

УДК 616.379-008.646:575.174.015.3

DOI 10.20538/1682-0363-2017-4-195–206

Для цитирования: Курочкина Ю.Д., Тихонова М.А., Тыринова Т.В., Леплина О.Ю., Сизиков А.Э., Сулутьян А.Э., Коненкова Л.П., Чумасова О.А., Останин А.А., Черных Е.Р. Характеристика дендритных клеток у больных ревматоидным артритом с различным типом медикаментозной терапии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (4): 195–206.

Характеристика дендритных клеток у больных ревматоидным артритом с различным типом медикаментозной терапии

Курочкина Ю.Д., Тихонова М.А., Тыринова Т.В., Леплина О.Ю., Сизиков А.Э., Сулутьян А.Э., Коненкова Л.П., Чумасова О.А., Останин А.А., Черных Е.Р.

Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии (НИИФиКИ)
Россия, 630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Сравнительное исследование фенотипических и функциональных свойств дендритных клеток (ДК) в группах больных ревматоидным артритом (РА), получающих болезнь-модифицирующие препараты, либо биологические препараты и (или) пульс-терапию высокими дозами глюкокортикоидов.

Материал и методы. В исследование включены 39 пациентов с РА и 20 сопоставимых по возрасту и полу здоровых доноров. Девятнадцать больных на момент обследования получали терапию стандартными болезнь-модифицирующими препаратами (БМП) в виде монотерапии или в комбинации (группа РА1), 20 – биологические препараты либо пульс-терапию глюкокортикоидами (группа РА2). В последнем случае обследование проводилось на 2–7-е сут после последнего введения метилпреднизолона.

Результаты. В настоящем исследовании впервые описаны свойства ДК, генерируемых из моноцитов под действием IFN- α (IFN-ДК), при РА. Установлено, что общей особенностью ДК в группах РА1 и РА2 являются признаки незрелости ДК, проявляющиеся усилением экспрессии CD14 и снижением доли зрелых (CD14-CD83+) ДК. Несмотря на различия ДК в группах РА1 и РА2, оба типа клеток сохраняют *in vitro* чувствительность к действию дексаметазона, обработка которым приводит к значительному угнетению продукции TNF- α и снижению аллостимуляторной активности ДК. Таким образом, IFN-ДК у больных РА, получающих медикаментозную терапию, характеризуются наличием толерогенных свойств, которые наиболее выражены при использовании в программе лечения биологических препаратов или пульс-терапии кортикостероидами.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, дендритные клетки, дексаметазон, интерферон альфа.

ВВЕДЕНИЕ

Дендритные клетки (ДК) являются наиболее профессиональными антигенпрезентирующими клетками, способными активировать Т-клеточный иммунный ответ, но при патологии могут участвовать в инициации и поддержании ауто-

иммунных процессов. Вовлеченность ДК в патогенез ревматоидного артрита (РА) связывают со способностью ДК презентировать хрящевые гликопротеины [1], продуцировать провоспалительные цитокины [2], активировать Т-клетки к продукции Th1 и Th17 цитокинов и ингибировать генерацию регуляторных Т-клеток [3, 4]. В синовиальной ткани и жидкости пациентов с РА обнаруживается большое количество ДК,

✉ Курочкина Юлия Дмитриевна, e-mail: Juli_k@bk.ru.

которые часто локализованы в центре Т-клеточных кластеров [5], имеют зрелый активированный фенотип и индуцируют Th1-провоспалительный ответ [6, 7]. Наряду со стимулирующей активностью, ДК могут оказывать толерогенный эффект посредством индукции апоптоза и (или) анергии Т-лимфоцитов и генерации регуляторных Т-клеток [8]. Поскольку такие ДК являются негативными регуляторами аутореактивных Т-лимфоцитов [9], активация толерогенного потенциала ДК рассматривается в качестве новой стратегии лечения РА, а ДК – в качестве новых мишеней терапевтических воздействий [3]. При этом имеются основания полагать, что препараты, используемые в лечении РА, способны оказывать влияние на функции ДК. Так, в экспериментальных исследованиях на мышах показано, что метотрексат в сочетании с циклофосфамидом подавляет созревание ДК, ингибирует Th17-стимулирующую активность и усиливает способность ДК индуцировать генерацию регуляторных Т-клеток [10]. Толерогенный эффект на ДК продемонстрирован для глюкокортикоидов [11, 12]. Однако данные о влиянии медикаментозной терапии на свойства ДК у больных РА остаются во многом не исследованными.

Целью настоящего исследования явилось сравнительное исследование фенотипических и функциональных свойств ДК в группах больных РА, получающих болезнь-модифицирующие препараты, либо биологические препараты или пульс-терапию высокими дозами глюкокортикоидов. При этом в качестве объекта исследования впервые проанализированы ДК моноцитарного происхождения, генерируемые в присутствии IFN- α . Моноциты при воспалении являются важным источником тканевых ДК [13]. Исследования *in vitro* показали, что в присутствии GM-CSF и IL-4 моноциты быстро дифференцируются в ДК (IL4-ДК), которые у больных РА обладают сходством с тканевыми ДК [5]. Кроме того, мощным индукторами дифференцировки моноцитов ДК являются интерфероны I типа [14]. Учитывая важную патогенетическую роль интерферонов I типа (IFN α , IFN β) и их повышенный уровень при аутоиммунной патологии [15, 16], а также низкое содержание IL-4 в синовиальной жидкости и сыворотке крови [17, 18], логично полагать, что дифференцировка моноцитов в ДК у больных РА осуществляется с участием IFN- α . Соответственно, IFN-ДК (как и IL4-ДК) также могут являться мишенью терапевтических воздействий и представлять интерес в плане новых прогностических маркеров эффективности терапии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 39 пациентов с РА и 20 сопоставимых по возрасту и полу здоровых доноров. Диагностика РА проводилась в соответствии с критериями Американской коллегии ревматологов (ACR/EULAR, 2010). Все пациенты, рекрутируемые в исследование, имели давность заболевания более одного года и характеризовались умеренной или высокой степенью активности заболевания (DAS 28 > 3,1) [19]. Девятнадцать больных на момент обследования получали терапию стандартными болезнь-модифицирующими препаратами (БМП) в виде монотерапии или в комбинации, 20 – биологические препараты либо пульс-терапию глюкокортикоидами. В последнем случае обследование проводилось на 2–7-е сут после последнего введения метилпреднизолона. Забор крови и все иммунологические исследования проводили после получения письменного информированного согласия.

