

**РЕГУЛЯЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА МЕТАБОЛИТАМИ
МИКРООРГАНИЗМОВ МНОГОЛЕТНЕМЕРЗЛЫХ ПОРОД ЧЕРЕЗ
ЭФФЕКТОРНЫЕ Т-ЛИМФОЦИТЫ**

Петров С. А. ¹,

Суховей Ю. Г. ¹,

Калёнова Л. Ф. ¹,

Костоломова Е. Г. ²,

Касторнов А. А. ¹

¹ ФГБУН ФИЦ Тюменский научный центр СО РАН, Тюмень, Россия.

² ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России, Тюмень, Россия.

**REGULATION OF IMMUNE RESPONSE BY PERMAFROST
MICROORGANISM METABOLITES VIA EFFECTOR T-
LYMPHOCYTES**

Petrov S. A. ¹,

Sukhovoy Yu. G. ¹,

Kalenova L. F. ¹,

Kostolomova E. G. ²,

Kastornov A. A. ¹

¹ Tyumen Scientific Centre SB RAS.

² State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Tyumen State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation.

Резюме

Инфекционные агенты тесно взаимодействовали с иммунной системой человека, приобретая набор очень сложных механизмов для модуляции иммунитета. Одна из стратегий выживания вирусов, бактерий, простейших, гельминтов и грибов - воздействие на регуляторную сеть Т-клеток (Treg: CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻), которые контролируют иммунопатогенные реакции при многих инфекциях. Не только патогены, но и комменсалы способны напрямую индуцировать превращение наивных Т-клеток в супрессивные Foxp3-экспрессирующие Treg, в то время как другие активируют ранее существовавшие естественные Treg, в обоих случаях подавляя специфические для патогенов эффекторные реакции. Тем не менее, Treg также могут способствовать укреплению иммунитета в определенных условиях, например, на начальных стадиях инфекции, когда эффекторные клетки должны получить доступ к месту инфекции, и впоследствии при обеспечении генерации эффекторной памяти. Примечательно, что в настоящее время имеется мало информации о том, являются ли инфекции селективным приводом к патоген-специфическим Treg, и если да, то являются ли эти клетки также реактивными к аутоантигенам. Дальнейший анализ специфичности, наряду с более четкой картиной относительной динамики подмножеств Treg в течение заболевания, должен привести к рациональным стратегиям иммунного вмешательства для оптимизации иммунитета и ликвидации инфекционного процесса. Таким образом, восстановление функции Treg значимо при лечении инфекционных, аутоиммунных и других заболеваний и может служить маркером успешного лечения данных патологий. В статье проведена оценка влияния экзометаболитов бактерий рода *Bacillus* из многолетних мерзлых пород, полученных при разных температурных режимах их культивирования, на активность дифференцировки Treg и эффекторных Т-лимфоцитов. Установлены значимые различия: вторичные экзометаболиты микроорганизмов оказывают влияние на дифференцировку Treg

(CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻) и экспрессию активационных маркеров (CD69, CD25, HLA-DR) на CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитах. Данное воздействие регулируется видом метаболитов, полученных при различных температурах – «холодовые» (полученные при 5°C инкубации бактерий), «среднетемпературные» (при 22°C) и «тепловые» (при 37°C) метаболиты. При этом повышение уровня Treg ассоциируется при влиянии «холодовых» вторичных экзометаболитов со снижением активности дифференцировки CD4⁺ Т-лимфоцитов, «тепловых» вторичных экзометаболитов - снижением активности дифференцировки CD8⁺ Т-лимфоцитов, а «среднетемпературных» - примерно равнозначное влияние на активность дифференцировки CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов.

Ключевые слова: факторы регуляции дифференцировки лимфоцитов; микроорганизмы многолетнемерзлых пород; вторичные экзометаболиты бактерий рода *Bacillus*; CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻ Treg; CD69, CD25, HLA-DR Т-лимфоцитов, температура.

Abstract

Infectious agents have closely interacted with the human immune system, acquiring a set of highly sophisticated mechanisms for modulating immunity. One of the survival strategies for viruses, bacteria, protozoa, helminths and fungi is to target the regulatory T cell network (Treg: CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻) that controls immunopathogenic responses in many infections. Not only pathogens but also commensals are able to directly induce the conversion of naive T cells into suppressive Foxp3-expressing Tregs, while others activate pre-existing natural Tregs, in both cases suppressing pathogen-specific effector responses. However, Tregs can also contribute to immunity under certain conditions, such as at the initial stages of infection when effector cells must gain access to the site of infection, and subsequently in ensuring the generation of effector memory cells. It is noteworthy that currently little information on whether infections selectively drive pathogen-specific Tregs, and if so, whether such cells are also reactive to autoantigens are available. Further analysis of Treg subset specificity, along with a clearer picture of relative dynamics during the disease, should lead to rational strategies of immune intervention to optimize immunity and eliminate the infectious process. Thus, restoration of Treg function is important in the treatment of infectious, autoimmune and other diseases and can serve as a marker of their successful treatment. The article assesses the effect of exometabolites derived from permafrost *Bacillus* bacteria obtained at different temperature conditions of their cultivation on the activity of Treg and effector T lymphocyte differentiation. Significant differences were established: secondary microbial exometabolites affect Treg (CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻) differentiation and expression of activation markers (CD69, CD25, HLA-DR) on CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes. This effect is regulated by the type of metabolites obtained at different temperatures - "cold" (obtained at 5°C of bacterial incubation), "medium-temperature" (at 22°C) and "heat" (at 37°C) metabolites. In this case, an increase in the Treg level is associated with lower differentiation activity of CD4⁺ T-lymphocytes exposed to "cold" secondary exometabolites, a decrease in the

differentiation activity of CD8⁺ T-lymphocytes treated with “warm” secondary exometabolites, and a roughly equivalent effect on the differentiation activity of CD4⁺ and CD8⁺ T-lymphocytes acted upon by “medium-temperature” secondary exometabolites.

