

## **ВЛИЯНИЕ СТРЕПТОКОККОВОЙ АРГИНИНДЕИМИНАЗЫ НА ФОРМИРОВАНИЕ ЛЕЙКОЦИТАРНОГО ИНФИЛЬТРАТА В МОДЕЛИ ВОЗДУШНОГО КАРМАНА У МЫШЕЙ**

**Старикова Э.А., Кудрявцев И.В., Бурова Л.А., Лебедева А.М.,  
Маммедова Дж.Т., Фрейдлин И.С.**

*ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия*

**Резюме.** Многие патогенные микроорганизмы экспрессируют аргининдеиминазу – фермент, который катализирует гидролиз L-аргинина в цепи биохимических реакций, направленных на синтез АТФ в бактериальных клетках. L-аргинин является условно заменимой, протеиногенной аминокислотой и играет важную роль в регуляции функций клеток иммунной системы в организме млекопитающих. Истощение L-аргинина может приводить к ослаблению иммунной защиты. Многие патогенные микроорганизмы используют стратегию истощения L-аргинина в микроокружении клеток организма хозяина для улучшения условий диссеминации. Бактериальная аргининдеиминаза может являться фактором патогенности, действие которого направлено на дисрегуляцию процессов воспаления и иммунного ответа. В целом влияние аргининдеиминазы на клетки иммунной системы может быть обусловлено нарушением продукции регуляторных провоспалительных молекул, таких как NO, и связанными с этим, нарушениями активации, миграции и дифференцировки отдельных популяций лейкоцитов. Цель данного исследования состояла в изучении влияния аргининдеиминазы на формирование воспалительного клеточного инфильтрата при стрептококковой инфекции в модели воздушного кармана у мышей. Исследование проводили с использованием *S. pyogenes* M49-16, экспрессирующего аргининдеиминазу и его изогенного мутанта *S. pyogenes* M49-16delArcA с инактивированным геном аргининдеиминазы. В работе с помощью методов проточной цитометрии на разных сроках инфекции проводили анализ субпопуляционного состава воспалительного инфильтрата у мышей, зараженных исходным штаммом *S. pyogenes* M49-16 и его изогенным мутантом *S. pyogenes* M49-16delArcA. Было показано, что воспалительная реакция достигала пика развития через 6 часов и была выражена сильнее у мышей, инфицированных мутантным штаммом, о чем свидетельствовало одновременное и более выраженное повышение абсолютного количества лейкоцитов всех популяций в очаге воспаления у этой группы мышей по сравнению с мышами, инфицированными исходным штаммом. Несмотря на снижение абсолютного количества лейкоцитов в составе воспалительного инфильтрата в обеих группах мышей на сроке 24 часа, в группе мышей, зараженных мутантным штаммом, эта тенденция была выражена сильнее. Сравнение формирования воспалительного инфильтрата у мышей, зараженных исходным и мутантным штаммами, показало, что аргининдеиминаза может являться фактором патогенности, приводящим к дисрегуляции защитных реакций врожденного иммунитета за счет нарушения миграции лейкоцитов в очаг инфекции.

*Ключевые слова:* аргининдеиминаза, *S. pyogenes*, L-аргинин, воспаление, субпопуляции лейкоцитов

### **Адрес для переписки:**

Старикова Элеонора Александровна  
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»  
197376, Россия, Санкт-Петербург,  
ул. Акад. Павлова, 12.  
Тел.: 8 (812) 234-68-68.  
Факс: 8 (812) 234-94-89.  
E-mail: Starickova@yandex.ru

### **Address for correspondence:**

Starikova Eleonora A.  
Institute of Experimental Medicine  
197376, Russian Federation, St. Petersburg,  
Acad. Pavlov str., 12.  
Phone: 7 (812) 234-68-68.  
Fax: 7 (812) 234-94-89.  
E-mail: Starickova@yandex.ru

### **Образец цитирования:**

Э.А. Старикова, И.В. Кудрявцев, Л.А. Бурова,  
А.М. Лебедева, Дж.Т. Маммедова, И.С. Фрейдлин  
«Влияние стрептококковой аргининдеиминазы  
на формирование лейкоцитарного инфильтрата  
в модели воздушного кармана у мышей» // Медицинская  
иммунология, 2020. Т. 22, № 6. С. 1121-1130.  
doi: 10.15789/1563-0625-IOS-2075