Генерация дендритных клеток. Венозную кровь забирали в вакутейнерные пробирки с гепарином (Becton & Dickinson, США). Мононуклеарные клетки (МНК) из венозной гепаринизированной крови выделяли методом градиентного центрифугирования на фиколе-верографине. Далее клетки двукратно отмывали и для прилипания к пластику инкубировали в 6-луночных пластиковых планшетах (Nunclon, Дания) в течение 1 ч в среде RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, США), дополненной 0,3 мг/мл L-глутамина, 5 мМ HEPES-буфера, 100 мкг/мл гентамицина и 2,5%-й сыворотки плодов коровы (FCS, БиолоТ, Санкт-Петербург). Неприлипающую фракцию МНК далее удаляли, а адгезивные к пластику моноциты продолжали культивировать в течение 4 сут при 37 °С в CO₂-инкубаторе в полной культуральной среде в присутствии GM-CSF (40 нг/мл, Sigma-Aldrich) и IFN- α (1000 Ед/мл, Роферон-А, Roche, Швейцария). Для индукции созревания на 4-е сут вносили липополисахарид (ЛПС, 10 мкг/мл, LPS E. coli 0114: B4, Sigma-Aldrich) и продолжали культивирование в течение последующих 24 ч. Генерацию IFN-ДК проводили в отсутствие (контрольные культуры) и присутствии дексаметазона (10⁻⁶ М), который добавляли на 3-и сут.

Фенотипический анализ ДК проводили методом проточной цитофлуориметрии (FACSCalibur, Becton Dickinson, США) с использованием FITS-или PE-меченных моноклональных анти-CD14, -CD83, -CD86, -HLA-DR, -TLR-2,-B7H1антител (BD PharMingen, США). Экспрессию поверхностных маркеров оценивали по относительно-

О к о н ч а н и е т а б л . 1

Параметр	Группы пациентов		Значимость различий
	РА 1 (БМП)	РА 2 (БП/ГК)	
Длительность заболевания, мес $Me (LQ-UQ)$	71 (26–160)	76 (21–132)	$p_u = 0,9$
DAS 28, $Me (LQ-UQ)$	6 (5,4–6,2)	5,8 (5,2–6,6)	$p_u = 0,9$
Умеренная активность (DAS 28), %	84	75	$p_{\chi^2} = 0,11$
Высокая активность (DAS 28), %	16	25	
Наличие ревматоидного фактора, %	100	100	–

П р и м е ч а н и е. БП – биологические препараты; ГК – глюкокортикоиды в режиме пульстерапии; ТМФ – точный метод Фишера, p_{χ^2} – критерий хи-квадрат.

му количеству позитивных клеток. Кроме того, отдельно для каждой субпопуляции оценивали уровень экспрессии поверхностных маркеров по средней интенсивности флуоресценции (MFI). Концентрацию цитокинов TNF-альфа и IL-10, а также IFN- γ и IL-6 в супернатантах соответствующих клеточных культур определяли методом иммуноферментного анализа, используя коммерческие тест-системы («Вектор-Бест», г. Новосибирск).

Алlostимуляторную активность IFN-ДК оценивали в смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ). В качестве отвечающих клеток использовали МНК доноров ($0,1 \times 10^6$ /лунку), которые культивировали в 96-луночных круглодонных планшетах в среде RPMI-1640 в присутствии 10%-й инактивированной сыворотки крови АВ (IV) группы при 37 °С в CO²-инкубаторе. Стимуляторами служили аллогенные IFN-ДК в соотношении МНК : ДК = 10 : 1. Пролиферативный ответ оценивали на 5-е сут радиометрически по включению ³H-тимидина (1 мкКю/лунку), вносимого за 18 ч до окончания культивирования. Индекс влияния ДК (ИВ) в алло-СКЛ рассчитывали как отношение пролиферативного ответа МНК в присутствии ДК к уровню спонтанной пролиферации МНК.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0. Данные представлены в виде медианных значений Me и квартильного диапазона $LQ-UQ$ (25–75% квартили). Для выявления значимых различий сравниваемых показателей использовали непараметрические критерии: Манна – Уитни (u) и парный критерий знаков. Корреляционный анализ проводили с помощью ранговой корреляции Спирмена R_s . Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Данные, характеризующие пациентов исследуемых групп, представлены в табл. 1.

Т а б л и ц а 1

Клиническая характеристика пациентов			
Параметр	Группы пациентов		Значимость различий
	РА 1 (БМП)	РА 2 (БП/ГК)	
Пол (М/Ж)	6/13	8/12	$p_{\text{ТМФ}} = 0,41$
Возраст, $Me (LQ-UQ)$	58 (48–64)	60 (44–64)	$p_u = 0,7$

Пациенты первой группы (РА1) получали терапию противоревматическими БМП в стандартных терапевтических дозах: девять пациентов – метотрексат (15–25 мг/нед), четыре – лефлуномид (20 мг/сут), 1-сульфасалазин (2,0/сут), пять человек – комбинацию азатиоприна или сульфасалазина с метотрексатом. Девять больных, принимающих метотрексат, азатиоприн и их комбинации в связи с высокой активностью заболевания также получали глюкокортикоидную терапию *per os* в дозе 10–20 мг/сут.

Во второй группе (РА2) 11 человек получали метотрексат (20 мг/нед), один из которых в комбинации с адалимумабом (40 мг один раз в 2 нед), один человек в комбинации с мабтерой (500 мг). Шесть больных находились на терапии лефлуномидом (20 мг/сут), 3-сульфасалазином (2,0/сут). В связи с высокой активностью заболевания 17 пациентам (не получающим ГИБП) была проведена пульс-терапия метилпреднизолоном 500 мг № 3.

Анализ поверхностных маркеров (рис. 1, 2) показал, что ДК больных первой группы (ДК-РА1), получающие БМП, отличались от ДК доноров признаками меньшей зрелости – возрастание относительного содержания CD14+ и CD14+CD83- клеток, а также плотности экспрессии CD14, и меньшим содержанием зрелых ДК (CD14-CD83+). ДК пациентов второй группы (ДК-РА2), получавших биологические препараты или пульс-терапию кортикостероидами, также характеризовались повышенным содержанием и плотностью экспрессии CD14 и снижением доли CD14-CD83+. Однако в этой группе отмечалось значимое возрастание популяции ДК,

одновременно экспрессирующих CD14 и CD83 (CD14+CD83+), и плотности экспрессии коингибиторной молекулы B7-H1 (PD1-L) (как по сравнению с ДК доноров, так ДК-РА1). Кроме того, по сравнению с ДК-РА1 ДК-РА2 отличались (на уровне тренда) меньшим содержанием ДК, экспрессирующих костимуляторную молекулу CD86, и большей долей ДК, несущих TLR2, опосредующей толерогенные сигналы.

