

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ Т-ЛИМФОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ «КЛЕТОЧНОГО СОСЕДСТВА» ПРОЛИФЕРИРУЮЩИХ И АПОПТОТИРУЮЩИХ КЛЕТОК *IN VITRO* У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ И ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

**Абрамова Т.Я., Блинова Е.А., Пашкина Е.А., Гришина Л.В.,
Ильина Н.А., Чумасова О.А., Сизиков А.Э., Козлов В.А.**

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
г. Новосибирск, Россия

Резюме. Ревматоидный артрит (РА) представляет собой хроническое, системное, воспалительное, аутоиммунное заболевание, развитие которого ассоциировано с нарушением механизмов контроля численности клеток, баланса процессов пролиферации и апоптоза. Целью исследования являлся комплексный анализ влияния клеточных и гуморальных факторов «апоптотирующей» культуры Т-лимфоцитов на «пролиферирующую» с учетом данных по параметрам «первичной» и «вторичной» индукции апоптоза, активационных маркеров и маркера пролиферации, содержания живых клеток, роли кортизола, каспазы и цитокинов при культивировании в условиях «клеточного соседства» у здоровых людей и пациентов с РА. Результаты анализа, проведенного с учетом полученных ранее данных, выявили сходные и различающиеся функции созданных в условиях «клеточного соседства» Т-клеточных систем здоровых людей и пациентов с РА. Для обеих исследуемых групп была характерна вторичная индукция апоптоза, относящаяся к неавтономным эффектам, появление значимого количества активированных Т-лимфоцитов, повышение уровней IL-6 и IL-4, низкий уровень IFN γ и каспазы-8, снижение потенциала рецепторного и митохондриального апоптоза, а также отсутствие различий по уровню апоптоза между группами доноров и пациентов. В то же время у здоровых людей в процессе индукции апоптоза снижался высокий изначально уровень TNF α , а повышение IL-6 было умеренным. Не изменялись уровни внутриклеточных молекул p53 и Bcl-2, сохранялось большое количество положительных корреляционных зависимостей между исследуемыми факторами во всех

Адрес для переписки:

Абрамова Татьяна Яковлевна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии»
630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.
Тел.: 8 (383) 227-01-35.
Факс: 8 (383) 222-70-28.
E-mail: tatjana-abramova@mail.ru

Address for correspondence:

Tatiana Ya. Abramova
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
14 Yadrintsevskaya St
Novosibirsk
630099 Russian Federation
Phone: +7 (383) 227-01-35.
Fax: +7 (383) 222-70-28.
E-mail: tatjana-abramova@mail.ru

Образец цитирования:

Т.Я. Абрамова, Е.А. Блинова, Е.А. Пашкина,
Л.В. Гришина, Н.А. Ильина, О.А. Чумасова,
А.Э. Сизиков, В.А. Козлов «Функциональная
активность Т-лимфоцитов в условиях «клеточного
соседства» пролиферирующих и апоптотирующих
клеток *in vitro* у здоровых людей и пациентов
с ревматоидным артритом» // Медицинская
иммунология, 2024. Т. 26, № 6. С. 1279-1290.
doi: 10.15789/1563-0625-IVF-2876

© Абрамова Т.Я. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

T. Ya. Abramova, E. A. Blinova, E. A. Pashkina, L. V. Grishina,
N. A. Ilina, O. A. Chumasova, A. E. Sizikov, V. A. Kozlov
“In vitro functional activity of T lymphocytes under
the conditions of ‘cell neighborhood’ of proliferating and
apoptotic cells in healthy people and patients with rheumatoid
arthritis”, Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya, 2024, Vol. 26, no. 6, pp. 1279-1290.
doi: 10.15789/1563-0625-IVF-2876

© Abramova T. Ya. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-IVF-2876

вариантах смешанных и «апоптотических» культур, что свидетельствовало о сохранении функционального баланса Т-клеток в неблагоприятных условиях у доноров. Пациентов с РА характеризовало повышение числа живых клеток в «апоптотических» культурах, значимый рост количества Ki-67⁺ Т-лимфоцитов, свидетельствующее о пролиферативных процессах в условиях апоптоза, отсутствие ответа TNF α на индукцию апоптоза, отсутствие связей между исследуемыми молекулами в «апоптотических» культурах и синтез кортизола в них, а также наличие связей кортизола с исследуемыми молекулами в апоптотических культурах, что свидетельствовало об изменении межклеточных взаимодействий и нарушении гомеостаза Т-лимфоцитов в условиях «клеточного соседства» у пациентов с РА.

Ключевые слова: Т-лимфоциты, «пролиферирующие» клетки, «апоптотирующие» клетки, автономные эффекты апоптоза, не автономные эффекты апоптоза, «клеточное соседство», локальная продукция кортизола, ревматоидный артрит

IN VITRO FUNCTIONAL ACTIVITY OF T LYMPHOCYTES UNDER THE CONDITIONS OF “CELL NEIGHBORHOOD” OF PROLIFERATING AND APOPTOTIC CELLS IN HEALTHY PEOPLE AND PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

Abramova T.Ya., Blinova E.A., Pashkina E.A., Grishina L.V., Ilina N.A., Chumasova O.A., Sizikov A.E., Kozlov V.A.

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic, systemic, inflammatory, autoimmune disease, the development of which is associated with impaired mechanisms of cell number control, proliferation balance, and apoptosis. The aim of our study was to perform a comprehensive analysis of cellular and humoral effects exerted by “apoptotic” T lymphocyte culture upon “proliferating” cells, taking into account the parameters of “primary” and “secondary” apoptosis induction, activation and proliferation markers, viable cell contents, role of cortisol, caspase and cytokines during cultivation under the “cell neighborhood” conditions in healthy subjects and patients with RA. The results of the analysis, with respect to previous data, revealed both similar and different functions of the T cell systems generated under “cell-neighborhood” conditions in healthy individuals and RA patients. Both groups under study were characterized by secondary induction of apoptosis, which refers to non-autonomous effects, along with appearance of activated T lymphocytes at significant amounts, increase of IL-6 and IL-4 levels, as well as low levels of IFN γ and caspase 8, decrease potential of receptor and mitochondrial apoptosis. No differences in apoptosis level were found between donor and patient groups. At the same time, the initially high level of TNF α in healthy subjects decreased during the induction of apoptosis, along with moderate increase of IL-6. The levels of intracellular p53 and Bcl-2 molecules did not change, and many positive correlations remained between the studied factors in all variants of mixed and “apoptotic” cultures, thus suggesting maintenance of functional T cell balance under the unfavorable conditions in donors. The RA patients were characterized by increased number of live cells in “apoptotic” cultures, a significant increase in the number of Ki-67⁺ T lymphocytes, being indicative for proliferative processes under conditions of apoptosis, like as absence of TNF α response to apoptosis induction. Lack of relations between the studied molecules in “apoptotic” cultures and local cortisol synthesis, as well as presence of correlations between cortisol and the studied molecules in apoptotic cultures, presumed some changes of intercellular interactions and disturbance of homeostasis among T lymphocytes under the conditions of “cellular neighborhood” were also observed in RA patients.