Keywords: factors regulating lymphocyte differentiation; permafrost microorganisms; secondary exometabolites of Bacillus bacteria; CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻ Treg; CD69, CD25, HLA-DR T-lymphocytes, temperature.

1 Введение

2 Регуляторные Т-клетки имеют фенотип $CD3^+CD4^+CD25^{hi}CD127^-$,
3 которые способны блокировать или подавлять иммунную реактивность *in vivo*
4 и *in vitro*. Различают естественные (nTreg), которые дифференцируются
5 непосредственно в тимусе, и индуцибельные (iTreg) подгруппы Treg.
6 Последние формируются в периферических лимфоидных органах из Т-клеток
7 под влиянием различных факторов, в том числе при контакте с дендритными
8 клетками, макрофагами, цитокинами IL10 и $TGF\beta$ и др. Процесс антигенной
9 активации эффекторных $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитов проявляется
10 последовательной экспрессией на мембране клеток активационных маркеров
11 (CD69, CD25 и HLA-DR). Уровень CD69 повышается через 3-12 часов после
12 активации лимфоцитов, CD25 – в течение 24 часов после стимуляции TCR, а
13 HLA-DR экспрессируется на мембране клеток примерно через 48 часов после
14 активации [8; 19; 21].

15 Критически важными становятся задачи поиска соединений,
16 избирательно воздействующих на мишень, и разработки подходящего метода
17 их применения при тех или иных заболеваниях [1]. Известны микробные
18 иммуномодуляторы, которые широко применяются в клинике и содержащие:
19 рибосомально-протеогликановые комплексы и лизаты из наиболее
20 распространенных возбудителей инфекций ЛОР-органов и дыхательных
21 путей. Показано, что введение мышам дикого типа синтетического
22 бактериального липопротеина Pam3Cys SK4 – лиганда TLR2 приводило к
23 значительному увеличению числа $CD4^+CD25^+$ Treg клеток [20]. Под
24 влиянием V антигена *Yersinia enterocolitica* активировался TLR2 и
25 усиливалась продукция IL 10, что приводило к иммуносупрессии [18].
26 Грамотрицательные бактерии, LPS через мишени $CD4^+CD25^+$ Treg клеток
27 осуществляется механизм иммуносупрессии – взаимодействие LPS с TLR4
28 приводит к резкому увеличению иммуносупрессивной способности антиген
29 неспецифических Treg клеток [7]. Синтетический бактериальный

30 липопротеин Pam3Cys SK4 через мишени CD4+CD25+ Treg клеток также
31 осуществляется механизм иммуносупрессии – взаимодействие Pam3Cys SK4
32 с TLR2 приводит к увеличению числа CD4+CD25+Treg клеток [20].

33 В последнее время активно проводятся исследования
34 комменсального микробиома человека, в первую очередь в желудочно-
35 кишечном тракте. Комменсальная кишечная микробиота интенсивно
36 взаимодействует с иммунной системой, индуцируя выработку ИЛ-10 Т-
37 клетками и подавляя продукцию ИЛ-17, и, как было показано далее,
38 способствует дифференциации регуляторных Т-клеток CD4⁺Foxp3⁺ через
39 TLR2 [15]. Комменсалы участвуют в регуляции активности Treg, отчасти и
40 потому, что они образуют биологический континуум (многие комменсалы
41 являются оппортунистическими патогенами), а также из-за общих сигнальных
42 путей и специфических рецепторов, которые участвуют в их распознавании
43 (табл. 1).

44 В этом плане перспективными для разработки микробных
45 иммуномодулирующих соединений, избирательно воздействующих на
46 дифференциацию регуляторных Т-клеток, и разработки подходящего метода
47 их применения при тех или иных заболеваниях являются микроорганизмы
48 многолетнемерзлых пород (МО ММП). Ранее нами было установлено, что их
49 метаболиты оказывают влияния на дифференцировку моноцитов
50 периферической крови человека *in vitro*, а также продукцию
51 мононуклеарными клетками периферической крови человека ФНО-а, ИЛ-1b и
52 ИЛ-10 [2; 3; 9-11]. При этом в отличие от комменсала (штамма IP5832 *Bacillus*
53 *cereus*) индукция секреции ИЛ-10 мононуклеарными клетками превышал в 15-
54 20 раз при воздействии экзометаболитов МО ММП. Определение
55 соотношения ФНО-а/ИЛ-10 и ИЛ-1b/ИЛ-10 показало способность данных
56 экзометаболитов, полученных при 42°C, сдвигать баланс в сторону синтеза
57 противовоспалительных цитокинов.

58 Цель настоящей работы – оценить влияние экзометаболитов МО ММП,
59 полученных при разных температурных режимах их инкубации, на активность
60 дифференцировки Treg и эффекторных Т-лимфоцитов.

61 2 Материалы и методы

62 В исследовании использованы 2 штамма МО ММП: 875 TS *Bacillus*
63 *megaterium* и 9-08-CH9 *Bacillus* sp., зарегистрированные в ВКПМ
64 (регистрационный №№ 12242 и 12401 соответственно). МО ММП
65 культивировали на ГРМ-агаре. Смыв микроорганизмов в дозе 10^7 микробных
66 клеток в 1 мл физиологического раствора инкубировали 72 ч при 5°C («холод-
67 ная» температура), 22°C («средняя» температура) и 37°C («теплая»
68 температура). Микробную взвесь пропускали через мембранные фильтры
69 (0,22 мкм; Millipore) и получали 3 вида МБ – «холодовые» (МБ-Х),
70 «среднетемпературные» (МБ-С) и «тепловые» (МБ-Т).