Для оценки функциональных свойств далее исследовали продукцию цитокинов и аллостимуляторную активность ДК. Продукцию цитокинов (TNF-α, IL-10 и IL-6) оценивали в супернатантах IFN-ДК больных сравниваемых групп. ДК-РА1

продуцировали схожие уровни TNF-α, IL-6, IL-10 и не отличались соотношением TNF α и IL-10 по сравнению с ДК доноров (табл. 2). В то же время ДК-РА2 в сравнении с ДК доноров продуцировали более высокие уровни TNF-α (на уровне тренда) и IL-6 ($p_u = 0,01$). При этом концентрация IL-6 превышала таковую в культурах ДК-РА1. Следует отметить, что выход ДК у больных 1- и 2-й групп значимо не различался ($0,10 \times 10^6/1$ млн МНК и $0,12 \times 10^6/1$ млн МНК, соответственно; $p = 0,5$) и соответствовал таковому для ДК доноров ($0,08 \times 10^6/1$ млн МНК). Поэтому выявленные различия были обусловлены уровнем продукции цитокина, а не количеством цитокин-продуцирующих клеток.

Т а б л и ц а 2

Продукция цитокинов IFN-ДК здоровых доноров и больных РА, Me (LQ-UQ)						
Цитокин	ДК-РА1, пг/мл, n = 5	ДК-РА2, пг/мл, n = 8	p_u (1-2)	ДК-доноров, пг/мл, n = 9	p_u (1-3)	p_u (2-3)
TNF-α	3 780 (850-4 230)	5 275 (2 490-5 995)	0,24	3 570 (1 110-3 960)	0,84	0,09
IL-10	1 902 (756-3 186)	1 992 (1 818-3 174)	0,85	1 834 (666-2 224)	0,52	0,37
IL-6	16 960 (14 680-22 180)	23 970 (22 800-24 780)	0,017	19 580 (18 480-20 960)	0,4	0,01
TNF-α / IL-10	1,5 (0,85-5,49)	1,96 (1,75-3,25)	0,2	1,7 (0,2-2,8)	0,63	0,4

Пр и м е ч а н и е. Представлены концентрации отдельных цитокинов в 5-суточных супернатантах ДК. 1, 2, 3 – группы пациентов и доноров, участвующих в эксперименте.

Сравнение пролиферативной активности МНК и индексов стимуляции в СКЛ, индуцированной ДК-РА1 и доноров (рис. 3) не выявило различий в аллостимуляторной активности ДК. В то же время ДК-РА2 отличались как от ДК доноров, так и ДК-РА1 существенно более низкой аллостимуляторной активностью как на уровне интенсивности пролиферации в СКЛ, так и ИВДК. Выше отмечалось, что ДК-РА2 содержали большее количество TLR2+ клеток. Корреляционный анализ между экспрессией TLR2 и аллостимуляторной активностью ДК в общей группе больных выявил достоверную обратную зависимость ($rS = -0,62$; $p = 0,003$; $n = 21$).

В завершении была исследована чувствительность ДК у больных сравниваемых групп к действию дексаметазона *in vitro*. Ранее было показано, что одним из проявлений толерогенного эффекта дексаметазона в отношении IFN-ДК доноров является значимое подавление продукции TNF-α, приводящее к уменьшению индекса TNF-α /IL-10, а также угнетение аллостимуляторной активности ДК [20]. Действительно, как видно из данных табл. 3, ДКDex+ здоровых доноров отличались от ДКDex- значимым сниже-

нием продукции TNF-α на фоне умеренного и недостоверного уменьшения уровня IL-10, что приводило к значительному снижению индекса TNF-α /IL-10, а также двукратному угнетению аллостимуляторной активности.

Присутствие дексаметазона в культурах ДК больных РА также оказывало выраженный ингибирующий эффект на продукцию TNF-α. Медианные значения супрессорной активности дексаметазона в отношении продукции TNF-α ДК-РА1 и ДК-РА2 составляли соответственно 71 (42-79) и 75 (48-83)%. При этом дексаметазон практически не оказывал супрессорного эффекта на продукцию IL-10. Соответственно ДК Dex+ пациентов обеих групп характеризовались выраженным снижением индекса соотношения TNF-α и IL-10 в сторону преобладания последнего.

Несмотря на более низкую исходную аллостимуляторную активность ДК-РА2, эти клетки обладали сходной чувствительностью к ингибирующему действию дексаметазона. Так, медианные значения супрессии аллостимуляторной активности ДК-РА1 и ДК-РА2 составили 51 и 57%.

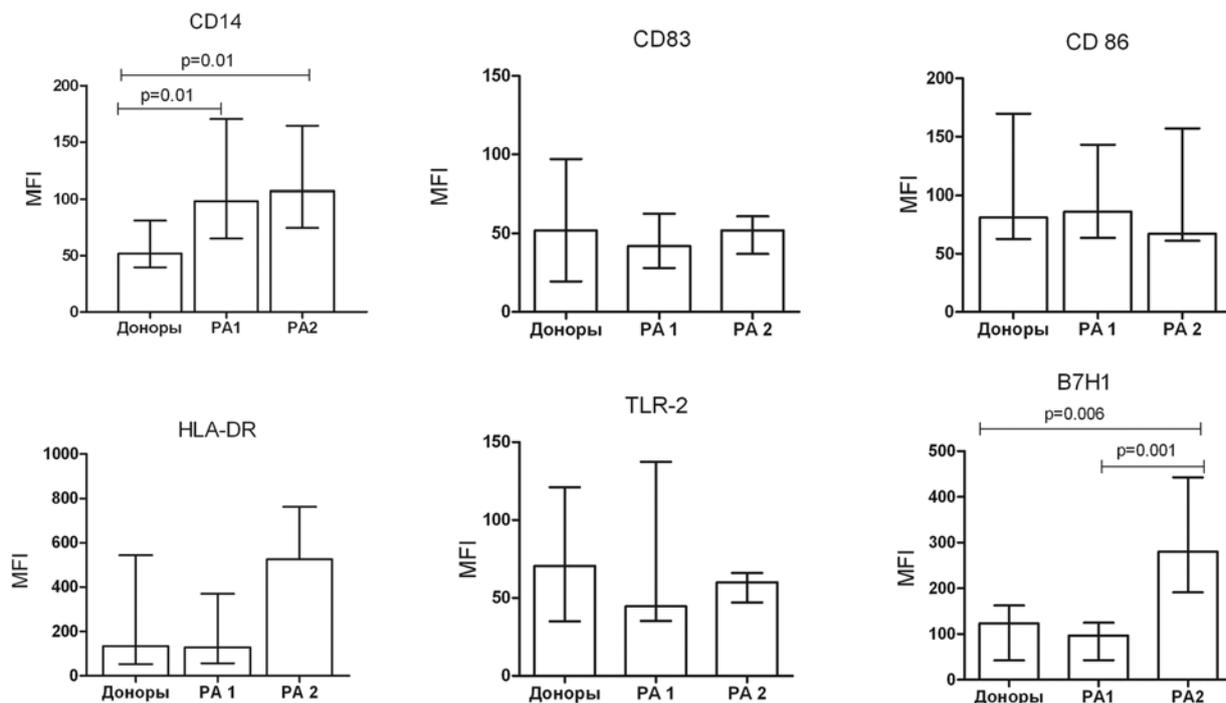


Рис. 1. Сравнительная характеристика поверхностных маркеров IFN-ДК больных РА и здоровых доноров: данные представлены в виде $Me (LQ-UQ)$; p – критерий Манна – Уитни; MFI – средняя интенсивность флуоресценции