Keywords: T cells, apoptosis, autonomous effects, non-autonomous effects, cell neighborhood, cortisol, local production, rheumatoid arthritis

Введение

Ревматоидный артрит (РА) — хроническое системное воспалительное, аутоиммунное заболевание, вызывающее прогрессирующее поражение суставов, которое может привести к пожизненной инвалидности, а также к вторичному амилоидозу, несущему риск недостаточности органов и смерти [9].

Развитие ревматоидного артрита (РА) ассоциировано с нарушением механизмов контроля численности клеток, баланса процессов пролиферации и апоптоза как наиболее частого и физиологического варианта гибели клеток. Традиционно апоптоз рассматривался как клеточно-автономное явление. Однако генетические исследования *in vivo* показали, что активное взаимодействие между апоптотическими и живыми клетками способствует процессам ремоделирования, регенерации и морфогенеза тканей, а также, влияет на поглощение, миграцию, гибель и пролиферацию клеток, входящих в микроокружение [8]. Такие взаимодействия могут быть двунаправленными, и таким образом апоптоз проявляет неавтономные свойства в клеточном сообществе. Установлена роль внутриклеточных деградационных каспаз в дифференцировке, подвижности, слиянии клеток и запуске пролиферации. Такая пролиферация называется индуцированной апоптозом и является ценным механизмом компенсации потери клеток [12]. Тем не менее механизмы и молекулы, оказывающие неавтономные эффекты апоптоза в условиях межклеточного взаимодействия, еще не достаточно расшифрованы.

Существует классическое понимание роли Т- и В-клеток и их реципрокных взаимодействий с провоспалительными цитокинами в патогенезе РА. Th1 индуцируют IFN γ , TNF α и IL-2, которые являются провоспалительными цитокинами, приводящими к разрушению хряща и эрозии костей. Клетки Th2 секретируют IL-4, IL-5 и IL-13, оказывающих противовоспалительное и антиостеокластогенное действие [10]. В патогенезе РА ревматоидный фактор (RF) и антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (ACPA), образуя иммунные комплексы с цитруллинированными белками, запускают высвобождение воспалительных цитокинов, таких как TNF α и IL-6 [9]. Недавние исследования показали, что другие цитокины, такие как IL-7, IL-17, IL-21, IL-23, GM-CSF, IL-1 β , IL-18, IL-33 и IL-2 играют роль в данном заболевании, но участие TNF α и IL-6 занимает центральное место в патогенезе РА [9]. Помимо моноцитарных макрофа-

гов, исследования транскриптомики отдельных клеток и масс-цитометрии показали, что В- и Т-лимфоциты также являются одними из основных источников TNF α [6]. Передача сигналов TNF разнонаправленно участвует в патогенезе РА — сигнал через TNFR1 способствует патогенезу артрита, передача сигналов через TNFR2 выполняет защитные функции, в частности, TNF α влияет на дифференцировку Treg-клеток, которые необходимы для поддержания иммунного гомеостаза и предотвращения аутоиммунитета [9]. IL-6 участвует в широком спектре физиологических и патологических процессов, зависящих от одного из трех вариантов взаимодействия рецептор — лиганд, характерных для активации сигнального каскада этим цитокином. Хотя существует общий консенсус в отношении воспалительной роли IL-6 в патогенезе РА, есть исследования, указывающие на то, что его роль неясна: выяснилось, что передача сигналов IL-1 снижает передачу сигналов IL-6 при РА, вызывая общее ухудшение состояния больных. [11]. Известна роль IFN γ в патогенезе РА, включая синовиальное воспаление, аутоиммунитет против цитруллинированных белков, а также периартикулярную и системную потерю костной массы. Кроме того, IFN γ стимулирует экспрессию МНС класса II на не иммунных клетках, усиливая взаимодействие с цитруллинированным виментином при индукции аутофагии [9]. Секвенирование гена AIRE в синовиальных фибробластах свидетельствовало о том, что 96% генов, регулируемых AIRE, IFN-чувствительны [7]. Известно, что IL-4 и IL-13 могут благотворно влиять на течение заболевания, подавляя воспалительные процессы, лежащие в основе РА. Они динамически искажают иммунный ответ в отношении заболеваний, связанных с цитокиновым путем IL-23/IL-17. Ось IL-4/IL-13 также играет роль в гомеостатическом восстановлении тканей [5]. Глюкокортикоиды (ГКС) играют критическую роль в регуляции иммунной системы, проявляя свое действие через глюкокортикоидный рецептор (GR). Одной из основных функций ГКС является предотвращение летального исхода в результате чрезмерного воспаления. Помимо продукции надпочечниками, ГКС также могут вырабатываться в ряде вне надпочечниковых тканей, включая иммунную систему, кожу, мозг и кишечник. Локальный синтез глюкокортикоидов происходит в митохондриях из холестерина с участием митохондриальных ферментов [14]. Кроме иммуноингибирующих эффектов на продукцию IFN γ , подавления Th1 Т-клеток, CD8⁺ лимфоцитов и NK-клеток, ГКС способны модифицировать воспалитель-

ный тип иммунного ответа, обусловленный Th1 на гуморальный Th2-ответ. Многие противовоспалительные действия ГКС происходят через негеномные механизмы. В частности, в партикулярной зоне лигандсвязанный GR может препятствовать как AP-1, так и NF-κB провоспалительной сигнализации. Комбинация продукции надпочечниками и лимфоидного ГКС направлена на адаптивную регуляцию развития и отбор лимфоцитов, оптимизацию выживаемости в различных условиях окружающей среды [13, 14]. Про- и противовоспалительные цитокины, ГКС и другие активные участники патогенеза РА могут являться факторами не автономного влияния апоптоза. Целью данной работы являлся комплексный анализ вклада исследуемых молекул в автономные и не автономные эффекты апоптоза.