© Старикова Э.А. и соавт., 2020

### **For citation:**

E.A. Starikova, I.V. Kudryavtsev, L.A. Burova,  
A.M. Lebedeva, J.T. Mammedova, I.S. Freidlin  
“Influence of streptococcal arginine deiminase on the leukocyte infiltration  
in murine air pouch model”, *Medical Immunology (Russia)/  
Meditsinskaya Immunologiya*, 2020, Vol. 22, no. 6,  
pp. 1121-1130.  
doi: 10.15789/1563-0625-IOS-2075

**DOI:** 10.15789/1563-0625-IOS-2075

# INFLUENCE OF STREPTOCOCCAL ARGININE DEIMINASE ON THE LEUKOCYTE INFILTRATION IN MURINE AIR POUCH MODEL

Starikova E.A., Kudryavtsev I.V., Burova L.A., Lebedeva A.M., Mammedova J.T., Freidlin I.S.

*Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation*

**Abstract.** Numerous pathogens express arginine deiminase, an enzyme that catalyzes the hydrolysis of L-arginine in a chain of biochemical reactions aimed at the synthesis of ATP in bacterial cells. L-arginine is a semi-essential, proteinogenic amino acid that plays an important role in regulating the functions of the immune system cells in mammals. Depletion of L-arginine may cause a weakening of the immune reaction. In order to improve the conditions of dissemination, many pathogens use a strategy of L-arginine depletion in the microenvironment of host cells. Bacterial arginine deiminase can be a pathogenicity factor aimed for dysregulating the processes of inflammation and immune response. In general, the effect of arginine deiminase on immune cells may result into disturbed production of regulatory proinflammatory molecules, such as NO, and related substances, inhibition of activation, migration and differentiation of individual leukocyte subsets. The aim of this study was to investigate the effect of arginine deiminase on the formation of inflammatory infiltrate in murine air pouch model of streptococcal infection. Materials and methods: The study was performed using *S. pyogenes* M49-16 expressing arginine deiminase and its isogenic mutant *S. pyogenes* M49-16delArcA with inactivated arginine deiminase gene. The flow cytometry analysis of the inflammatory infiltrate leukocytes subpopulation in mice infected with the original strain of *S. pyogenes* M49-16 and its isogenic mutant *S. pyogenes* M49-16delArcA at different periods of infection was performed. It was shown that the inflammation reached its peak 6 hours after streptococcal inoculation, being more pronounced in mice infected with the mutant strain. This finding was affirmed by a simultaneous and more pronounced increase in the absolute numbers of all leukocyte subsets in the focus of inflammation in this group of mice when compared to mice infected with original bacterial strain. Despite the decrease in the absolute number of all leukocyte types in the inflammatory infiltrate in both groups of mice for 24 hours, this trend was more pronounced in the group of mice infected with mutant microbial strain. Comparison of the inflammatory infiltrates developing in mice infected with original *versus* mutant strains showed that arginine deiminase may be a pathogenicity factor leading to dysregulation of protective immune response, due to impaired migration of white blood cells to the site of infection.

**Keywords:** arginine deiminase, *S. pyogenes*, L-arginine, inflammation, leukocyte subpopulations

## Введение

Аргининдеиминаза (АД) является одним из белков ферментативной системы аргининдеиминазы ADS (от англ. arginine deiminase system) у бактерий. ADS способствует выживанию бактерий в условиях дефицита кислорода и нутриентов, а также и при снижении pH среды в разных биологических нишах. В рамках этой системы АД катализирует гидролиз L-аргинина с образованием L-цитруллина и аммиака, поэтому активность фермента может приводить к истощению L-аргинина в микроокружении клеток организма-хозяина при инфекции [13, 18, 30].