Fig. 1 Expression level of surface IFN-DK markers in PA patients and healthy donors. NB: the data are presented in the form of medians and interquartile ranges; MFI – medium fluorescence strength; p – Mann – Whitney test

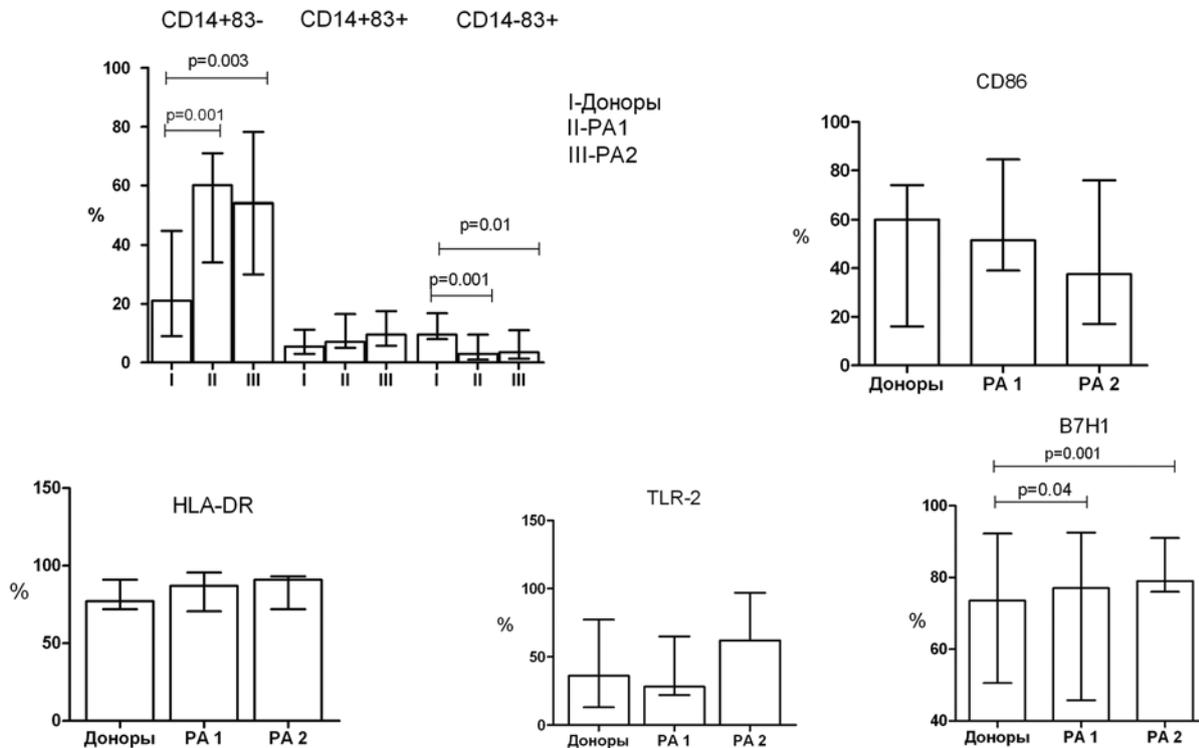


Рис. 2. Уровень экспрессии поверхностных маркеров IFN-ДК больных РА и здоровых доноров: данные представлены в виде медиан и интерквартильных диапазонов, % – относительное содержание клеток; p – критерий Манна – Уитни

Fig. 2. Comparative analysis of surface IFN-DK markers in PA patients and healthy donors: the data are presented in the form of medians and interquartile ranges; p – Mann – Whitney test

Т а б л и ц а 3

Сравнительная чувствительность ДК пациентов 1- и 2-й групп к толерогенному действию дексаметазона, <i>Me (LQ-UQ)</i>						
Параметр	ДК-РА1 Dex- (1)	ДК-РА1 Dex+ (2)	ДК-РА2 Dex- (3)	ДК-РА2 Dex+ (4)	ДК-доноров Dex- (5)	ДК-доноров Dex+ (6)
TNF- α , пг/мл	3 780 (850–4230)	510 (250–900)	5 275 (2490–5 995)	970 (165–24 550)	3 660 (1495–4 365)	510 (230–2 110)
*Супрессия, %	$p_{1-2} = 0,007; n = 5$ 71 (42–79)		$p_{3-4} = 0,013; n = 8$ 75 (48–83)		$p_{5-6} = 0,049; n = 9$ 50 (0–83)	
IL-10, пг/мл	1902 (756–3186)	2036 (1132–2640)	1992 (1836–3174)	1808 (1596–2724)	1834 (666–2224)	1020 (750–1538)
*Супрессия, %	11 (0–18)		14 (1–39)		26 (15–34)	
Индекс TNF- α /IL-10	1,5 (0,85–5,5)	0,72 (0,75–1,19)	1,96 (1,75–3,25)	0,59 (0,17–1,1)	2,14 (1,1–5,5)	0,41 (0,22–2,8)
	$p_{1-2} = 0,13; n = 5$		$p_{3-4} = 0,04; n = 7$		$p_{5-6} = 0,023; n = 8$	
Ответ в СКЛ, имп./мин	7975 (3 697–13 445)	4110 (1 758–6 064)	2526 (1 058–6 323)	1552 (503–2 800)	10 528 (5 489–16 006)	4 540 (1 954–6 885)
	$p_{1-2} = 0,0013; n = 18$		$p_{3-4} = 0,002; n = 18$		$p_{5-6} = 0,00048; n = 21$	
* Супрессия, %	51 (33–72)		57 (23–75)		64 (54–70)	

П р и м е ч а н и е. Продукция цитокинов и аллостимуляторная активность оценивалась для ДК, полученных от пациентов группы 1 (ДК-РА1), группы 2 (ДК-РА2) и здоровых доноров (ДК доноров). Для каждой группы сравнивалась активность интактных ДК (Dex-) и ДК, генерированных в присутствии дексаметазона (Dex+).

*супрессорный эффект дексаметазона на продукцию цитокинов рассчитывали как отношение продукции цитокинов в культурах Dex+ к продукции цитокинов в культурах Dex-. Супрессорный эффект дексаметазона на аллостимуляторную активность ДК рассчитывали как ответ в СКЛ, индуцированный Dex+, к ответу в СКЛ, индуцированному Dex-.