Материалы и методы

Объектом исследования являлась периферическая кровь 11 условно здоровых женщин, не имеющих аутоиммунных, острых и обострения хронических заболеваний, средний возраст группы составил $47,5 \pm 3,4$ года, а также периферическая кровь 17 женщин больных РА (средний возраст $50,4 \pm 2,8$ года), находившихся на лечении в клинике ФГБНУ НИИФКИ, г. Новосибирска (табл. 1). У всех пациентов было получено добровольное информированное согласие на проведение необходимых манипуляций.

Выделенная на градиенте плотности (фиколл-верографин, 1,078) (BioClot GmbH, Германия) лимфоцитарная фракция клеток была распределена на 2 варианта культуры (приложение 1). Первый вариант («нормально пролиферирующая CFSE⁺ культура» (НП)) — 7 лунок по $5,0 \times 10^5$ кл/0,5 мл полной культуральной среды (ПКС), окрашенных флуоресцентным красителем CFSE (Molecular probes, США), (CFSE⁺). В составе ПКС — среда RPMI-1640 (ООО «БиолоТ», Санкт-Петербург, Россия), тиенам, (ЗАО «ОРТАТ», Россия), L-глутамин (Gerbu, Biotechnik, GmbH, Германия), буферный раствор Hepes (GERBU, Biotechnik, GmbH), фетальная телячья сыворотка (FCS), (Hy Clone, США). Вторым вариантом — «апоптотическая культура» (АК) — 3 лунки (не стимулированные клетки, aCD3 (1 мкг/мл, ООО МНЦ «МедБиоСпектр», Москва, Россия), и дексаметазон-стимулированные (1×10^{-4} М) клетки по $2,0 \times 10^6$ кл/150,0 мкл обедненной среды (ОКС) — 1% FCS, (CFSE⁻). На 4-е сутки инкубации (96 ч) в термостате (37 °C, 5% CO₂) апоптотическая культура (клетки и супернатант отдельно) была перенесена к лимфоцитам, пролиферирующим в условиях ПКС.

Далее проводилось сокультивирование проб, получивших условные названия (приложение 2): 1. “К” — контрольное культивирование лимфоцитов в ПКС; 2. “КА” — к НП-лимфоцитам была добавлена клеточная часть не стимулированных клеток АК; 3. “KAsup” — сокультивирование НП в ПКС и перенесенного к ней супернатанта от не стимулированной АК; 4. “CD3” — НП культура и клетки АК, стимулированные aCD3; 5. “CD3sup” — НП-лимфоциты и супернатант от АК, стимулированной aCD3; 6. “D” — сокультивирование НП-лимфоцитов в ПКС и АК, обработанных дексаметазоном (1×10^{-4} М); 7. “Dsup” — НП-лимфоциты и супернатант от АК, обработанных дексаметазоном. Контроль апоптотических проб в динамике инкубирования проводился на 3-4-и сутки (72-96 ч) и 7-е сутки (168 ч) в пробах “КА”, “CD3” и “D”. На 7-е сутки каждая проба — супернатант и клетки отдельно, замораживалась, и хранились в холодильнике до использования при t° -80 °C. Определение содержания кортизола (нмоль/л) в супернатантах клеток проводилось с помощью набора для твердофазного ИФА АО «Вектор-Бест» (ИФА-БЕСТ, Россия), номер серии 152, паспорт № 4208-22 согласно инструкции по применению.

Статистическая обработка данных проводилась с применением методов непараметрической статистики (Statistica 6.0). В анализе был использован ранговый анализ вариаций по Краскелу—Уоллису, U-критерий Манна—Уитни и ранговая корреляция по Спирмену. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного размаха, возраст представлен в виде $M \pm m$. Различия между группами считались статистически значимыми при достигнутом уровне $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Настоящее исследование является очередным этапом нашей работы, направленной на изучение автономных и не автономных эффектов апоптоза Т-лимфоцитов в условиях «клеточного соседства» *in vitro* у пациентов с РА и здоровых людей. Основной задачей данного этапа являлся комплексный анализ влияния клеточных и гуморальных факторов «апоптотизирующей» культуры Т-лимфоцитов на «пролиферирующую» культуру с учетом данных по параметрам «первичной» и «вторичной» индукции апоптоза, активационных маркеров и маркера пролиферации, динамике содержания живых клеток, роли кортизола, каспазы и цитокинов в процессе совместного культивирования в условиях «клеточного соседства» у здоровых людей и пациентов с РА.

ТАБЛИЦА 1. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ* С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ (РА)
TABLE 1. CLINICAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS* WITH RHEUMATOID ARTHRITIS (RA)

