик РАН, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»; директор, ФБУН Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Введение. Саркоидоз – полисистемное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся развитием иммунного воспаления с формированием эпителиоидноклеточных гранул без некроза с исходом в рассасывание или фиброз [1].

Неказеифицирующие гранулы представлены макрофагами, Т-хелперами, прилежащими к центру гранулы, и на периферии – цитотоксическими Т-лимфоцитами (Тцит), регуляторными Т-клетками, фибробластами и В-лимфоцитами. Ключевую роль в формировании и поддержании воспаления в соединительной ткани играют механизмы цитокиновой и пуриnergической регуляции, причем последним, основанным на высвобождении АТФ из поврежденных клеток, в настоящее время уделяется особое внимание [2]. После выхода АТФ во внеклеточное пространство происходит дефосфорилирование данной молекулы сывороточными и мембранными ферментами.

Основными нуклеотидазами, участвующими в этом процессе, являются CD39 (E-NTPDase1, англ. «ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1») и CD73 (Ecto5'NTase, англ. «ecto-5'-nucleotidase»). Первая метаболизирует АТФ до АДФ, пирофосфата и АМФ. Последний, в свою очередь, расщепляется до аденозина и фосфата с помощью поверхностного рецептора CD73 [3]. Таким образом, активность CD39 и CD73 обеспечивает баланс провоспалительного АТФ и противовоспалительного аденозина в очаге воспаления. Традиционно особое внимание уделяется оценке уровня экспрессии данных ферментов на поверхности регуляторных Т-лимфоцитов, циркулирующих в периферической крови или инфильтрирующих очаг воспаления [2]. Вместе с тем, роль Тцит в механизмах пуриnergической регуляции остается слабо изученной. Поэтому **целью** данного исследования стало изучение особенностей экспрессии CD39 и CD73 различными субпопуляциями Тцит у больных с хроническим течением саркоидоза.

Материалы и методы. Объектом исследования служила венозная кровь 58 больных с хроническим дебютом саркоидоза в возрасте 20–67 лет, не получавших иммуносупрессивную терапию. Больные обследовались в клинике НИИ интерстициальных и орфанных заболеваний легких, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России. В группу контроля вошли образцы крови 42 практически здоровых лиц аналогичного возрастного и полового состава.

Все лабораторные исследования проводились в день взятия крови методом проточной цитометрии (Navios™, Beckman Coulter, США). Алгоритм выявления основных популяций Тцит по экспрессии ими CD39 и CD73, и панель моноклональных антител, применяемая в данном исследовании была описана ранее [4]. Статистический анализ осуществляли при помощи программ Statistica 8.0 (StatSoft, США) и GraphPadPrism 4.00 for Windows (GraphPadPrism Software Inc., США).

Результаты. В ходе исследования экспрессия CD39 была обнаружена на поверхности 2,36% (1,26; 3,77) Тцит больных саркоидозом и 2,20% (0,42; 4,03) Тцит группы контроля ($p=0,777$). У больных саркоидозом выявлено увеличение CD39⁺ клеток среди «наивных» Тцит (с 0,87% (0,33; 1,58) до 1,24% (0,60; 2,67), $p=0,036$) и Тцит центральной памяти (с 6,92% (0,94; 13,6) до 14,00% (7,63; 21,09), $p=0,003$) по сравнению со здоровыми, тогда как по клеткам эффекторной памяти и зрелым эффекторным Тцит достоверных различий не наблюдалось. Известно, что CD39⁺ Тцит могут рассматриваться в качестве одной из популяций регуляторных CD8⁺ Т-клеток, они способны экспрессировать маркеры, свойственные «классическим» регуляторным Т-клеткам с фенотипом CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺, а также проявлять супрессорную активность по отношению к активированным Т-хелперам в условиях *in vitro* [4].

Относительное содержание CD73⁺ Тцит у больных саркоидозом было достоверно ниже, чем в группе контроля (21,65% (10,31; 31,69) и 28,14% (16,83; 37,38), соответственно ($p=0,008$)). Число «наивных» Тцит с фенотипом CD73⁺ между группами было примерно равно (75,73% (64,79; 84,58) и 78,45% (72,89; 83,48), соответственно, $p=0,279$). Клеточные популяции более «зрелых» фенотипов у больных саркоидозом содержали меньшее число CD73⁺ лимфоцитов. Так, для клеток центральной памяти эти значения составили 18,44% (10,34; 24,52) и 19,87% (14,78; 26,55), соответственно ($p=0,038$), для клеток эффекторной памяти – 4,74% (2,73; 7,40) и 8,68% (4,98; 12,01), соответственно ($p<0,001$), а для зрелых эффекторных клеток – 4,26% (2,39; 7,73) и 6,86% (3,81; 11,84), ($p=0,008$). Следует отметить, что снижение уровня экспрессии CD73 на цитотоксических Т-лимфоцитах по мере их созревания можно рассматривать как один из способов реализации эффекторных функций этих клеток в очаге воспаления [4].