Биологическая доступность L-аргинина является одним из факторов, которые регулируют активацию и эффекторные функции клеток иммунной системы [3, 32, 35, 37, 41]. Более того, биодоступность L-аргинина обеспечивает реали-

зацию одного из важнейших механизмов микробицидности фагоцитов. Так, L-аргинин является единственным субстратом iNOS в реакциях синтеза оксида азота (NO) [55]. NO не только обладает мощным бактерицидным потенциалом, но также является важной регуляторной молекулой. Продукция NO амплифицирует воспалительную реакцию, что способствует привлечению лейкоцитов в очаг воспаления [11, 25, 34, 45]. Действие АД на клетки иммунной системы также связано с регуляцией метаболизма лейкоцитов. Например, продукция NO является важным механизмом, поддержания устойчивого уровня гликолиза, соответствующего биоэнергетическим и биосинтетическим потребностям активированных клеток [4, 16, 21, 50]. Это играет ключевую роль для поддержания жизнеспособности лейкоцитов [27, 50, 54], регуляции их миграции в воспаленные ткани, продукции этими клетками цитокинов,

хемокинов и липидных медиаторов воспаления [2, 10, 19, 20, 24, 44, 50].

Кроме того, L-аргинин играет роль сигнальной молекулы в рамках внутриклеточного каскада mTOR, ответственного за гликолитический тип метаболизма [12, 14]. Создание дефицита L-аргинина может служить дополнительным фактором, регулирующим переключение типа метаболизма в клетках, отражающееся на их эффекторных функциях.

Истощение L-аргинина может являться одним из элементов стратегии патогена, направленной на ограничение или дисрегуляцию иммунных реакций, поэтому АД может рассматриваться как фактор патогенности, способствующий выживанию и персистенции патогена. Ранее в наших исследованиях была показана зависимость активности диссеминации *S. pyogenes* от их способности продуцировать АД [47]. Влияние АД на развитие воспаления в ходе инфекционного процесса до сих пор слабо изучено. Мобилизация лейкоцитов в очаг воспаления и продукция этими клетками микробицидных факторов играет ведущую роль в сдерживании патогена на начальных этапах развития инфекции и во многом определяет эффективность иммунного ответа. С целью оценки влияния АД на формирование клеточного воспалительного инфильтрата в данной работе проводили сравнительный анализ субпопуляционного состава лейкоцитарного инфильтрата в модели воздушного кармана у мышей, зараженных исходным штаммом *S. pyogenes* M49-16 и его изогенным мутантом с инактивированным геном АД *S. pyogenes* M49-16 delArcA.

## Материалы и методы

### Бактериальные штаммы

Исследования проводили с использованием ранее охарактеризованных [46] штаммов: *S. pyogenes* M49-16, экспрессирующего АД и его изогенного мутанта *S. pyogenes* M49-16delArcA с инактивированным геном АД. Штаммы были любезно предоставлены проф. Суворовым А.Н., ФБГНУ «ИЭМ» Санкт-Петербург.

Стрептококки выращивали в аэробных условиях при 37 °С в среде Todd Hewitt (Difco). Концентрацию бактерий в препарате для инокуляции мышам определяли путем высева бактериальной суспензии на чашки Петри, покрытые агаром, содержащим 5% эритроцитов крови барана и инкубировали ночь при 37 °С, после чего проводили подсчет колониеобразующих единиц (КОЕ). Суспензию бактериальных клеток осаждали центрифугированием, производили двукратную отмывку забуференным фосфатом физиологическим раствором («Биолот») и доводили концентрацию до  $1 \times 10^6$  бактериальных клеток в 1 мл физиологического раствора.

### Формирование воздушного кармана и инфицирование животных

Исследования проводили на мышах линии CBA/C57 Black6 (F1), 18-20 г полученных из питомника «Рапполово». Мышей содержали при комнатной температуре при неограниченном доступе воды и пищи. Животные были разделены на три группы: 1-я группа (контроль) получала физиологический раствор; 2-я группа была заражена *S. pyogenes* M49-16 и 3-я группа была заражена *S. pyogenes* M49-16delArcA. Формирование воздушного кармана проводили согласно методике, описанной [15]. В полость воздушного кармана с помощью инсулинового шприца вводили суспензии *S. pyogenes* M49-16 и *S. pyogenes* M49-16delArcA  $1 \times 10^6$  бактерий в 1 мл физиологического раствора. Через 2, 4 и 24 часа после инокуляции животных подвергали эвтаназии и производили отбор лаважа воздушного кармана путем его промывания с последующей аспирацией 2 мл раствора Хенкса («Биолот»), содержащего 5 мМ ЭДТА.