№ No.	Возраст Age	Диагноз Diagnosis	Длительность Duration of the disease	Лечение Treatment
1	64	РА, серонегативный, ранняя стадия, неэрозивный, Rg I ст., активность высокая (DAS 28 6.44), с системными проявлениями (потеря массы тела), АЦЦП (-), аМСУ (-), ФК II RA, seronegative, early stage, not erosive, Rg I stage, high activity, DAS28 6.44, with systemic manifestations (body weight loss), aCCP (-), aMCV (-), functional class (FC) II	> 1 года > 1 year	Лефлуноמיד 20 мг в сутки Преднизолон 5 мг 4 таб. в сутки Leflunomide 20 mg per day Prednisolone 5 mg 4 tab. per day
2	50	РА, серопозитивный, поздняя стадия, эрозивный Rg III активность средняя (DAS28 4.38), с системными проявлениями (полинейропатия). АЦЦП (+), ФК2 RA, seropositive, late stage, erosive, Rg III stage, moderate activity, DAS28 4.38, with systemic manifestations (polyneuropathy). aCCP (+). FC II	> 16 лет > 16 years	Азатиоприн 50 мг 2 р/д Ритуксимаб 500 мг Azathioprin 50 mg per day Rituximab 500 mg
3	47	РА, серопозитивный, развернутая стадия, рентгенологическая стадия II, неэрозивный, ремиссия (DAS28 СОЭ 1.05), АЦЦП (+), ФК II RA, seropositive, extended stage, not erosive, Rg II stage, remission, DAS28 1.05). aCCP (+). FC II	> 6 лет > 6 years	Лефлуноמיד 20 мг в сутки Цертолизумаба пэгол 400 мг 1 раз в месяц Leflunomide 20 mg per day Certolizumab pegol 400 mg per month
4	43	РА, серопозитивный, развернутая стадия, неэрозивный, Rg II ст., ремиссия (DAS28 2.5). АЦЦП (+). ФК II RA, seropositive, extended stage, not erosive, Rg II stage, remission, DAS28 2.5. aCCP (+). FC II	> 11 лет > 11 years	Гидроксихлорохин 200 мг 1 р/д Метотрексат 10 мг/нед Олокизумаб 64 мг 1 раз в 4 недели Hydroxychloroquine 200 mg per day Methotrexate 10 mg/week Olokizumab 64 mg per month
5	58	РА, серопозитивный, поздняя стадия, эрозивный, Rg IV ст., активность средняя (DAS28 = 3.3). АЦЦП (+). ФК 2 RA, seropositive, late stage, erosive, Rg IV stage, moderate activity, DAS28 3.3. aCCP (+). FC II	> 24 лет > 24 years	Метотрексат 10 мг/нед Олокизумаб 64 мг 1 раз в 4 недели Methotrexate 10 mg/week Olokizumab 64 mg per month
6	57	РА, серопозитивный, поздняя стадия, активность высокая (DAS28 = 5.59), с системными проявлениями (полинейропатия), эрозивный Rg III-IV ст., АЦЦП (-), ФК2 RA, seropositive, late stage, erosive, Rg III stage, high activity DAS28 5.59, with systemic manifestations (polyneuropathy). aCCP (-). FC II	> 8 лет > 8 years	Лефлуноמיד 20 мг в сутки Преднизолон 5 мг 3 таб. в сутки Leflunomide 20 mg per day Prednisolone 5 mg 3 tab. per day
7	42	РА, серопозитивный, развернутая стадия, неэрозивный, Rg II ст., активность высокая, DAS28 5.2. АЦЦП (+). ФК II RA, seropositive, extended stage, not erosive, Rg II stage, high activity, DAS28 5.2. aCCP (+). FC II	> 9 лет > 9 years	Лефлуноמיד 20 мг в сутки Преднизолон 5 мг 2 таб. в сутки Leflunomide 20 mg per day Prednisolone 5 mg 2 tab. per day
8	56	РА, серопозитивный, поздняя стадия, эрозивный, Rg IV ст., активность высокая, DAS28 5.4. АЦЦП (+). ФК II RA, seropositive, late stage, erosive, Rg IV stage, high activity, DAS28 5.4. aCCP (+). FC II	> 22 лет > 22 years	Метотрексат 15 мг/нед. Methotrexate 15 mg/week

Примечание. * – пациенты, обследованные на уровень кортизола.
Note. *, patients tested for cortisol levels.

Поставленная аналитическая задача обосновывала необходимость краткого представления результатов работы, проведенной и опубликованной ранее. На начальном этапе изучались особенности апоптоза Т-лимфоцитов *in vitro* в условиях «клеточного соседства» у здоровых людей и пациентов с РА. Нами был разработан протокол раздельной инкубации Т-лимфоцитов в полной культуральной среде (ПКС) CFSE⁺ «пролиферирующая» и аутологичных клеток (CFSE⁻) «апоптотирующая» культуры, находящихся в условиях скученности и обеднения культуральной среды (ОКС), что являлось, по нашему мнению, наиболее физиологичным вариантом индукции апоптоза, приближенным к условиям, происходящим в организме. На 4-е сутки инкубации клетки и кондиционная среда «апоптотирующей» культуры раздельно переносились к клеткам, пролиферирующим в благоприятных условиях ПКС для создания условий «клеточного соседства», и инкубация продолжалась до 168 часов. Применение данного подхода выявило повышение уровня апоптоза в обеих группах. Позволило дифференцированно, в условиях «клеточного соседства», оценить в «первично» (CFSE⁻) и «вторично» (CFSE⁺) индуцированных в апоптоз культурах Т-лимфоцитов параметры раннего, позднего апоптоза и некроза не стимулированных, а также CD3 и дексаметазон (1×10^{-4} М) стимулированных лимфоцитов у здоровых людей и пациентов с РА.

При анализе полученных результатов не было установлено различий между здоровыми людьми и пациентами с РА по исследуемым параметрам, как в «первично» индуцированной в апоптоз культуре, так и во «вторично» индуцированной, ни исходно, ни в динамике культивирования.

Ранее в литературе [8, 9] были опубликованы данные о неавтономных эффектах апоптоза в процессе взаимодействия между апоптотическими и живыми клетками. В наших экспериментах, помимо «вторичной» индукции апоптоза в CFSE⁺ культуре, было определено значимое повышение содержания живых (Ann⁺/7AAD⁻) Т-лимфоцитов в (CFSE⁻) «первично» индуцированных, нестимулированных (КА) и стимулированных дексаметазоном ($D1 \times 10^{-4}$ М) пробах больных РА относительно аналогичных культур здоровых доноров [3].

С целью уточнения роли пролиферации в увеличении числа клеток в процессе инкубации CFSE⁻ и CFSE⁺ культур в условиях «клеточного соседства», были проведены эксперименты, направленные на выявление уровня экспрессии ранних и поздних маркеров активации, а также маркера пролиферации (Ki-67⁺) у больных РА и здоровых людей. В результате были определены

закономерные изменения экспрессии ранних и поздних маркеров активации в обеих наблюдаемых группах, свидетельствующие об активации лимфоцитов. Выявлены более высокие параметры активации CD69⁺ и CD25⁺ лимфоцитов, но сниженные параметры экспрессии маркера пролиферации Ki-67⁺ в группе доноров, при этом у пациентов с РА было установлено умеренное повышение экспрессии активационных маркеров, но значимое увеличение числа клеток, экспрессирующих Ki-67. Повышение числа экспрессирующих Ki-67 лимфоцитов было характерно как для CD4⁺, так и для CD8⁺Т-лимфоцитов пробы “Dsup”. Таким образом, активация Т-лимфоцитов у пациентов с РА пролонгировала пролиферативные процессы, поскольку молекула Ki-67 является универсальным маркером пролиферации, присутствуя в клетке только во время деления и разрушаясь в течение 1,5-2 часов после окончания митоза [1].