ОБСУЖДЕНИЕ

Дендритным клеткам отводится важная роль в патогенезе РА, а также в ускоренном развитии атеросклероза и тромбозов при данной патологии [21, 22]. С этой точки зрения подавление иммуностимулирующей активности и индукция толерогенных свойств ДК рассматриваются в качестве новой стратегии подавления не только аутоиммунного процесса, но и сопутствующих осложнений [23]. Согласно данным литературы, используемые в терапии РА препараты способны индуцировать толерогенный потенциал ДК. В частности показано, что глюкокортикоиды угнетают созревание генерируемых из моноцитов ДК [11, 12, 24]. Терапия больных РА моноклональными антителами к TNF- α сопровождается количественным снижением в циркуляции миелоидных и в меньшей степени плазмоцитоидных ДК и снижением экспрессии CD83 [25]. Данные об эффекте метотрексата на ДК менее однозначны. В экспериментальных исследованиях введение овальбумин-иммунизированным мышам метотрексата в сочетании с циклофосфамидом ингиби-

рует созревание ДК и смещает баланс в сторону уменьшения Th17 и возрастания регуляторных Т-клеток [10]. В то же время, по данным других авторов, метотрексат не подавляет иммуностимулирующей активности циркулирующих ДК [26].

В настоящем исследовании впервые описаны свойства ДК, генерируемых из моноцитов под действием IFN- α , при РА. Свойства IFN-ДК проанализированы с учетом терапии в двух группах пациентов: получающих базисную терапию БМП (РА1) и генно-инженерные биологические препараты или пульс-терапию глюкокортикоидами (РА2).

Результаты работы продемонстрировали, что генерируемые из моноцитов IFN-ДК у больных РА различаются не только по сравнению с ДК доноров, но и в зависимости от типа проводимой терапии. Общей особенностью ДК в группах РА1 и РА2 являются признаки незрелости ДК, проявляющиеся усилением экспрессии CD14 и снижением доли зрелых (CD14-CD83+). При этом ДК-РА2 имеют ряд дополнительных отличий – характеризуются достоверно повышенным (по сравнению с ДК доноров) содержанием

промежуточных по степени зрелости клеток CD14+CD83+, более высокой (в сравнении с ДК-доноров и ДК-РА1) экспрессией коингибиторной молекулы В7-Н1 (PD-1L), а также тенденцией к более низкой экспрессии CD86 и более высокому содержанию TLR-2+ДК. Учитывая, что незрелость ДК, низкая экспрессия костимуляторных молекул, а также высокая экспрессия PD-1L и TLR-2 характерны для толерогенных ДК [8, 27, 28], полученные результаты свидетельствуют о более выраженном толерогенном фенотипе ДК-РА2. Наряду с фенотипическими особенностями ДК-РА2 отличаются от ДК доноров и ДК-РА1 более высокой продукцией IL-6 и двукратно сниженной аллостимуляторной активностью, что также подтверждает их более высокий толерогенный потенциал. Несмотря на выявленные различия ДК-РА1 и ДК-РА2, оба типа ДК сохраняют *in vitro* чувствительность к действию дексаметазона, обработка которым приводит к значительному угнетению продукции TNF-а и снижению аллостимуляторной активности ДК. При этом ДК-РА2 практически теряют способность стимулировать пролиферацию аллогенных Т-клеток.

Следует отметить, что в группу РА2 вошли пациенты, получающие два различных типа терапии – биологические препараты и пульс-терапию глюкокортикоидами, что, безусловно, является ограничением работы. Объединение этих пациентов было проведено с целью формирования группы, оппозитной больным РА1. Действительно, именно эта категория пациентов обычно исключается при исследовании свойств ДК у больных РА в связи с более выраженной иммуносупрессивной активностью биологических препаратов и высоких доз глюкокортикоидов. В то же время в настоящем исследовании оценка влияния на ДК терапии с более выраженным иммуносупрессивным эффектом являлась одной из задач. Кроме того, индивидуальный анализ показал, что более выраженные толерогенные свойства были характерны для ДК пациентов, получающих как пульс-терапию, так и биологические препараты.

Согласно данным литературы ДК, полученные у больных РА при культивировании моноцитов с GM-CSF и IL4 (IL4-ДК), не обладают признаками незрелости и сохраняют стимулирующую активность [29–31], что расходится с результатами данного исследования в отношении IFN-ДК. Эти расхождения могут быть отчасти обусловлены различными свойствами ДК, генерируемых в присутствии IL-4 и IFN-а. С другой стороны, отсутствие выраженных изменений IL4-ДК может быть связано с особенностями рекрутирова-

ния пациентов в цитируемых исследованиях, то есть включением в исследование ранее не леченных пациентов или больных, получающих низкие дозы метотрексата, и исключением больных, принимающих высокие дозы стероидов или биологические препараты. Эти пациенты отличались также меньшей продолжительностью приема болезнь-модифицирующих препаратов.

Выявленные изменения свойств IFN-ДК у больных РА, особенно в группе пациентов РА2, которые получали препараты с более выраженной иммуносупрессивной активностью, очевидно отражают эффект медикаментозной терапии *in vivo*. Учитывая, что ДК генерировались из прилипающей фракции выделенных *ex vivo* МНК, мишенями терапевтического воздействия являлись циркулирующие моноциты.

Известно, что моноциты представляют гетерогенную популяцию и включают классические (CD14++CD16–), промежуточные (CD14++CD16+) и неклассические (CD14+CD16++) моноциты [32]. Эти клетки различаются не только фенотипически, но и функционально, что сказывается на свойствах генерируемых из них ДК [33]. Например, моноциты с повышенной экспрессией CD16 у больных сепсисом, дифференцируются в альтернативные ДК, индуцирующие анергию Т-клеток и генерацию Т-рег [33], а ДК моноцитарного происхождения у больных туберкулезом легких (также содержащих повышенное количество CD16+ моноцитов) обладают слабой антигенпрезентирующей активностью [34]. Учитывая эти данные, можно предположить, что более выраженные толерогенные свойства ДК в группе РА2 могут быть связаны с повышенным содержанием моноцитов CD16+.