### Анализ субпопуляционного состава клеточного инфильтрата

Подсчет концентрации лейкоцитов в образцах проводили с использованием камеры Горяева. Предварительно для предотвращения неспецифического связывания антител проводили блокировку Fc-рецепторов на лейкоцитах. Для этого клетки инкубировали в присутствии 0,25 мкг TruStain FcX™ (анти-CD16/32, BioLegend, кат. № 101319) на  $10^6$  клеток в 100 мкл ЗФР в течение 5-10 минут на льду. Для анализа субпопуляций лейкоцитов производили окрашивание клеточной суспензии с использованием коктейля антител: Ly6C-FITC (кат. № 128005), Ly6G-PE (кат. № 127607), CD11b-PE-Cy7 (кат. № 101215), I-A/I-E-APC/Cyanine7 (кат. № 107627, CD11c-AlexaFluor647 (кат. № 117314), F4/80-PerCP/Cy5.5 (кат. № 123127) (все BioLegend) в соответствии с рекомендациями компании-производителя антител. Анализ образцов проводили с помощью проточного цитометра Navios™ (Beckman Coulter).

### Статистическая обработка данных

Данные статистически обрабатывали с помощью пакетов программ Microsoft Office Excel 2010, STATISTICA 7.0. Выполнение условия нормальности распределения проверяли критерием Колмогорова–Смирнова. Статистическую оценку достоверности различий проводили с использованием непараметрического критерия Краскела–Уоллиса, попарное сравнение средних значений групп проводили с использованием апостериорного U-критерия Манна–Уитни. При указании средних значений после знака «±» приведена стандартная ошибка среднего. Различия между группами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты

Исследования показали, что инфильтрат воздушного кармана мышей до заражения (контроль) содержал 21,4% нейтрофилов, 24,9% лимфоцитов, 21,8% эозинофилов и 8,2% моноцитов. При этом суммарная доля макрофагов и дендритных клеток составляла менее 1% (табл. 1). Эти цифры отражали абсолютное количество лейкоцитов каждой из субпопуляций в составе лаваж мышей контрольной группы (табл. 1).

После инфицирования мышей как исходным, так и мутантным штаммом, происходил значительный сдвиг субпопуляционного состава воспалительного инфильтрата в сторону преобладания нейтрофилов с одновременным снижением доли клеток, принадлежащих другим популяциям. Эта тенденция проявлялась раньше у мышей,

зараженных мутантным штаммом, и достигала максимума в обеих группах через 6 часов после инокуляции (табл. 1).

Абсолютное количество лейкоцитов в инфильтрате незараженных мышей (контроль) составляло  $0,8 \pm 0,29$  млн клеток. Через 2 ч после инфицирования мышей исходным штаммом происходило достоверное повышение абсолютного количества лейкоцитов в очаге инфекции до  $1,8 \pm 0,41$  млн клеток, которое достигало  $4,4 \pm 0,92$  млн клеток, через 6 часов и снижалось до  $1,62 \pm 1,62$  млн клеток через 24 часа, что по-прежнему было достоверно выше абсолютного количества лейкоцитов в воздушном кармане незараженных мышей (рис. 1).

В группе мышей M49-16 delArcA абсолютное количество лейкоцитов в очаге инфекции через 2

**ТАБЛИЦА 1. ИЗМЕНЕНИЯ ОТНОСИТЕЛЬНОГО КОЛИЧЕСТВА СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛЕЙКОЦИТОВ В ЛАВАЖЕ ВОЗДУШНОГО КАРМАНА В ХОДЕ ИНФЕКЦИИ**