71 Мононуклеарные клетки (МНК) человека выделяли из
72 гепаринизированной периферической крови 0(Rh+) на градиенте плотности
73 DIACOLL-1077. Кровь получали от трёх доноров (мужчины 25-30 лет),
74 давших информированное добровольное согласие на взятие крови и
75 проведение данного исследования. Культивирование МНК проводили в
76 полной культуральной среде RPMI-1640 в присутствии 5% CO₂ при 37°C в
77 триплетах в течение 1, 3 и 7 сут. В контрольных пробах к культуре МНК
78 добавляли полную культуральную среду. С учётом исходной пробы МНК
79 получилось 4 контрольные группы (по 9 проб в группе). В опытных группах
80 добавляли соответственно МБ-Х, МБ-С и МБ-Т соответствующего штамма
81 МО. С учётом 2 штаммов МО, 2 типов МБ и 2 временных интервалов
82 культивирования МНК получилось 18 опытных групп (по 6 проб в каждой
83 группе). Содержание (%) регуляторных (Treg, CD3⁺ CD4⁺ CD25^{hi} CD127⁻),
84 хелперных (CD45⁺ CD3⁺ CD4⁺ CD8⁻) и цитотоксических (CD45⁺ CD3⁺ CD4⁻ CD8⁺)
85 Т-лимфоцитов с маркерами ранней (CD69), средней (CD25) и поздней
86 (HLADR) активации определяли методом проточной цитометрии на

87 цитофлюориметре CytoFLEX (Beckman Coulter) в гейте лимфоцитов. Для
88 идентификации лимфоцитов использовали моноклональные антитела
89 Beckman Coulter согласно инструкциям производителя. Результаты
90 обрабатывали в программе Kaluza Analysis (Beckman Coulter). В каждом
91 образце анализировали не менее 5×10^5 клеток.

92 Анализ характера распределения исследуемых показателей
93 соответствовал нормальному, поэтому достоверность различий между
94 группами оценивали по t критерию Стьюдента в программе SPSS Statistics 21
95 (IBM). Критический уровень значимости при проверке статистических
96 гипотез принимали равным 0.05. Для удобства анализа результаты
97 исследования отражены на рисунках в процентах от контрольного уровня.

98 РЕЗУЛЬТАТЫ

99 В контрольных пробах (табл. 2) в динамике культивирования МНК у
100 CD4 и CD8 Т-лимфоцитов происходит смена экспрессии активационных
101 маркеров с CD69 в первые сутки на CD25 на третьи сутки и на HLA DR с
102 максимум на седьмые сутки, что согласуется с данными других авторов [19;
103 21].

104 **МБ-Х** разных штаммов МО (рис. 1) оказали разное влияние на
105 активность дифференцировки Т-лимфоцитов по сравнению с контролем. МБ-
106 Х штамма 9-08-СН9 стимулировали экспрессию маркеров средней активации
107 ($CD4^+CD25^+$ и $CD8^+CD25^+$); штамма 875 TS – экспрессию маркеров поздней
108 активации ($CD45^+CD3^+CD4^+CD8^+HLADR^+$ и $CD45^+CD3^+CD4^-CD8^+HLADR^+$).
109 Причем стимулирующее влияние МБ-Х на активность дифференцировки CD8
110 Т-лимфоцитов оказалось в 2-3 раза выше, чем CD4 Т-лимфоцитов.

111 **МБ-С** разных штаммов МО (рис. 2) примерно в равной степени
112 индуцируют активность дифференцировки $CD45^+CD3^+CD4^+CD8^-$ и
113 $CD45^+CD3^+CD4^-CD8^+$ Т-лимфоцитов.

114 Под влиянием МБ-С штамма 875 TS повысили уровень экспрессии
115 маркеров поздней активации ($CD4^+HLADR^+$), а под влиянием МБ-С штамма

116 9-08-СН9 значительно возросла экспрессия маркеров средней и поздней активации
117 (CD8⁺CD25⁺ и CD8⁺HLADR⁺).

118 **МБ-Т** (рис. 3) штаммов 9-08-СН9 и 875 TS у обеих субпопуляций Т-
119 лимфоцитов достоверно стимулировали экспрессию маркеров ранней,
120 средней и поздней активации.

121 Уровень Treg (CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻) в контрольной группе (табл. 3) был
122 относительно стабилен на протяжении всего срока (7 суток) культивирования
123 МНК.

124 МБ всех видов в той или иной степени стимулируют дифференцировку
125 Treg на 1-3 сутки культивирования клеток. Так, МБ-Х и МБ-С стимулировали
126 экспрессию CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻ на 20-60%, а МБ-Т на 40-250% относительно
127 контрольного уровня. Выделяется штамм 9-08-СН9, МБ-Т которого в 2-3 раза
128 активнее других штаммов и видов МБ стимулировали дифференцировку Treg.