Возрастание доли CD16+ моноцитов при РА отмечено рядом авторов [35, 36]. При этом выявлено, что терапия метотрексатом не сказывается на содержании моноцитов CD16+ [37]. Данные о влиянии глюкокортикоидов на субпопуляционный состав моноцитов у больных РА отсутствуют. Тем не менее показано, что при аутоиммунном увеите терапия глюкокортикоидами приводит к селективному накоплению промежуточных (CD14++CD16+) моноцитов, которые ингибируют пролиферацию Т-клеток и индуцируют генерацию Т-рег [38]. Относительно биологических препаратов L. Chaga с соавт. продемонстрировали, что терапия моноклональными а-TNFα антителами вызывает изменения субпопуляционного состава моноцитов с различной направленностью эффекта в группах пациентов, ответивших и не ответивших на терапию [39].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом полученные результаты свидетельствуют, что медикаментозная терапия при РА оказывает ингибирующее действие на генерируемые из моноцитов ДК, причем терапия биологическими препаратами и пульс-терапия глюкокортикоидами имеют более выраженный толерогенный эффект. Учитывая, что созревание моноцитов в ДК *in vitro* отражает процессы, происходящие *in vivo* [40–41], оценка свойств ИФН-ДК может иметь прогностическое значение при проведении медикаментозной терапии.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ И ВКЛАД АВТОРОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи, и сообщают о вкладе авторов. Курочкина Ю.Д., Тыринова Т.В. – культуральные работы. Тихонова М.А. – пробоподготовка для цитометрического анализа, цитометрический анализ проб. Курочкина Ю.Д., Тыринова Т.В., Леплина О.Ю., Черных Е.Р. – анализ и интерпретация данных. Курочкина Ю.Д., Сизиков А.Э, Чумасова О.А., Коненкова Л.П., Сулутьян А.Э. – рекрутирование пациентов с ревматоидным артритом, анализ клинических данных. Курочкина Ю.Д., Черных Е.Р. – подготовка текста статьи. Останин А.А., Черных Е.Р. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом Научно-исследовательского института фундаментальной и клинической иммунологии (протокол № 96 от 14.10.2016 г.)

ЛИТЕРАТУРА

1. Tsark E.C., Wang W., Teng Y.C., Arkefeld D., Dodge G.R., Kovats S. Differential MHC class II-mediated presentation of rheumatoid arthritis autoantigens by human dendritic cells and macrophages // *J. Immunol.* 2002; 169 (11): 6625–6633. DOI: 10.4049/jimmunol.169.11.6625.
2. Wenink M.H., Han W., Toes R.E., Radstake T.R. Dendritic cells and their potential implication in pathology and treatment of rheumatoid arthritis // *Handb. Exp. Pharmacol.* 2009; 188: 81–98. DOI: 10.1007/978-3-540-71029-5_4.
3. Khan S., Greenberg J.D., Bhardwaj N. Dendritic cells as targets for therapy in rheumatoid arthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2009; 5 (10): 566–571. DOI: 10.1038/nrrheum.2009.185.
4. Liu J., Cao X. Regulatory dendritic cells in autoimmunity: a comprehensive review // *J. Autoimmun.* 2015; 63: 1–12. DOI: 10.1016/j.jaut.2015.07.011.
5. Thomas R., MacDonald K.P., Pettit A.R., Cavanagh L.L., Padmanabha J., Zehntner S. Dendritic cells and the pathogenesis of rheumatoid arthritis // *J. Leukoc. Biol.* 1999; 66 (2): 286–292. PMID: 10449169.
6. Santiago-Schwarz F., Anand P., Liu S., Carsons S.E. Dendritic cells (DCs) in rheumatoid arthritis (RA): progenitor cells and soluble factors contained in RA synovial fluid yield a subset of myeloid DCs that preferentially activate Th1 inflammatory-type responses // *J. Immunol.* 2001; 167 (3): 1758–1768. DOI: 10.4049/jimmunol.167.3.1758.
7. Chen K., Wang J.M., Yuan R., Yi X., Li L., Gong W., Yang T., Li L., Su S. Tissue-resident dendritic cells and diseases involving dendritic cell malfunction // *Int. Immunopharmacol.* 2016; 34: 1–15. DOI: 10.1016/j.intimp.2016.02.007.
8. Hilkens C.M.U., Isaacs J.D. Tolerogenic dendritic cells in clinical practice // *Open Arthritis Journal.* 2010; 3: 8–12. DOI: 10.2174/1876539401003010008.
9. Torres-Aguilar H., Aguilar-Ruiz S.R., Gonzalez-Perez G., Munguia R., Bajaca S., Meraz-Rios M.A., Sanchez-Torres C. Tolerogenic dendritic cells generated with different immunosuppressive cytokines induce antigen-specific anergy and regulatory properties in memory CD4+ T cells // *J. Immunol.* 2010; 184 (4): 1765–1775. DOI: 10.4049/jimmunol.0902133.
10. Yu X., Wang C., Luo J., Zhao X., Wang L., Li X. Combination with methotrexate and cyclophosphamide attenuated maturation of dendritic cells: inducing Treg skewing and Th17 suppression in vivo // *Clin. Dev. Immunol.* 2013; 2013: 238035. DOI: 10.1155/2013/238035.
11. Piemonti L., Monti P., Allavena P., Sironi M., Soldini L., Leone B.E., Soggi C., Di Carlo V. Glucocorticoids affect human dendritic cell differentiation and maturation // *J. Immunol.* 1999; 162 (11): 6473–6481.
12. Xia C.Q., Peng R., Beato F., Clare-Salzler M.J. Dexamethasone induces IL-10-producing monocyte-derived dendritic cells with durable immaturity // *Scand. J. Immunol.* 2005; 62 (1): 45–54. DOI: 10.1111/j.1365-3083.2005.01640.x.
13. Leyn B., Ardañn C. Monocyte-derived dendritic cells in innate and adaptive immunity // *Immunol. Cell. Biol.* 2008; 86 (4): 320–324. DOI: 10.1038/icb.2008.14. Epub 2008 Mar 25.
14. Gessani S., Conti L., Del Corni M., Belardelli F. Type I interferons as regulators of human antigen presenting cell functions // *Toxins (Basel).* 2014; 6 (6): 1696–1723. DOI: 10.3390/toxins6061696.