Различный исход индукции апоптоза в культурах, находящихся в равных условиях «клеточного соседства» у здоровых людей и пациентов с РА выявил необходимость изучения основных эффекторных молекул апоптоза, их участия в автономных и не автономных эффектах. В результате проведенных исследований, был установлен низкий потенциал рецепторного пути активации апоптоза за счет подавления продукции TNF α в культурах здоровых людей. При этом уровень TNF α в супернатантах пациентов с РА был относительно низок изначально и значимо не менялся в динамике наблюдения и при различных вариантах инкубации. Обе исследуемые группы характеризовались низким уровнем инициирующей каспазы-8. Было также установлено значимое подавление эффекторных молекул митохондриального пути активации апоптоза — антиапоптотического фактора Bcl-2 и транскрипционного фактора p53 в культурах апоптотических клеток, а также смешанных в условиях «клеточного соседства» «пролиферирующих» и «апоптотических» клеток у пациентов с РА и отсутствие динамики по содержанию указанных белков у доноров. [2].

Тот факт, что не только перенос апоптотирующих клеток, но и кондиционных сред данных клеток сопровождался повышением экспрессии маркеров активации, как у пациентов с РА, так и у здоровых людей, свидетельствовал о том, что эффекторные молекулы, провоцирующие эти процессы, могут быть растворимыми. В связи с этим исследовались возможные зависимости в продукции провоспалительных цитокинов TNF α (пг/мл) и IL-6 (пг/мл) в супернатантах

исследуемых проб, а также цитокинов, продуцируемых активированными Т-лимфоцитами — $IFN\gamma$ (пг/мл) и $IL-4$ (пг/мл). В системе анализа ANOVA Краскела—Уоллиса были установлены значимые различия в ранговых вариациях $TNF\alpha$ между пробами “К”, $p = 0,017$ и “КА”, $p = 0,011$ и пробами “КА72-96h”, “КА168h”, а также между пробами “D”, и “D72-96h”, “D168h”, $p = 0,006$ у доноров. При уточнении межгрупповых различий в анализе по М-В доноры изначально имели более высокий уровень цитокина в пробах “К”, “КА” и “D” относительно соответствующих проб больных, но в процессе инкубации у здоровых людей было выявлено значимое снижение содержания $TNF\alpha$ в пробах “КА72-96h”, “КА168h”, “D72-96h”, “D72-96h”, «апоптотических» клеток, относительно контрольных проб. Динамики содержания $TNF\alpha$ в кондиционных средах больных РА в процессе инкубации установлено не было [2]. Группы доноров и пациентов значимо не различались по уровню другого провоспалительного цитокина — $IL-6$. Внутри обеих групп повышался уровень указанного цитокина в апоптотических пробах относительно контрольных проб “К”, “КА” и смешанных проб “КАsup”, “Dsup”, “CD3sup”, содержащих супернатанты от апоптотирующих культур. Различия между исследуемыми группами заключались в следующем — если у доноров они были определены только между пробами “К”, $p = 0,0015$ и “КА”, $p = 0,0015$ относительно проб “КА72-96h” и “КА168h”, а также “CD3sup” относительно “CD372-96h”, “CD3168h”, $p = 0,009$, то в группе пациентов с РА повышение $IL-6$ было ассоциировано со всеми пробами, кроме смешанной пробы “CD3”, содержащей пролиферирующие и апоптотические клетки. Проведение корреляционного анализа выявило наличие достоверных связей между содержанием $TNF\alpha$ и $IL-6$ в одной пробе. Так, у доноров были установлены прямые зависимости между уровнями $TNF\alpha$ и $IL-6$ в пробах “К”, $r = 0,79$, $p = 0,036$, “D”, $r = 0,86$, $p = 0,014$, а также в пробах “КА72-96h”, $r = 0,82$, $p = 0,023$ и “CD372-96h”, $r = 0,85$, $p = 0,016$, в то время как у больных РА наличие прямых связей было определено только в пробах, содержащих либо «пролиферирующие», либо «пролиферирующие» наряду с «апоптотическими» клетками, в пробах “К”, $r = 0,89$, $p = 0,006$, “D”, $r = 0,86$, $p = 0,014$ и “Dsup”, $r = 0,94$, $p = 0,005$, а в «апоптотической» культуре была выявлена обратная зависимость между содержанием цитокинов в пробах “К” и “КА72-96h”, $r = -0,9$, $p = 0,037$, что свидетельствовало об инверсии связи между цитокинами, проду-

цируемыми клетками, находящимися в стрессовых условиях у пациентов с РА. Таким образом, доноров характеризовало снижение уровня $TNF\alpha$, умеренное повышение $IL-6$ и сохранение прямых корреляционных связей между содержанием цитокинов в «апоптотических» клетках. Для пациентов с РА было характерно отсутствие ответа $TNF\alpha$ на активацию апоптоза, активная продукция $IL-6$ и нарушение прямых зависимостей между провоспалительными цитокинами в «апоптотирующих» клетках.

В супернатантах исследуемых проб обеих групп значимо повысилось содержание $IL-4$ (пг/мл). Сравнительный анализ трех независимых групп показал наличие достоверных изменений во всех анализируемых вариантах, кроме сравнения с “КАsup” у здоровых людей, в то время как у пациентов с РА достоверные различия были установлены только в стимулированных пробах: “CD3”, $p = 0,029$, и “CD3sup”, $p = 0,03$ относительно проб “CD372-96h” “CD3168h”; “D”, $p = 0,021$, и “Dsup”, $p = 0,020$, относительно “D72-96h” “D168h”. В последние годы происходит пересмотр классической роли провоспалительных цитокинов. В частности, возможным стимулом к активации Th2, являющихся продуцентами $IL-4$, могло послужить повышение продукции $IL-6$, который обладает способностью оказывать противовоспалительный эффект, так, при раннем РА приоритет в передаче сигналов $IL-6$ сопровождался подавлением Th1- и Th17-хелперных клеток и расширением влияния Т-хелперов 2-го типа [5]. Данная возможность могла быть обусловлена низкими параметрами $IFN\gamma$ (пг/мл) в обеих группах, являющегося продуктом активности Th1. Повышение уровня $IFN\gamma$ проявилось в обеих группах только в ответ на стимуляцию CD3 антителами. Не было определено корреляционных зависимостей между продукцией $IL-4$, $IFN\gamma$ и другими исследуемыми цитокинами.