129 4 Обсуждение

130 Воздействие на Treg широкого спектра инфекционных организмов
131 неизбежно высветит индивидуальные особенности каждой системы с
132 уникальными нишами, динамикой и молекулярными взаимодействиями. Тем
133 не менее, очевидно, что Treg участвуют в исходе почти каждого изучаемого
134 инфекционного эпизода, не обязательно играя центральную роль, но
135 неизменно изменяя масштаб и режим иммунитета. Более того, во многих
136 случаях, от вирусов до червей, их вмешательство имеет решающее значение.
137 В течение длительного эволюционного времени бактерии рода *Bacillus* из
138 обводненных дисперсных пород, перешедших в мерзлое состояние,
139 выработали эффективные и часто изоциренные средства выживания в жесткой
140 среде обитания за длительный период времени. Среди многих стратегий,
141 используемых бактериями рода *Bacillus*, использование регуляторного
142 компартмента Т-клеток, несомненно, является одной из наиболее
143 эффективных.

144 Тем не менее, в перипетиях эволюции коадаптации хозяина и
145 экзометаболитов бактерий рода *Bacillus* развились некоторые удивительные
146 взаимодействия. Ключевое событие в развитии адаптивного иммунного ответа
147 – этапная активация как Т-хелперов/индукторов ($CD45^+CD3^+CD4^+CD8^-$) так и
148 Т-супрессорно-цитотоксических ($CD45^+CD3^+CD4^-CD8^+$) клеток от экспрессии
149 на их клеточной мембране от CD69 в первые сутки к CD25 на третьи сутки и
150 HLA DR на седьмые сутки с сохранением иммунорегуляторного индекса
151 (ИРИ) в пределах 0,54-0,92. Увеличение числа HLADR-позитивных
152 лимфоцитов может свидетельствовать не только о цитокин-опосредованном
153 запуске процессов дифференцировки и созревания клеток, но также об
154 участии HLA-DR-позитивных лимфоцитов в подавлении гиперактивации
155 иммунной системы [4-5].

156 В работе показано, что МБ МО ММП могут оказывать непосредственное
157 влияние на активность дифференцировки регуляторных и эффекторных Т-
158 лимфоцитов. Причем данным эффектом можно управлять, изменяя
159 температурные режимы получения МБ. Под влиянием «холодовых» МБ
160 увеличение численности Treg в большей степени ассоциируется со снижением
161 активности дифференцировки эффекторных Т-лимфоцитов в субпопуляцию
162 $CD45^+CD3^+CD4^+CD8^-$ клеток (в 2-3 раза по сравнению с уровнем активности
163 $CD45^+CD3^+CD4^-CD8^+$ клеток). Под влиянием «тепловых» МБ супрессивная
164 активность Treg в большей степени ассоциируется со снижением активности
165 дифференцировки $CD45^+CD3^+CD4^-CD8^+$ клеток (в 3-4 раза по сравнению с
166 уровнем активности $CD45^+CD3^+CD4^+CD8^-$ клеток). Под влиянием МБ-С Treg
167 оказывали примерно равнозначное влияние на дифференцировку хелперно-
168 индукторных и супрессорно-цитотоксических Т-лимфоцитов. Полученные
169 данные в значительной степени объясняют механизм выявленных нами ранее
170 иммуномодулирующих свойств МО ММП [2; 9-11].

171 Исследования выполнялись в рамках госзадания "Пространственно-
172 временные явления и процессы, происходящие в водах суши Сибири в
Russian Journal of Infection and Immunity

- 173 условиях современного техногенеза и изменения климата" (Приоритетное
174 направление 1.5.11. Программа 1.5.11.1)).

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Влияние комменсальной микробиоты на Treg-клетки.

Table 1. Effect of commensal microbiota on Treg cells.

Комменсальная микробиота commensal microbiota	Цитата Quote	Ссылка Link
<i>Bacteroides fragilis</i> (Gram -)	Стимулирует продукцию Treg через связывание полисахарида с TLR2 Drives Treg expansion, through PSA binding to TLR2	[16, 17]
<i>Bifidobacterium infantis</i> (Gram +)	Индукцируют Treg, которые опосредованно подавляют воспаление после заражения слизистой <i>S. typhimurium</i> Induction of Tregs, bystander suppression of inflammation following mucosal <i>S. typhimurium</i> infection	[14]
<i>Clostridium species</i> (Gram +)	Опосредует индукцию Treg посредством TGF-b, защищает от колита DSS Mediates Treg induction through TGF-b, protects against DSS colitis	[6]
<i>Helicobacter hepaticus</i> (Gram -)	Tr1-подобные клетки, продуцирующие IL-10, блокируют воспаление кишечника Tr1-like IL-10-producing cells block gut inflammation	[12]
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (Gram +)	CD8+CD28+ подавляющие Treg, продуцирующие IL-10 и TGF-b	[13]

	CD8 β CD28 β suppressive Tregs producing IL-10 and TGF- β	
--	---	--

Таблица 2. Активность дифференцировки Т-лимфоцитов в контрольной группе, %.

Table 2. T-lymphocyte differentiation activity in the control group, %.

Маркеры активации Activation markers	1 сутки 1 day	3 сутки 3 day	7 сутки 7 day
CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻ CD69 ⁺	5,4 ± 0,4	1,9 ± 0,2	0,22 ± 0,03
CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻ CD25 ⁺	2,1 ± 0,2	3,0 ± 0,27	0,5 ± 0,04
CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻ HLADR ⁺	0	0,7 ± 0,05	3,8 ± 0,3
CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁺ CD69 ⁺	6,2 ± 0,54	1,9 ± 0,17	0,38 ± 0,03
CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁺ CD25 ⁺	1,9 ± 0,13	5,5 ± 0,48	0,8 ± 0,07
CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁺ HLADR ⁺	0	1,3 ± 0,11	4,1 ± 0,35

Таблица 3. Влияние вида МБ на активность дифференцировки Treg, %.

Table 3. Effect of MB type on Treg differentiation activity, %.