TABLE 1. CHANGES IN THE RELATIVE AMOUNTS OF LEUKOCYTES SUBPOPULATIONS IN THE LAVAGE OF AIR POUCH DURING INFECTION

Популяции лейкоцитов Leukocytes populations	Доля субпопуляций лейкоцитов (%), $M \pm m$ в лаваже воздушного кармана у мышей при инокуляции Proportion of leukocyte subpopulations (%), $M \pm m$ in air pouch lavage in mice upon inoculation							
	Физраствор Saline solution	M49-16				M49-16delArcA		
	0 часов 0 hours (n = 8)	2 часа 2 hours (n = 10)	6 часов 6 hours (n = 10)	24 часа 24 hours (n = 10)	2 часа 2 hours (n = 8)	6 часов 6 hours (n = 10)	24 часа 24 hours (n = 10)	
нейтрофилы neutrophils	$21,360 \pm 4,495$	$38,340 \pm 5,794$ *	$77,120 \pm 3,141$ ** ¥	$32,750 \pm 4,121$ * ¥¥	$57,050 \pm 6,170$ * #	$68,440 \pm 3,033$ ** #	$34,320 \pm 3,537$ ** ¥	
лимфоциты lymphocytes	$24,880 \pm 7,858$	$10,600 \pm 2,375$	$3,820 \pm 1,830$ ** ¥	$8,070 \pm 1,687$ * ¥	$3,280 \pm 0,486$ *** #	$5,970 \pm 2,770$ **	$6,950 \pm 1,111$ * ¥	
эозинофилы eosinophils	$21,780 \pm 4,474$	$26,080 \pm 2,953$	$10,530 \pm 1,865$ * ¥¥	$21,210 \pm 3,615$ ¥	$22,940 \pm 2,970$	$14,750 \pm 2,218$ ¥	$18,680 \pm 3,157$	
моноциты monocytes	$8,200 \pm 2,120$	$5,170 \pm 2,146$	$0,920 \pm 0,159$ **	$4,830 \pm 0,850$ ¥¥¥	$3,850 \pm 1,781$ *	$1,850 \pm 0,227$ *** ##	$5,970 \pm 1,027$ ¥¥¥	
дендритные клетки dendritic cells	$0,630 \pm 0,096$	$0,690 \pm 0,185$	$0,230 \pm 0,057$	$0,460 \pm 0,073$	$0,730 \pm 0,280$	$0,450 \pm 0,121$	$0,430 \pm 0,059$	
макрофаги macrophages	$0,360 \pm 0,113$	$0,210 \pm 0,052$	$0,050 \pm 0,012$ ** ¥	$0,530 \pm 0,120$ ¥¥¥	$0,230 \pm 0,079$	$0,140 \pm 0,027$ * ##	$0,470 \pm 0,068$ ¥¥¥	
другие клетки other cells	$22,800 \pm 3,248$	$18,910 \pm 2,280$	$7,340 \pm 1,670$ ***¥	$32,160 \pm 3,411$ ¥¥¥	$11,930 \pm 2,161$ **	$8,410 \pm 1,528$ **	$33,190 \pm 3,064$ ***¥	

Примечание. Различия достоверны: по сравнению с контролем (\*\*\*) –  $p < 0,001$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \* –  $p < 0,05$ ; по сравнению с долей лейкоцитов в лаваже у мышей, зараженных исходным штаммом в той же временной точке (## –  $p < 0,01$ ; # –  $p < 0,05$ ); по сравнению с долей лейкоцитов в лаваже у мышей в предыдущей временной точке (¥¥¥ –  $p < 0,001$ ; ¥¥ –  $p < 0,01$ ; ¥ –  $p < 0,05$ ).

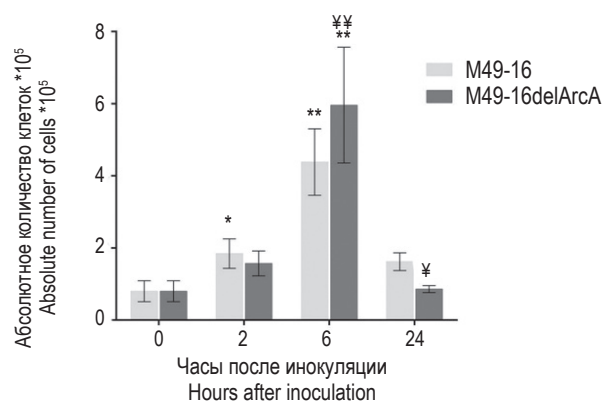
Note. The differences are significant: compared to the control (\*\*\*,  $p < 0.001$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*,  $p < 0.05$ ); compared to the fraction of leukocytes in lavage of mice infected with the original strain at the same time point (##,  $p < 0.01$ ; #,  $p < 0.05$ ); compared to the fraction of leukocytes in lavage of mice infected with the same strain at the previous time point (¥¥¥,  $p < 0.001$ ; ¥¥,  $p < 0.01$ ; ¥,  $p < 0.05$ ).