Из всех возможных функциональных связей, касающихся внутриклеточных молекул, обеспечивающих апоптоз — p53 (ед/мл), Bcl-2 (нг/мл) и каспазой 8 (нг/мл), на фоне снижения уровней p53 и Bcl-2, у пациентов с РА была установлена прямая корреляционная связь между содержанием p53 и Bcl-2 в двух смешанных пробах “КАsup”, $r = 0,9$, $p = 0,037$ и “CD3sup”, $r = 0,97$, $p = 0,005$. Известно, что на фоне усиления продукции $IL-6$, инактивация p53 в Т-клетках может способствовать дифференцировке их в Th17, кроме того, инактивация p53 ставит под угрозу дифференцировку Treg, что смещает баланс между толерантностью и воспалением в

сторону воспаления [4]. В отличие от больных РА, в группе доноров не было установлено динамики содержания p53 и Bcl-2 в процессе инкубации, при этом группа характеризовалась большим количеством прямых корреляционных связей между p53 и Bcl-2, каспазой-8 и p53, каспазой-8 и Bcl-2. При анализе связи между p53 и Bcl-2 обращало на себя внимание преимущественная зависимость между контролями, содержащими p53 и стимулированными CD3 и дексаметазоном пробами, содержащими Bcl-2. При этом связь между p53 и Bcl-2 в пробе “CD3168h”, $r = 0,89$, $p = 0,040$, свидетельствовала о сохранении данной зависимости в стимулированных апоптотических клетках. Полученные результаты, свидетельствующие о сохранении зависимости между активностью апоптотических и антиапоптотических молекул в условиях активации Т-лимфоцитов и индукции апоптоза, подтвердили наше предположение о сохранении баланса процессов пролиферации и апоптоза в культурах Т-клеток здоровых людей.

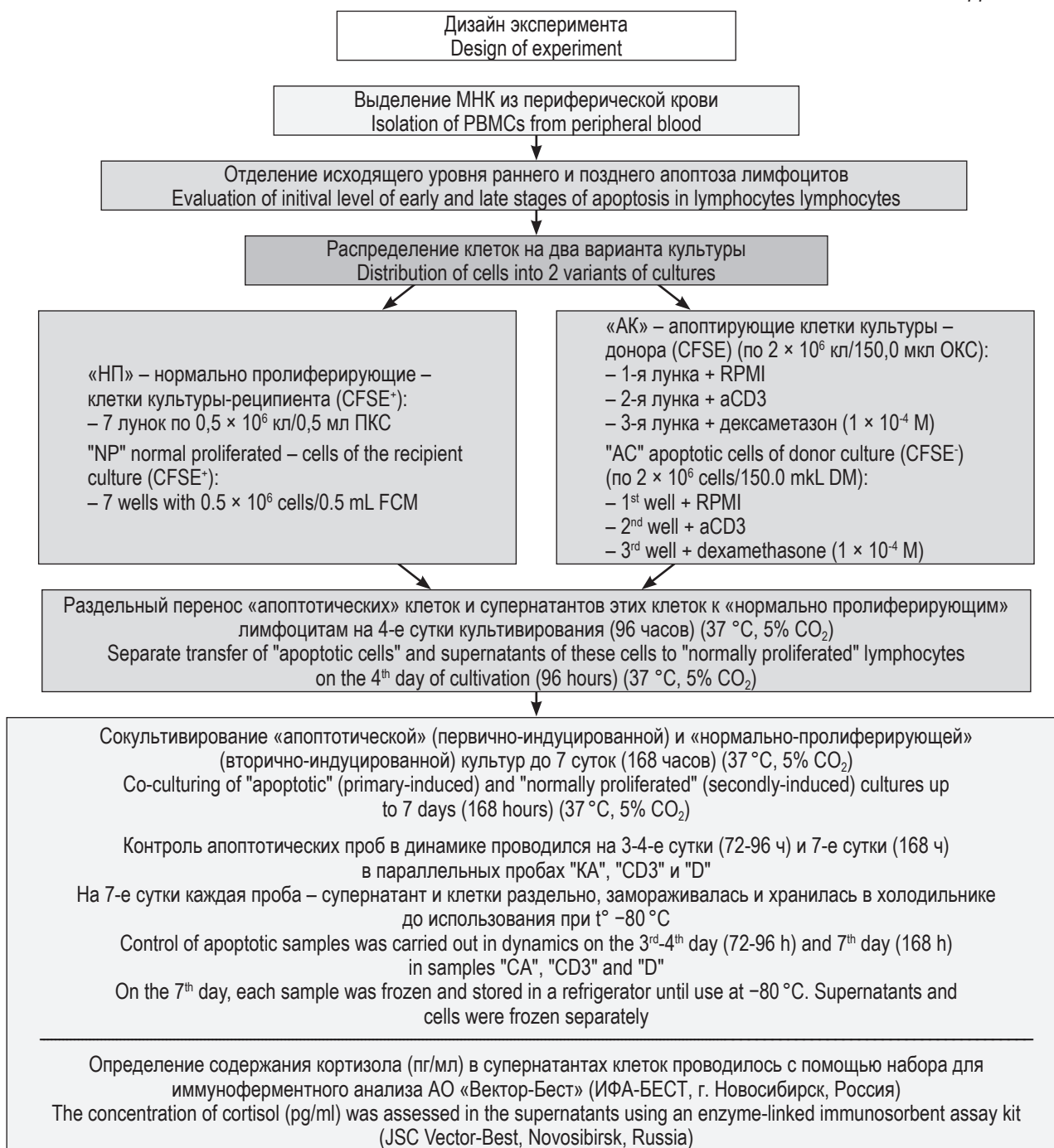
Известно, что метаболизм дексаметазона (D), синтетического аналога кортизола, отличается от метаболизма кортизола, в частности фермент 11 β -HSD2 не только инактивирует эндогенные ГКС, но и изменяет направление действия D в пользу активации продукции стероидов [13, 14]. Известно, что эндогенные ГКС как стимулируют, так и подавляют Т-клеточный иммунитет, в частности повышают активность Th2 и подавляют ответы Th1 [15]. Учитывая установленную ранее повышенную чувствительность к глюкокортикоидам у пациентов с РА, мы определяли содержание кортизола (нмоль/мл) в кондиционных средах исследуемых проб пациентов с РА и здоровых людей. Было выявлено значимое повышение уровня кортизола в пробах апоптотирующих клеток “D72-96h” и “D168h” относительно смешанной пробы “Dsup” 0,00 (0,00 $\div$ 97,74) у пациентов с РА: D (72-96 ч), 935,02 (497,06 $\div$ 1410,75), $p = 0,0019$; и D (168 ч), 1067,27 (358,74 $\div$ 2187,15), $p = 0,028$. В большинстве проб здоровых людей кортизол не был обнаружен, только в апоптотических пробах – D (72-96 ч) и D (169 ч) имелись единичные положительные результаты, которые не привели к достоверным различиям, ни внутри группы, ни в сравнении с группой пациентов, а также к значимым корреляционным связям исследуемых молекул с кортизолом. В то же время у пациентов с РА были определены связи, имеющие функциональное значение. В частности, положительная зависимость между уровнем кортизола в пробе D (72-96 ч) и содержанием IL-6 и пробе “CD3168h”, $r = 0,94$, $p = 0,0048$, а также отрицательная за-