Штаммы Strains	1 сутки 1 day	3 сутки 3 day	7 сутки 7 day
Контроль Control	6,9 ± 0,58	5,4 ± 0,36	6,1 ± 0,47
<i>МБ-Х (МВ-Х)</i>			
875 TS	9,4 ± 0,83 **	7,7 ± 0,68 **	5,3 ± 0,44
9-08-CH9	5,3±0,38 **	12±0,78 **	5,5±0,37
<i>МБ-С (МВ-С)</i>			
875 TS	5,2 ± 0,76 *	7,3 ± 0,65 **	6,2 ± 0,58
9-08-CH9	9,9±0,75 **	6,2±0,48	6,5±0,56
<i>МБ-Т (МВ-Т)</i>			
875 TS	11,8 ± 0,97 **	13,3 ± 1,17 **	7,5 ± 0,73
9-08-CH9	24,5 ± 1,75 **	15,9 ± 1,27 **	9,4 ± 0,74 **

Примечание: * - достоверность отличия с контролем (* - p>0,05; ** - p>0,01).

Note: * - significance of difference with control (* - p>0.05; ** - p>0.01).

РИСУНКИ

Рисунок 1. Влияние *МБ-Х* на активность дифференцировки Т-лимфоцитов (в % отличия от контрольного уровня). Примечание: достоверность отличия показателей в опытной группе от контроля: * - $p > 0,05$; ** - $p > 0,01$.

Figure 1. Effect of MB-X on the activity of T-lymphocyte differentiation (in % of difference from the control level). Note: reliability of the difference in indicators in the experimental group from the control: * - $p > 0.05$; ** - $p > 0.01$.

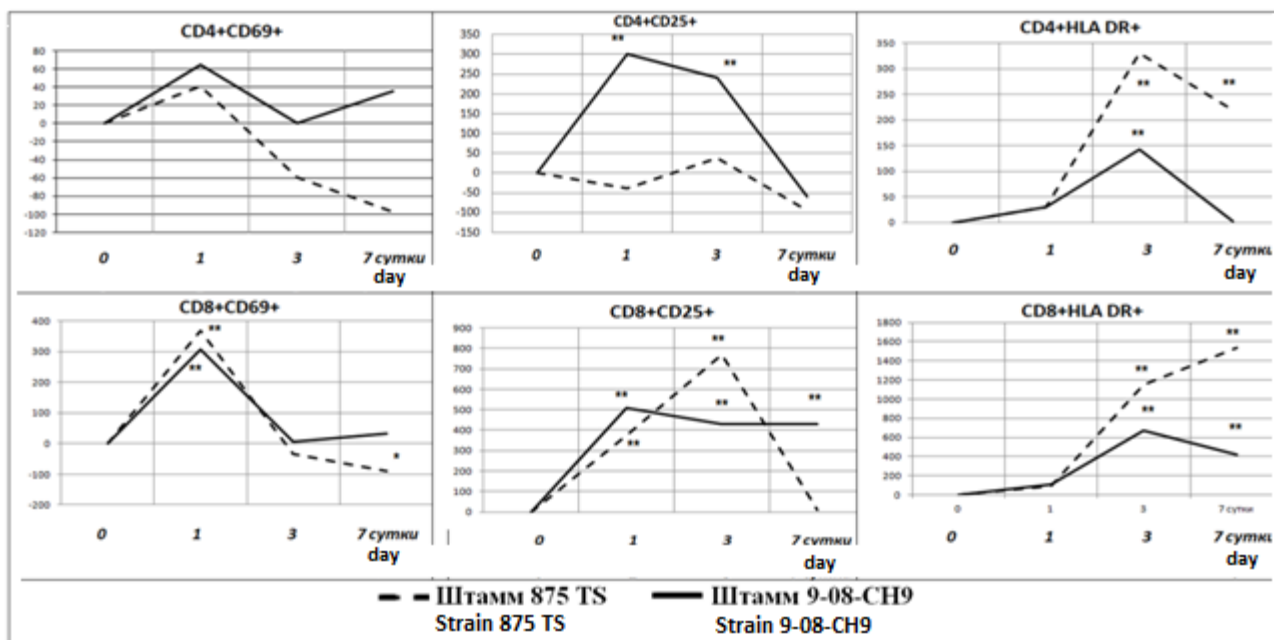


Рисунок 2. Влияние МБ-С на активность дифференцировки Т-лимфоцитов (в % отличия от контрольного уровня). Примечание: достоверность отличия показателей в опытной группе от контроля: * - $p > 0,05$; ** - $p > 0,01$.

Figure 2. The effect of MB-S on the activity of T-lymphocyte differentiation (in % of difference from the control level). Note: reliability of the difference in indicators in the experimental group from the control: * - $p > 0.05$; ** - $p > 0.01$.