часа после заражения достоверно не отличалось от контроля. Однако через 6 часов после заражения абсолютное количество лейкоцитов в очаге повышалось до  $5,96 \pm 1,603$  млн клеток, что было сопоставимо с эффектом исходного штамма в той же временной точке и достоверно отличалось от значений, зарегистрированных в контроле. Таким образом, у мышей, зараженных исходным штаммом, миграция клеток в очаг воспаления происходила быстрее, чем у мышей, зараженных мутантным штаммом. Однако через 24 ч в обеих группах мышей происходило снижение абсолютного количества лейкоцитов до уровня этого показателя контрольной группы. Как у мышей, зараженных исходным, так и мышей, зараженных мутантным штаммами, изменения концентрации лейкоцитов в очаге достигали максимальных значений через 6 часов после инокуляции. Это указывает на то, что на этом сроке наблюдался пик развития воспалительной реакции.

Нейтрофилы были преобладающей клеточной популяцией, составляющей клеточный инфильтрат, в очаге инфекции, вызванной исходным и мутантным штаммами на всех сроках инфекции. При этом наблюдались некоторые различия в динамике накопления нейтрофилов у мышей, зараженных исходным и мутантным штаммом. Абсолютное количество нейтрофилов в воспалительном инфильтрате мышей, зараженных исходным штаммом, было достоверно ниже, по сравнению с этим показателем у мышей, зараженных мутантным штаммом, через 6 часов после инокуляции (рис. 2А). Однако в дальнейшем снижение количества этих клеток в очаге происходило быстрее у мышей, зараженных мутантным штаммом, и через 24 часа количество нейтрофилов в очаге при инфекции мутантным штаммом было достоверно ниже по сравнению с этим показателем у мышей, зараженных исходным штаммом.

Абсолютное количество лимфоцитов в инфильтрате мышей, зараженных исходным штаммом, в ходе инфекции достоверно не изменялось. При заражении мутантным штаммом происходило достоверное снижение количества этих клеток через 2 и 24 часа пост-инфекции. Повышение количества этих клеток через 6 часов пост-инфекции не было достоверным (рис. 2Б).

Эозинофилы были второй по численности после нейтрофилов популяцией лейкоцитов, составляющей воспалительный инфильтрат как при инфекции исходным, так и при инфекции мутантным штаммами (рис. 2В). При этом динамика изменения абсолютного количества этих клеток была разной. В обеих группах мышей достоверное повышение количества эозинофилов происходило уже через 2 часа после инфицирования (рис. 2В). Однако при инфекции исходным штаммом этот показатель в дальнейшем достоверно не изменялся. В то время как у мышей,



**Рисунок 1. Изменения абсолютного количества лейкоцитов в составе лаважа воздушного кармана в ходе инфекции**

**Примечание.** Различия достоверны: по сравнению с контролем (\*\* –  $p < 0,01$ ; \* –  $p < 0,05$ ); по сравнению с количеством лейкоцитов в лаваже у мышей, зараженных тем же штаммом в предыдущей временной точке (¥¥ –  $p < 0,01$ ; ¥ –  $p < 0,05$ ).

Figure 1. Changes in the number of leukocytes in the lavage of air pouch during infection