15. Runnblom L., Eloranta M.L. The interferon signature in autoimmune diseases // *Curr. Opin. Rheumatol.* 2013; 25 (2): 248–253. DOI: 10.1097/BOR.0b013e32835c7e32.
16. Rodriguez-Carrio J., de Paz B., Lypez P., Prado C., Alperi-Lypez M., Ballina-Garcia F.J., Suarez A. IFN α serum levels are associated with endothelial progenitor cells imbalance and disease features in rheumatoid arthritis patients // *PLoS One.* 2014; 9 (1): e86069. DOI: 10.1371/journal.pone.0086069.
17. Miossec P., Nviliat A., Duput-dAngeac A., Sany J., Banchereau J. Low levels of interleukin-4 and high levels of transforming growth factor beta in rheumatoid synovitis // *Arthr. Rheum.* 1999; 33: 1180–1187. DOI: 10.1002/art.1780330819.
18. Chen E., Keystone E.C., Fish E.N. Restricted cytokine expression in rheumatoid arthritis // *Arthritis Rheum.* 1993; 36 (7): 901–910. PMID:8318038.
19. Prevoo M.L., van 't Hof M.A., Kuper H.H., van Leeuwen M.A., van de Putte L.B., van Riel P.L. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis // *Arthritis Rheum.* 1995; 38 (1): 44–8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/art.1780380107>.
20. Курочкина Ю.Д., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Тыринова Т.В., Баторов Е.В., Сизиков А.Э., Останин А.А., Черных Е.П. Влияние дексаметазона на интерферон- α - индуцированную дифференцировку моноцитов в дендритные клетки // *Медицинская иммунология.* 2016; 18 (4): 347–356. DOI: 10.15789/1563-0625-2016-4-347-356.
- Kurochkina Y.D., Leplina O.Y., Tikhonova M.A., Tyrinova T.V., Batorov E.V., Sizikov A.E., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Effect of dexamethasone on interferon- α -induced differentiation of monocytes to dendritic cells // *Medical Immunology (Russia).* 2016; 18 (4): 347–356 (in Russian). DOI: 10.15789/1563-0625-2016-4-347-356.
21. Rutella S., De Cristofaro R., Ferraccioli G. Function and dysfunction of dendritic cells in autoimmune rheumatic diseases // *Hum. Immunol.* 2009; 70: 360–373. PMID: 19405176.
22. Broder A., Chan J.J., Putterman C. Dendritic cells: an important link between antiphospholipid antibodies, endothelial dysfunction, and atherosclerosis in autoimmune and non-autoimmune diseases // *Clin. Immunol.* 2013; 146 (3): 197–206. DOI: 10.1016/j.clim.2012.12.002.
23. Wenink M.H., Han W., Toes R.E., Radstake T.R. Dendritic cells and their potential implication in pathology and treatment of rheumatoid arthritis // *Handb. Exp Pharmacol.* 2009; 188: 81–98. DOI: 10.1007/978-3-540-71029-5_4.
24. García-González P.A., Schinnerling K., Sepúlveda-Gutiérrez A., Maggi J., Hoyos L., Morales R.A., Mehdi A.M., Nel H.J., Soto L., Pesce B., Molina M.C., Cuchacovich M., Larrondo M.L., Neira Y., Catalán D.F., Hilkens C.M., Thomas R., Verdugo R.A., Aguilin J.C. Treatment with dexamethasone and monophosphoryl lipid a removes disease-associated transcriptional signatures in monocyte-derived dendritic cells from rheumatoid arthritis patients and confers tolerogenic features // *Front. Immunol.* 2016; 7: 458. eCollection 2016.
25. Balanescu A., Radu E., Nat R., Regalia T., Bojinca V., Ionescu R., Balanescu S., Savu C., Predeteanu D. Early and late effect of infliximab on circulating dendritic cells phenotype in rheumatoid arthritis patients // *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.* 2005; 25 (1): 9–18. PMID: 15864873.
26. Wehner R., Bitterlich A., Meyer N., Kloß A., Schäkel K., Bachmann M., Schmitz M. Impact of chemotherapeutic agents on the immunostimulatory properties of human 6-sulfo LacNAc+ (slan) dendritic cells // *Int. J. Cancer.* 2013; 132 (6): 1351–1359. DOI: 10.1002/ijc.27786.
27. Raker V.K., Domogalla M.P., Steinbrink K. Tolerogenic dendritic cells for regulatory T cell induction in man // *Front. Immunol.* 2015; 6: 569. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00569.
28. Chamorro S. TLR triggering on tolerogenic dendritic cells results in TLR2 up-regulation and a reduced proinflammatory immune program // *J. Immunol.* 2009; 183 (5): 2984–2994. DOI: 10.4049/jimmunol.0801155.
29. Radstake T.R., Nabbe K.C., Wenink M.H., Roelofs M.F., Oosterlaar A., van Lieshout A.W., Barrera P., van Lent P.L., van den Berg W.B. Dendritic cells from patients with rheumatoid arthritis lack the interleukin 13 mediated increase of FcRII expression, which has clear functional consequences // *Ann. Rheum. Dis.* 2005; 64: 1737–1743. DOI: 10.1136/ard.2004.034405.
30. Harry R.A., Anderson A.E., Isaacs J.D., Hilkens C.M. Generation and characterization of therapeutic tolerogenic dendritic cells for rheumatoid arthritis // *Ann. Rheum. Dis.* 2010; 69 (11): 2042–2050. DOI: 10.1136/ard.2009.126383.
31. Estrada-Capetillo L., Hernandez-Castro B., Monsivais-Urenda A., Alvarez-Quiroga C., Layseca-Espinosa E., Abud-Mendoza C., Baranda L., Urzainqui A., Sanchez-Madrid F., Gonzalez-Amaro R. Induction of Th17 lymphocytes and Treg cells by monocyte-derived dendritic cells in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus // *Clin. Dev. Immunol.* 2013; 2013, Article ID 584303, 9. DOI: 10.1155/2013/584303.
32. Ziegler-Heitbrock L., Ancuta P., Crowe S., Dalod M., Grau V., Hart D.N., Leenen P.J., Liu Y.J., MacPherson G., Randolph G.J., Scherberich J., Schmitz J., Shortman K., Sozzani S., Strobl H., Zembala M., Austyn J.M., Lutz M.B. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood // *Blood.* 2010; 116: e74–e80. DOI: 10.1182/blood-2010-02-258558.
33. Sprangers S., de Vries T.J., Everts V. Monocyte heterogeneity: consequences for monocyte-derived immune cells // *Journal of Immunology Research.* 2016; Article ID 1475435, 10.
34. Balboa L., Romero M.M., Laborde E. et al. Impaired dendritic cell differentiation of CD16-positive monocytes in tuberculosis: role of p38 MAPK // *European*