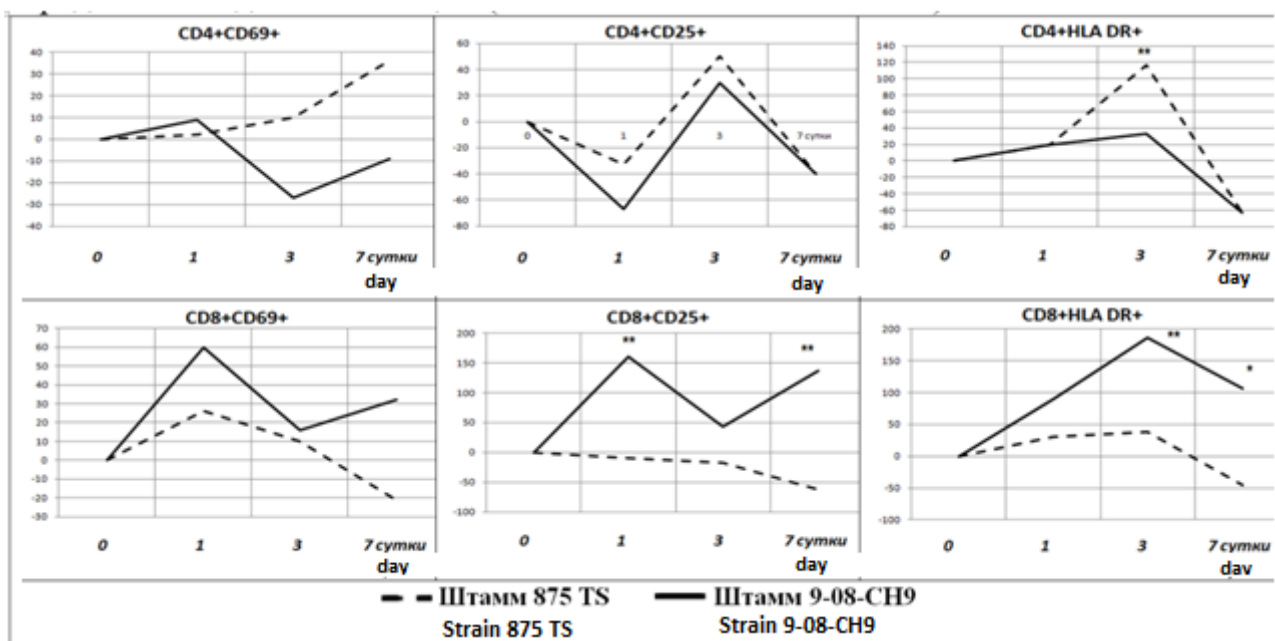
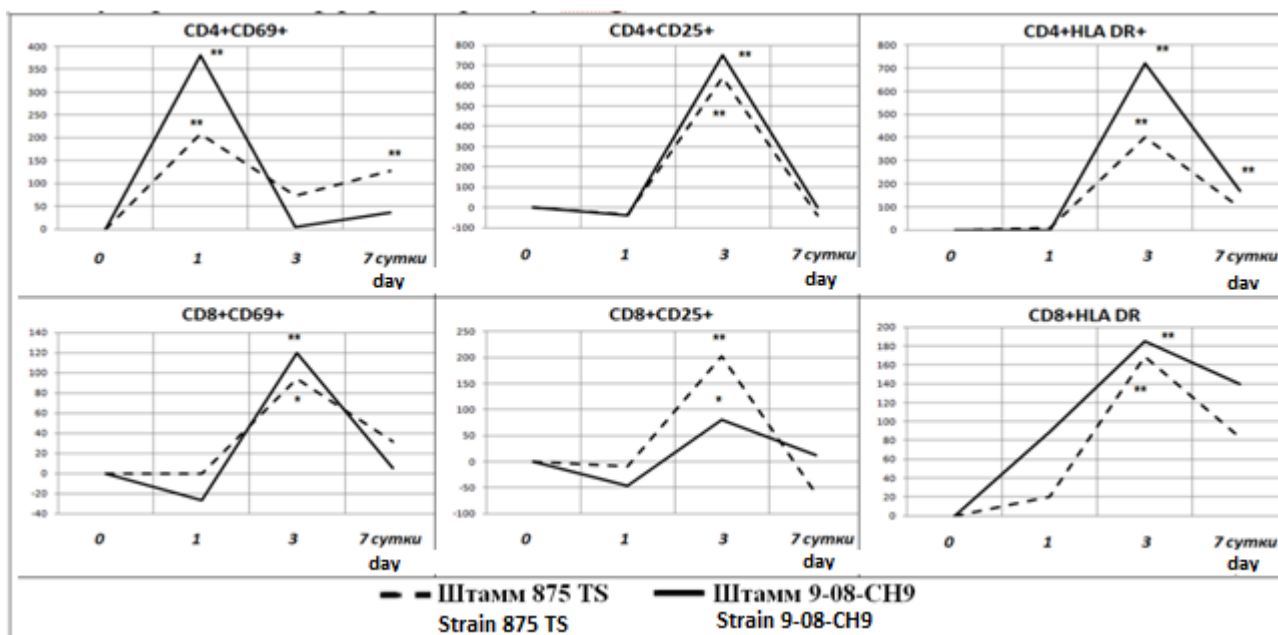


Рисунок 3. Влияние *МБ-Т* на активность дифференцировки Т-лимфоцитов (в % отличия от контрольного уровня). Примечание: достоверность отличия показателей в опытной группе от контроля: * - $p > 0,05$; ** - $p > 0,01$.

Figure 3. The effect of MB-T on the activity of T-lymphocyte differentiation (in % of difference from the control level). Note: reliability of the difference in indicators in the experimental group from the control: * - $p > 0.05$; ** - $p > 0.01$.



ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Петров Сергей Анатольевич, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела биоресурсов криосферы Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр Тюменский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук (ТюмНЦ СО РАН);

адрес: 625046, г. Тюмень, ул. 30 лет Победы д. 146, кв. 112;

телефон: 8(969)804-50-00;

e-mail: tumiki@yandex.ru

Petrov S.A. Doctor of Medical Sciences, Professor, Chief Researcher of the Department of Cryosphere Bioresources Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Research Center Tyumen Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (TyumenSC SB RAS):

address: 625046, Tyumen, ul. 30 years of Victory, bldg. 146, apt. 112;

telephone: 8(969)804-50-00;

e-mail: tumiki@yandex.ru

Блок 2. Информация об авторах

Суховой Ю.Г., д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела биоресурсов криосферы ТюмНЦ СО РАН, Тюмень, Россия;

Sukhovey Yu.G. Doctor of Medical Sciences, Professor, Chief Researcher, Department of Cryosphere Bioresources, Tyumen Scientific Center, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Tyumen, Russia;

Калёнова Л.Ф. д.б.н., главный научный сотрудник отдела биоресурсов криосферы ТюмНЦ СО РАН, Тюмень, Россия;

Kalenova L.F. Doctor of Biological Sciences, Chief Researcher, Department of Cryosphere Bioresources, Tyumen Scientific Center, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Tyumen, Russia;

Костоломова Е.Г., к.б.н., ассистент кафедры микробиологии Тюменский государственный медицинский университет, Тюмень, Россия;

Kostolomova E.G. PhD, Assistant Professor, Department of Microbiology, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russia;

Касторнов А.А. младший научный сотрудник отдела биоресурсов криосферы ТюмНЦ СО РАН, Тюмень, Россия;

Kastornov A.A. Junior Researcher, Department of Cryosphere Bioresources, Tyumen Scientific Center, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Tyumen, Russia.

Блок 3. Метаданные статьи

РЕГУЛЯЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА МЕТАБОЛИТАМИ
МИКРООРГАНИЗМОВ МНОГОЛЕТНЕМЕРЗЛЫХ ПОРОД ЧЕРЕЗ
ЭФФЕКТОРНЫЕ Т-ЛИМФОЦИТЫ
REGULATION OF IMMUNE RESPONSE BY PERMAFROST
MICROORGANISMS METABOLITES VIA EFFECTOR T-LYMPHOCYTES

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

РЕГУЛЯЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА МЕТАБОЛИТАМИ
МИКРООРГАНИЗМОВ
REGULATION OF IMMUNE RESPONSE BY MICROORGANISMS
METABOLITES

Ключевые слова: факторы регуляции дифференцировки лимфоцитов; микроорганизмы многолетнемерзлых пород; вторичные экзометаболиты бактерий рода *Bacillus*; CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻ Treg; CD69, CD25, HLA-DR Т-лимфоцитов, температура.

Keywords: factors regulating lymphocyte differentiation; permafrost microorganisms; secondary exometabolites of *Bacillus* bacteria; CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻ Treg; CD69, CD25, HLA-DR T-lymphocytes, temperature.

Оригинальная статья.

Количество страниц текста – 8, количество таблиц – 3, количество рисунков – 3.

14.08.2024.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядков ый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или DOI
1	Гариб Ф.Ю., Ризопулу А.П. Использование Т-регуляторных клеток хозяина в стратегии иммунной эвазии патогенов (обзор) // Биохимия. 2015. Т. 80, вып. 8. С. 1141-1159	Garib F.Yu., Rizopulu A.P. T-regulatory cells as part of the strategy of immune evasion by pathogens. <i>Biochemistry</i> . 2015, Vol. 80, issue. 8, P. 1141-1159 (<i>in Russian</i>)	https://biochemistrymoscow.com/ru/archive/2015/80-08-1141/
2	Литвинова Л.С., Гуцол А.А., Сохоневич Н.А., Шуплецова В.В., Кофанова К.А., Хазиахматова О.Г. и др. Основные поверхностные маркеры функциональной активности Т-лимфоцитов	Litvinova L.S., Gutsol A.A., Sokhonevich N.A., Kofanova K.A., Khaziakhmatova O.G. et al. Basic surface markers of functional activity T-lymphocytes. <i>Meditinskaya immunologiya</i> . - 2014; 6(1): 7-26. (<i>in Russian</i>)	https://www.mimmun.ru/mimmun/article/view/18/17

	//Медицинская иммунология. 2014; 6(1): 7–26.		
3	Юрова К.А., Хазиахматова О.Г., Тодосенко Н.М., Литвинова Л.С. Оценка влияния γ С-цитокинов (IL-2, IL-7 и IL-15) на экспрессию молекул поздней активации и апоптоза (CD95 и HLA-DR) CD4+/CD8+ Т-лимфоцитами в популяции CD45RA Т-клеток in vitro //Иммунология. 2018; 39(1), С. 20-25	Yurova K.A., Khaziakhmatova O.G., Todosenko N.M., Litvinova L.S. Evaluation of the effect of γ ccytokines (IL-2, IL-7 and IL-15) on expression of the late activation molecules and apoptosis (CD95 and HLA-DR) CD4+ / CD8+ T-lymphocytes in a population of CD45RA T cells in vitro. <i>Immunologiya</i> . 2018; 39(1): 20-25 (in Russian)].	https:// www.immunologiya-journal.ru/patrn/pdf/2018/Immunology_01-18.pdf [DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0206-4952-2018-39-1-20-25]]
4	Atarashi K., Tanoue T., Shima T., Imaoka A., Kuwahara T., Momose Y., Cheng G., Yamasaki S., Saito T., Ohba Y., Taniguchi T., Takeda K. et al. Induction of colonic regulatory T cells -		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21205640/ [DOI: 10.1126/science.1198469]

	by indigenous Clostridium species. <i>Science. 2011, Vol.331, P.337–341</i>		
5	Caramalho I., Lopes Carvalho T., Ostler D., Zelenay S., Haury M. and Demengeot J. (2003) Regulatory T cells selectively express toll like receptors and are activated by lipopolysaccharide. <i>J. Exp. Med., 197, 403–411</i>	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12591899/ [DOI: 10.1084/jem.20021633]
6	Cibrián D., Sánchez-Madrid F. CD69: from activation marker to metabolic gatekeeper. <i>Eur.J.Immunol. 2017, Vol.47, №6, P. 946–953.</i>	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28475283/ [DOI: 10.1002/eji.201646837]
7	Kalenova L.F., Kolyvanova S.S. Effects of Temperature on the Ability of Metabolites from Permafrost Microorganisms to Activate the	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31761984/ [doi: 10.1007/s10517-019-04650-6.]