висимость между уровнем кортизола и TNF α , $r = -0,9$, $p = 0,037$, в пробе “D168h”. Кроме того, уровень кортизола в пробе D (72-96 ч) имел прямые связи с параметрами p53 в пробах “KAsup” $r = 0,9$, $p = 0,037$ и “CD3sup” $r = 0,9$, $p = 0,04$, и также в пробе “CD3sup” прямую связь с Bcl-2, $r = 0,97$, $p = 0,0048$. Учитывая высокие уровни продуцируемого кортизола и наличие корреляционных связей с патогенетически значимыми молекулами, можно предположить, что локально продуцируемый кортизол у пациентов с РА выполняет модулирующую роль в поддержании баланса пролиферации и апоптоза Т-лимфоцитов при длительном культивировании в условиях скученности и обеднения среды.

Заключение

Таким образом, тесное взаимодействие между «апоптотирующими» и «пролиферирующими» Т-лимфоцитами при инкубации в условиях «клеточного соседства» позволило определить сходные и различающиеся функции созданных клеточных систем у здоровых людей и пациентов с РА. Для обеих исследуемых групп была характерна вторичная индукция апоптоза, относящаяся к его неавтономным эффектам, появление значимого количества активированных Т-лимфоцитов, повышение уровней IL-6 и IL-4, низкий уровень IFN γ и снижение потенциала рецепторного и митохондриального апоптоза, а также отсутствие различий по уровню апоптоза между группами.

В то же время у здоровых людей снижался высокий изначально уровень TNF α , а IL-6 повышался умеренно, не изменялись уровни p53 и Bcl-2, и сохранялось большое количество положительных корреляционных зависимостей между исследуемыми факторами во всех вариантах смешанных и «апоптотических» культур, что свидетельствовало о сохранении функционального баланса клеток в неблагоприятных условиях у доноров. Пациентов с РА характеризовало повышение числа живых клеток в «апоптотических» культурах, уровня Ki-67⁺Т-лимфоцитов, свидетельствующее о пролиферативных процессах в условиях апоптоза, отсутствие ответа TNF α на индукцию апоптоза, отсутствие связей между исследуемыми молекулами в «апоптотических» культурах и синтез кортизола в них, а также наличие функциональных связей кортизола с исследуемыми молекулами в апоптотических культурах, что свидетельствовало об изменении межклеточных взаимодействий и нарушении гомеостаза Т-лимфоцитов в условиях «клеточного соседства» у пациентов с РА.



Примечание. НП – нормально пролиферирующая культура клеток (CFSE⁺); АК – апоптотическая культура клеток (CFSE⁻); ПКС – полная культуральная среда; ОКС – обедненная культуральная среда; (CFSE⁻) – клетки культуры-донора; (CFSE⁺) – клетки культуры-реципиента; КА – контроль инкубации в условиях «клеточного соседства» пролиферирующих и апоптотических клеток; CD3 – инкубация в условиях «клеточного соседства» пролиферирующих и стимулированных aCD3 апоптотических клеток; D – инкубация в условиях «клеточного соседства» пролиферирующих и стимулированных дексаметазоном (1 × 10⁻⁴ M) апоптотических клеток.

Note. NP, normally proliferated cell culture (CFSE⁺); AC, apoptotic cell culture (CFSE⁻); FCM, full culture medium; DM, depleted culture medium; (CFSE⁻), cells of the donor-culture; (CFSE⁺), cells of the recipient-culture; CA, control of incubation in the conditions of "cellular neighborhood" of proliferating and apoptotic cell; CD3, incubation in the conditions of "cell neighborhood" of proliferating and stimulated by aCD3 apoptotic cell; D, incubation in the conditions of "cell neighborhood" of proliferating and stimulated by dexamethasone (1 × 10⁻⁴ M) apoptotic cells.

Номинальные названия совместно культивируемых проб клеток, пролиферирующих в полной культуральной среде (НП), и аутологичных апоптотических клеток (АК)

Nominal names of co-cultured samples of cells, proliferated in a full culture medium (NP), and autologous apoptotic cells (AC)

«Контроль» (К) "Control"	– 0,5 млн клеток в 0,5 мл полной культуральной среды (ПКС) – 0.5×10^6 cells in full culture medium (FCM)
«Контроль апоптоза» (КА) "Control of apoptosis"	0,5 млн клеток в ПКС + 2 млн клеток апоптотической культуры 0.5×10^6 cells in FCM + 2×10^6 cells from apoptotic culture
«Контроль апоптоза супернатант» (KAsup) "Control of apoptosis supernatant"	0,5 млн клеток в ПКС + супернатант от клеток апоптотической культуры 0.5×10^6 cells in FCM + supernatant from apoptotic culture
"CD3"	0,5 млн клеток в ПКС + 2 млн клеток стимулированной aCD3 апоптотической культуры 0.5×10^6 cells in FCM + 2×10^6 cells from apoptotic aCD3-stimulated culture
«CD3 супернатант» "CD3 sup"	0,5 млн клеток в ПКС + супернатант от стимулированной aCD3 апоптотической культуры 0.5×10^6 cells in FCM + supernatant from apoptotic aCD3-stimulated culture
"D" Dexa	0,5 млн клеток в ПКС + 2 млн клеток стимулированной Dexa апоптотической культуры 0.5×10^6 cells in FCM + 2×10^6 cells from apoptotic Dexa-stimulated culture
«Dexa супернатант» "Dsup"	0,5 млн клеток в ПКС + супернатант от стимулированной Dexa апоптотической культуры 0.5×10^6 cells in FCM + supernatant from apoptotic Dexa-stimulated culture

Примечание. Объемы переносимых клеток и супернатантов были доведены ПКС до равных объемов – 0,5 мл.
D – дексаметазон.