- Journal of Immunology*. 2013; 43 (2); 335–347. DOI: 10.1002/eji.201242557.
35. Rossol M., Kraus S., Pierer M., Baerwald C., Wagner U. The CD14(bright) CD16+ monocyte subset is expanded in rheumatoid arthritis and promotes expansion of the Th17 cell population // *Arthritis Rheum*. 2012; 64: 671–677. DOI: 10.1002/art.33418.
36. Radwan W.M., Khalifa R.A., Esaily H.A., Lashin N.A. CD14++CD16+ monocyte subset expansion in rheumatoid arthritis patients: Relation to disease activity and interleukin-17 // *The Egyptian Rheumatologist*. 2016; 38 (3): 161–169. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejr.2015.12.002>.
37. Cooper D.L., Martin S.G., Robinson J.I., Mackie S.L., Charles C.J., Nam J., Consortium Y., Isaacs J.D., Emery P., Morgan A.W. FcγRIIIa expression on monocytes in rheumatoid arthritis: role in immune-complex stimulated TNF production and non-response to methotrexate therapy // *PLoS ONE*. 2012;7:e28918. DOI: 10.1371/journal.pone.0028918.
38. Liu B., Dhanda A., Hirani S., Williams E.L., Sen H.N., Martinez Estrada F., Ling D., Thompson I., Casady M., Li Z., Si H., Tucker W., Wei L., Jawad S., Sura A., Dailey J., Hannes S., Chen P., Chien J.L., Gordon S., Lee R.W., Nussenblatt R.B. CD14++CD16+ Monocytes are enriched by glucocorticoid treatment and are functionally attenuated in driving effector T-cell responses // *J. Immunol*. 2015; 194 (11): 5150–5160. DOI: 10.4049/jimmunol.1402409.
39. Chara L., Sánchez-Atrio A., Pérez A., Cuende E., Albarán F., Turrión A., Chevarria J., Sánchez M.A., Monserrat J., de la Hera A., Prieto A., Sanz I., Diaz D., Alvarez-Mon M. Monocyte populations as markers of response to adalimumab plus MTX in rheumatoid arthritis // *Arthritis Res. Ther*. 2012; 14 (4): R175. DOI: 10.1186/ar3928.
40. Randolph G.J., Beaulieu S., Lebecque S., Steinman R.M., Muller W.A. Differentiation of monocytes into dendritic cells in a model of transendothelial trafficking // *Science*. 1998; 282: 480–483.
41. Farkas A., Kemény L. Interferon-α in the generation of monocyte-derived dendritic cells: recent advances and implications for dermatology // *Br. J. Dermatol*. 2011; 165 (2): 247–54. DOI: 10.1111/j.1365-2133.2011.10301.x.

Поступила в редакцию 18.01.2017

Утверждена к печати 30.06.2017

Курочкина Юлия Дмитриевна, аспирант, лаборатория клеточной иммунотерапии, врач-ревматолог клиники иммунопатологии, НИИФиКИ, г. Новосибирск.

Тихонова Марина Александровна, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клеточной иммунотерапии, НИИФиКИ, г. Новосибирск.

Тыринова Тамара Викторовна, канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория клеточной иммунотерапии, НИИФиКИ, г. Новосибирск.

Леплина Ольга Юрьевна, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория клеточной иммунотерапии, НИИФиКИ, г. Новосибирск.

Сизиков Алексей Эдуардович, канд. мед. наук, зав. отделением ревматологии клиники иммунопатологии, НИИФиКИ, г. Новосибирск.

Сулутьян Анна Эдуардовна, канд. мед. наук, врач-ревматолог отделения ревматологии клиники иммунопатологии, НИИФиКИ, г. Новосибирск.

Коненкова Людмила Петровна, врач-ревматолог, отделение ревматологии клиники иммунопатологии, НИИФиКИ, г. Новосибирск.

Чумасова Оксана Александровна, канд. мед. наук, врач-ревматолог, отделение ревматологии клиники иммунопатологии, НИИФиКИ, г. Новосибирск.

Останин Александр Анатольевич, д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник, лаборатория клеточной иммунотерапии, НИИФиКИ, г. Новосибирск.

Черных Елена Рэмовна, д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН, зав. лабораторией клеточной иммунотерапии, НИИФиКИ, г. Новосибирск.

(✉) Курочкина Юлия Дмитриевна, e-mail: Juli_k@bk.ru

УДК 616.379-008.646:575.174.015.3

DOI: 10.20538/1682-0363-2017-4-195-206

For citation: Kurochkina Yu.D., Tikhonova M.A., Tyrinova T.V., Leplina O.Yu., Sizikov A.E., Sulutian A.E., Konenkova L.P., Chumasova O.A., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Characteristics of dendritic cells from patients with rheumatoid arthritis and different type of drug therapy. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (4): 195–206.

Characteristics of dendritic cells from patients with rheumatoid arthritis and different type of drug therapy

Kurochkina Yu.D., Tikhonova M.A., Tyrinova T.V., Leplina O.Yu., Sizikov A.E., Sulutian A.E., Konenkova L.P., Chumasova O.A., Ostanin A.A., Chernykh E.R.

*Scientific Institution Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
14, Yadrintsevskaya Str., Novosibirsk, 630099, Russian Federation*

ABSTRACT

Purpose of the study. Comparative study of the phenotypic and functional properties of dendritic cells (DC) in groups of patients with rheumatoid arthritis (RA) receiving disease-modifying drugs, or biological drugs and (or) pulse therapy with high doses of glucocorticoids.

Materials and methods. The study included 39 patients with RA and 20 age-appropriate and semi-healthy donors. Nineteen patients were treated with standard disease-modifying drugs (BMP) in the form of monotherapy or in combination (group PA1) at the time of the examination, 20 – biological preparations or pulse-therapy with glucocorticoids (group PA2). In the latter case, the examination was carried out for 2–7 days after the last injection of methylprednisolone.

Results. In this study, the properties of DC generated from monocytes under the action of IFN- α (IFN-DK) for RA are described for the first time. It has been established that the general feature of DC in the PA1 and PA2 groups are signs of immaturity of the DC, manifested by increased CD14 expression and a decrease in the proportion of mature (CD14-CD83+) DC. Despite the differences in DC in the PA1 and PA2 groups, both cell types retain in vitro sensitivity to dexamethasone, the treatment of which leads to a significant inhibition of TNF- α production and a decrease in allostimulant activity of the DC. Thus, IFN-DK in RA patients receiving medical therapy is characterized by the presence of tolerogenic properties, which are most pronounced when used in a program of treatment of biological agents or pulse therapy with corticosteroids.

Key words: rheumatoid arthritis, dendritic cells, dexamethasone, interferon α .

Received January 18.2017
Accepted November 08.2017

Kurochkina Yuliya D., Postgraduate Student, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Doctor-rheumatologist, Clinic of Immunopathology, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation.

Tikhonova Marina A., PhD, Superior Researcher, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation.

Tyrinova Tamara V., PhD, Researcher, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation.

Leplina Olga Yu., DM, Leading Researcher, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation.

Sizikov Alexey E., PhD, Head of Rheumatology Department, Clinic of Immunopathology, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation.

Sulutian Anna E., PhD, Doctor-rheumatologist of the Rheumatology Department, Clinic of Immunopathology, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation.

Konenkova Ludmila P., PhD, Doctor-rheumatologist of the Rheumatology Department, Clinic of Immunopathology, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation.

Chumasova Oksana A., PhD, Doctor-rheumatologist of the Rheumatology Department, Clinic of Immunopathology, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation.

Ostanin Alexander A., DM, Professor, Main Researcher, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation.

Chernykh Elena R., DM, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Cellular Immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation.

(✉) **Kurochkina Yuliya D.**, e-mail: Juli_k@bk.ru.