Обсуждение/выводы. Тцит периферической крови обладают широким спектром эффекторных и регуляторных молекул, принимающих непосредственное участие в реализации функциональной активности Тцит при их контакте с клетками-мишенями [5]. Так, в ходе проведенного исследования у больных саркоидозом отмечены нарушения в механизмах эффективного функционирования системы пуринергической регуляции, связанные с изменением уровня экспрессии CD39 и CD73 Тцит. Особенный интерес представляют полученные результаты о снижении уровня экспрессии CD73, необходимого для образования противовоспалительного аденозина, что может ограничивать функциональную активность различных клеток через активацию A2AR рецепторов, и, возможно, окажется значимым для применения в клинической лабораторной диагностике [3,4]. Анализ этих механизмов поможет позволить выработать новые подходы, направленные на повышение эффективности назначаемой пациентам терапии и позволит с новых позиций приблизиться к пониманию механизмов патогенеза различных заболеваний, включая и саркоидоз.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Илькович М. М., Баранова О. П. Саркоидоз органов дыхания. В кн.: Интерстициальные и орфанные заболевания легких. Под ред. проф. М. М. Ильковича, GEOTARD-Media, М. 2016, 163–235. [Ilkovich M. M. (Ed), Baranova O. P. Pulmonary sarcoidosis. In: Inter-
2. Головкин А. С., Асадуллина И. А., Кудрявцев И. В. Пуринергическая регуляция основных физиологических и патологических процессов. Медицинская иммунология 2018, 20(4), 463–477. [Golovkin A. S., Asadullina I. A., Kudryavtsev I. V. Purinergic regulation of basic physiological and pathological processes. Medical Immunology (Russia) 2018, 20(4), 463–477].
3. Серебряная Н. Б. Нуклеотиды как регуляторы иммунного ответа. Иммунология 2010, 31(5), 273–280. [Serebrianaia N. B. Nucleotides as regulators of immune response. Immunology 2010, 31(5), 273–280].
4. Головкин А. С., Серебрякова М. К., Жидулева Е. В., Муртазалиева П. М., Титов В. А., Иртюга О. Б., Моисеева О. М., Кробинец И. И., Кудрявцев И. В. Экспрессия рецепторов пуринергического сигналинга на Т-лимфоцитах периферической крови здоровых доноров. Трансляционная медицина 2017, 4(5), 46–60. [Golovkin A. S., Serebryakova M. K., Zhiduleva E. V., Murtazaliev P. M., Titov V. A., Irtyuga O. B., Moiseeva O. M., Krobinec I. I., Kudryavtsev I. V. Purinergic signaling receptors expression on peripheral T-lymphocytes of healthy donors. Translational Medicine 2017, 4(5), 46–60].
5. Кудрявцев И. В., Борисов А. Г., Васильева Е. В., Кробинец И. И., Савченко А. А., Серебрякова М. К., Тотolian Арег А. Фенотипическая характеристика цитотоксических Т-лимфоцитов: регуляторные и эффекторные молекулы. Медицинская иммунология 2018, 20(2), 227–240. [Kudryavtsev I. V., Borisov A. G., Vasilyeva E. V., Krobinec I. I., Savchenko A. A., Serebriakova M. K., Totolian Areg A. Phenotypic characterisation of peripheral blood cytotoxic T lymphocytes: regulatory and effector molecules. Medical Immunology (Russia) 2018, 20(2), 227–240].