	Synthesis of Systemic Cytokines by Mononuclear Cells. <i>Bulletin of Experimental Biology and Medicine</i> . 2019, Vol.168, №1, P. 72-75		
8	Kalenova L.F., Petrov S.A., Bazhin A.S. <i>Dose-Dependent Effect of Bacillus sp. Metabolites from Permafrost on Lymphocyte Differentiation in the Thymus</i> . <i>Bulletin of Experimental Biology and Medicine</i> . 2020, Vol.169, №1, P.67-70	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32488774/ [DOI: 10.1007/s10517-020-04826-5]
9	Kalenova L.F., Petrov S.A., Sukhovei Yu.G. Reparative and Immunomodulatory Potential of Low-Molecular-Weight Fractions of Secondary Metabolites of Bacillus sp. <i>Bulletin of Experimental Biology and</i>	-	https://link.springer.com/article/10.1007/s10517-022-05387-5 [DOI: 10.1007/s10517-022-05387-5]

	<i>Medicine. 2022, Vol. 172, № 3, P.332-336</i>		
10	Kalenova L.F., Petrov S.A., Subbotin A.M., Narushko M.V., Bazhin A.S. Influence of Paleobacteria on the Proliferative Activity of Human Lymphocytes In Vitro // Bull Exp Biol Med., 2023, 174(6):758-761.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37162627/ [doi: 10.1007/s10517-023-05787-1]
11	Kullberg M.C., Jankovic D., Gorelick P.L., Caspar P., Letterio J.J., Cheever A.W. and Sher A. Bacteria-triggered CD4(+) T regulatory cells suppress Helicobacter hepaticus-induced colitis. <i>J. Exp. Med.</i> 2002, Vol.196, P.505–5	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12186842/ [DOI: 10.1084/jem.20020556]
12	Mertens J., Fabri M., Zingarelli A., Kubacki T., Meemboor S., Groneck L., Seeger J., Bessler M., Hafke H.,	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19779562/

	Odenthal M., Bieler J.G., Kalka C. et al. Streptococcus pneumoniae serotype 1 capsular polysaccharide induces CD8CD28 regulatory T lymphocytes by TCR crosslinking. <i>PLoS Pathog.</i> 2009, Vol.5, e100059		[DOI: 10.1371/journal.ppat.1000596]
13	O'Mahony C., Scully P., O'Mahony D., Murphy S., O'Brien F., Lyons A., Sherlock G., MacSharry J., Kiely B., Shanahan F. and O'Mahony L. Commensal-induced regulatory T cells mediate protection against pathogen-stimulated NF-kB activation. <i>PLoS Pathog.</i> 2008, Vol.4, e1000112	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18670628/ [DOI: 10.1371/journal.ppat.1000112]
14	Petrov S.A, Sukhovei Yu.G, Kalenova L.F, Kostolomova E.G, Subbotin A.M, Kastornov A.A The Influence of	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3756

	Permafrost Microorganisms on Monocytes Differentiation In Vitro //Bull Exp Biol Med, 2023, 175(3):362-366.		3532/ [doi: 10.1007/s10517-023-05868-1/]
15	Rick M. Maizels and Katherine A. Smith Regulatory T Cells in Infection. <i>Advances in Immunology</i> , 2011. Vo.112, P.73-136 DOI: 10.1016/B978-0-12-387827-4.00003-6	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22118407/ [DOI: 10.1016/B978-0-12-387827-4.00003-6]
16	Round J.L. and Mazmanian S.K. Inducible Foxp3+ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> 2010, Vol.107, P.12204–12209	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20566854/ [DOI: 10.1073/pnas.0909122107]
17	Round J.L., Lee S.M., Li J., Tran G., Jabri B., Chatila T. A. and Mazmanian	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2151

	S.K. The Toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota. <i>Science</i> 2011, Vol.332, P.974–977		2004/ [DOI: 10.1126/science.1206095]
18	Sing A., Rost D., Tvardovskaia N., Roggenkamp A., Wiedemann A., Kirschning C.J., Aepfelbacher M., and Heesemann, J. (2002) Yersinia V antigen exploits toll like receptor 2 and CD14 for interleukin 10 mediated immunosuppression. <i>J. Exp. Med.</i> , 196, 1017–1024	-	https:// pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1239 1013/ [DOI: 10.1084/jem.20020908]
19	Shipkova M., Wieland E. Surface markers of lymphocyte activation and markers of cell proliferation. <i>Clin.Chim. Acta.</i> 2012, Vol. 413, № 17-18, P. 1338–1349	-	https:// pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2212 0733/ [DOI: 10.1016/j.cca.2011.11.006]

20	Sutmuller R.P.M., Morgan M.E., Netea M.G., Grauer O., and Adema, G.J. (2006) Toll like receptors on regulatory T cells: expanding immune regulation. <i>Trends Immunol.</i> , 27, 387–393.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16814607/ [DOI: 10.1016/j.it.2006.06.005]
21	Wieland E., Shipkova M. Lymphocyte surface molecules as immune activation biomarkers. <i>Clin. Biochem.</i> 2016, Vol. 49, № 4-5, P. 347–354	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26247177/ [DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2015.07.099]