Note. The volumes of transferred cells and supernatants were equalized by FCM to 0.5 mL. Dexa, dexamethasone.

Список литературы / References

1. Абрамова Т.Я., Блинова Е.А., Гришина Л.В., Чумасова О.А., Сулутьян А.Э., Сизиков А.Э., Козлов В.А. Исследование неавтономных эффектов апоптоза в процессе инициации апоптотической гибели клеток *in vitro* у здоровых людей и пациентов с ревматоидным артритом // Медицинская иммунология, 2020. Т. 22, № 5. С. 847-866. [Abramova T.Ya., Blinova E.A., Grishina L.V., Chumasova O.A., Sulut'yan A.E., Sizikov A.E., Kozlov V.A. Studies of non-autonomous effects of apoptosis in the course of *in vitro* apoptotic cell death initiation in healthy persons and patients with rheumatoid arthritis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2020, Vol. 22, no. 5, pp. 847-866. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-SON-1991.
2. Абрамова Т.Я., Блинова Е.А., Пашкина Е.А., Гришина Л.В., Ильина Н.А., Чумасова О.А., Сизиков А.Э., Козлов В.А. Исследование эффекторных молекул автономного и неавтономного влияния апоптоза Т-лимфоцитов в условиях «клеточного соседства» в культуре у здоровых людей и пациентов с РА // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 6. С. 1119-1138. [Abramova T.Ya., Blinova E.A., Pashkina E.A., Grishina L.V., Ilina N.A., Chumasova O.A., Sizikov A.E., Kozlov V.A. Studies of effector molecules exerting autonomous and nonautonomous influence of T lymphocyte apoptosis under the conditions of *in vitro* "cell neighborhood" in healthy people and patients with rheumatoid arthritis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2022, Vol. 24, no. 6, pp. 1119-1138. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-SOE-2527.
3. Абрамова Т.Я., Цура В.А., Блинова Е.А., Моренкова А.Ю., Чумасова О.А., Сулутьян А.Э., Сизиков А.Э., Козлов В.А. Индукция апоптоза лимфоцитов здоровых людей и пациентов с ревматоидным артритом в условиях «клеточного соседства» *in vitro* // Бюллетень сибирской медицины, 2019. Т. 18, № 1. С. 155-163. [Abramova T.Ya., Tsura V.A., Blinova E.A., Morenkova A.Yu., Chumasova O.A., Sulutian A.E., Sizikov A.E., Kozlov V.A.. Induction of lymphocyte apoptosis in healthy individuals and patients with rheumatoid arthritis under "cellular neighborhood" *in vitro*. *Byulleten sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*, 2019, Vol. 18, no. 1, pp. 155-163. (In Russ.)]
4. Cui Y., Guo G. Immunomodulatory Function of the Tumor Suppressor p53 in Host Immune Response and the Tumor Microenvironment. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, Vol. 17, no. 11, 1942. doi: 10.3390/ijms17111942.
5. Iwaszko M., Biały S., Bogunia-Kubik K. Significance of Interleukin (IL)-4 and IL-13 in Inflammatory Arthritis. *Cells*, 2021, Vol. 10, no. 11, 3000. doi: 10.3390/cells10113000.
6. Kalliolias, G.D., Ivashkiv L.B. TNF biology, pathogenic mechanisms and emerging therapeutic strategies. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2016, Vol. 12, no. 1, pp. 49-62.
7. Kato M. New insights into IFN- γ in rheumatoid arthritis: role in the era of JAK inhibitors. *Immunol. Med.*, 2020, Vol. 43, no. 2, pp. 72-78.
8. Kawamoto Y., Nakajima Y.I., Kuranaga E. Apoptosis in cellular society: communication between apoptotic cells and their neighbors. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, Vol. 17, no. 12, 2144. doi: 10.3390/ijms17122144.
9. Kondo N., Kuroda T., Kobayashi D. Cytokine networks in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, Vol. 22, no. 20, 10922. doi: 10.3390/ijms222010922.
10. Luo P., Wang P., Xu J., Hou W., Xu P., Xu K., Liu L. Immunomodulatory role of T helper cells in rheumatoid arthritis : a comprehensive research review. *Bone Joint Res.*, 2022, Vol. 11, no. 7, pp. 426-438.
11. Pandolfi F., Franza L., Carusi V., Altamura S., Andriollo G., Nucera E. Interleukin-6 in rheumatoid arthritis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, Vol. 21, no. 15, 5238. doi: 10.3390/ijms21155238.
12. Pérez-Garijo A. When dying is not the end: Apoptotic caspases as drivers of proliferation. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 2018, Vol. 82, pp. 86-95.
13. Shimba A., Ikuta K. Control of immunity by glucocorticoids in health and disease. *Semin. Immunopathol.*, 2020, Vol. 42, no. 6, pp. 669-680.
14. Slominski R.M., Tuckey R.C., Manna P.R., Jetten A.M., Postlethwaite A., Raman C., Slominski A.T. Extra-adrenal glucocorticoid biosynthesis: implications for autoimmune and inflammatory disorders. *Genes Immun.*, 2020, Vol. 21, no. 3, pp. 150-168.
15. Taves M.D., Ashwell J.D. Glucocorticoids in T cell development, differentiation and function. *Nat. Rev. Immunol.*, 2021, Vol. 21, no. 4, pp. 233-243.

Авторы:

Абрамова Т.Я. — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Блинова Е.А. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Abramova T.Ya., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Clinical Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Blinova E.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Clinical Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Пашкина Е.А. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Гришина Л.В. — к.б.н., научный сотрудник лаборатории клинической иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Ильина Н.А. — врач-ревматолог клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Чумасова О.А. — к.м.н., врач-ревматолог клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Сизиков А.Э. — к.м.н., заведующий отделением ревматологии — врач-ревматолог клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Козлов В.А. — д.м.н., академик РАН, заведующий лабораторией клинической иммунопатологии, научный консультант ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Pashkina E.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Clinical Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Grishina L.V., PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Clinical Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Ilna N.A., Rheumatologist, Clinic of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Chumasova O.A., PhD (Medicine), Rheumatologist, Clinic of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Sizikov A.E., PhD (Medicine), Head, Rheumatology Department, Clinic of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Kozlov V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Clinical Immunopathology, Scientific Advisor, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 01.06.2023
Принята к печати 04.10.2023

Received 01.06.2023
Accepted 04.10.2023