CYTOTOXIC T LYMPHOCYTES IN CHRONIC SARCOIDOSIS

© 2018 О. П. Baranova¹, I. V. Kudryavtsev^{1,2*}, N. M. Lazareva^{1,3}, M. K. Serebriakova², T. P. Ses^{1,3}, M. M. Ilkovich¹, Areg A. Totolian^{1,4}

*E-mail: igorek1981@yandex.ru

¹FSBEI of Higher Education “Academician I. P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University” of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, St. Petersburg, Russia;

²FSBSI “Institute of Experimental Medicine”, St. Petersburg, Russia;

³FSUE “State Research Institute of Highly Pure Biopreparations” FMBA of Russia St. Petersburg, Russia;

⁴St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia

The study shows the expression of CD39 and CD73 by cytotoxic T lymphocytes in patients with chronic sarcoidosis (n = 58). The relative amount of CD39⁺ were significantly increased in the “naive” and central memory cells. CD73⁺ cells were significantly decreased in as they matured. The data obtained can help in understanding of the involvement of cytotoxic T lymphocytes in the pathogenesis of sarcoidosis and their role in the functioning of the purinergic regulation system.

Key words: sarcoidosis, cytotoxic T cells, CD39, CD73, flow cytometry

Authors:

Baranova O. P., PhD (Medicine), senior research associate, Scientific Institute of Interstitial and Orphan Diseases, assistant professor, department of Pulmonology, FSBEI of Higher Education "Academician I. P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University" of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, St. Petersburg, Russia;

Kudryavtsev I. V., ✉ PhD (Biology), senior research associate, department of Immunology, Institute of Experimental Medicine; assistant professor, department of Immunology, FSBEI of Higher Education "Academician I. P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University" of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, St. Petersburg, Russia;
197376 St. Petersburg, acad. Pavlova str. 12. Phone: +7 812 234 29 29, E-mail: igorek1981@yandex.ru;

Lazareva N. M., senior laboratory assistant, department of Immunology FSBEI of Higher Education "Academician I. P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University" of the Ministry of Healthcare of Russian Federation; research associate, Federal State Unitary Enterprise "State Research Institute of Highly Pure Biopreparations" FMBA of Russia St. Petersburg, Russia;

Serebriakova M. K., research associate, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia;

Ses' T. P., PhD (Biology), Professor, professor of department of Immunology, FSBEI of Higher Education "Academician I. P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University" of the Ministry of Healthcare of Russian Federation; leading researcher, Federal State Unitary Enterprise "State Research Institute of Highly Pure Biopreparations" FMBA of Russia, St. Petersburg, Russia;

Ilkovich M. M., PhD, MD (Medicine), Professor, Director, Scientific Institute of Interstitial and Orphan Diseases, Head, department of Pulmonology, FSBEI of Higher Education "Academician I. P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University" of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, St. Petersburg, Russia;

Totolian Areg A., Full Member, Russian Academy of Sciences, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Immunology, FSBEI of Higher Education "Academician I. P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University" of the Ministry of Healthcare of Russian Federation; Director, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia.

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ВИЛОЧКОВОЙ ЖЕЛЕЗЫ У НОВОРОЖДЕННЫХ С ЭКСТРЕМАЛЬНО НИЗКОЙ МАССОЙ ТЕЛА

© 2018 г. Л. А. Бахмутова*, М. В. Штепо, И. А. Утешова

*E-mail: labax_agma@mail.ru

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава РФ,
Астрахань, Россия

Пролонгированное действие инфекционного агента у новорожденных с экстремально низкой массой тела сопровождается истощением компенсаторных, резервных возможностей тимуса и нарушениями клеточно-тканевой дифференцировки органа.

Ключевые слова: новорожденные, иммунная система, вилочковая железа, экстремально низкая масса тела

DOI: 10.31857/S102872210002611-7

Авторы:

Бахмутова Л. А., д.м.н., профессор, заведующая кафедрой перинатологии с курсом сестринского дела ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Астрахань, Россия;

Штепо М. В., к.м.н., доцент кафедры перинатологии с курсом сестринского дела ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Астрахань, Россия;

Утешова И. А., аспирант кафедры перинатологии с курсом сестринского дела ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Астрахань, Россия.

Введение. Эффективность выхаживания детей, рожденных раньше срока, зависит от мно-

гих факторов, среди которых важное место занимает состояние иммунной системы. Одной из основных причин высоких показателей перинатальной заболеваемости и смертности детей с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ) являются инфекционные заболевания, развитие и исход которых зависит от морфо-функциональной зрелости органов иммунной системы плода и новорожденного. В связи с высоким уровнем перинатальных потерь вследствие инфекционных осложнений, вопрос об исследовании иммунной системы недоношенных детей с ЭНМТ остается наиболее актуальным. Центральным органом иммуногенеза является