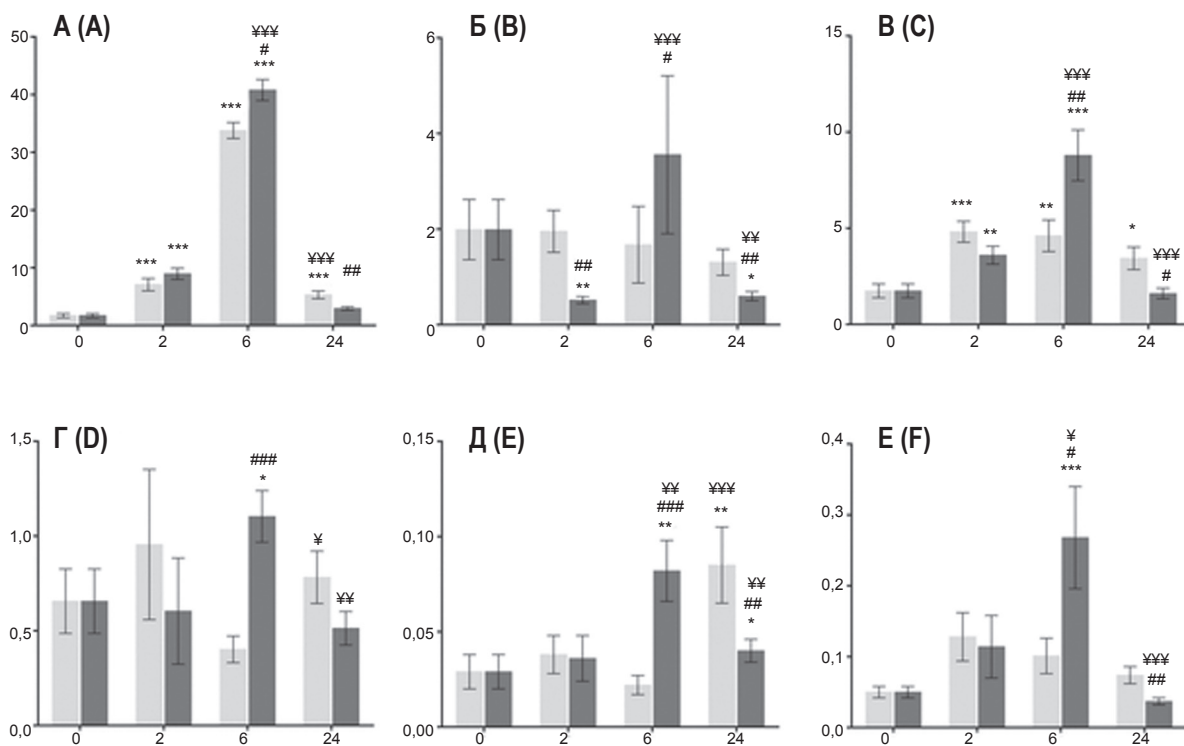
Note. The differences are significant: compared to the control (\*\*,  $p < 0.01$ ; \*,  $p < 0.05$ ); compared to the number of leukocytes in lavage of mice infected with the same strain in the previous time point (¥¥,  $p < 0.01$ ; ¥,  $p < 0.05$ ).

зараженных мутантным штаммом, через 6 часов пост-инфекции происходило двукратное повышение количества эозинофилов и далее через 24 часа снижение этого параметра до исходного уровня.

У мышей, зараженных мутантным штаммом через 6 часов постинфекции в воспалительном инфильтрате было зарегистрировано достоверное повышение абсолютного количества моноцитов (рис. 2Г), макрофагов (рис. 2Д) и дендритных клеток (рис. 2Е). При этом через 24 часа этот показатель снижался до уровня близкого к контролю. При инфекции исходным штаммом накопление макрофагов в очаге происходило только через 24 часа после инокуляции. Достоверных изменений абсолютного количества моноцитов и дендритных клеток при этом не наблюдалось.

## Обсуждение

Клетки врожденного иммунитета являются ключевыми факторами в уничтожении патогенов. Первую линию защиты при инфекции составляют резидентные макрофаги. Важная роль этих клеток в элиминации стрептококков группы А (СГА) обусловлена их высокой фагоцитарной активностью и способностью продуцировать большие количества провоспалительных цитокинов, активных форм кислорода и NO. Способность макрофагов эффективно элиминировать стрептококков продемонстрирована в многочисленных исследованиях *in vitro* и *in vivo*. Показано,



**Рисунок 2.** Изменения абсолютного количества лейкоцитов разных субпопуляций в составе лаважа воздушного кармана в ходе инфекции

Примечание. А – нейтрофилы; Б – лимфоциты; В – эозинофилы; Г – моноциты; Д – макрофаги; Е – дендритные клетки. По оси абсцисс – время после инокуляции (часы); по оси ординат – абсолютное количество клеток  $\times 10^5$ .

Различия достоверны: по сравнению с контролем (\*\*\*) –  $p < 0,001$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \* –  $p < 0,05$ ); по сравнению с количеством лейкоцитов в лаваже у мышей, зараженных исходным штаммом в той же временной точке (## –  $p < 0,01$ ; # –  $p < 0,05$ ); по сравнению с количеством лейкоцитов в лаваже у мышей, зараженных тем же штаммом в предыдущей временной точке (¥¥¥ –  $p < 0,001$ ; ¥¥ –  $p < 0,01$ ; ¥ –  $p < 0,05$ ).

Figure 2. Changes in the number of leukocytes from different subpopulations in the lavage of air pouch during infection

Note. A, neutrophils; B, lymphocytes; C, eosinophils; D, monocytes; E, macrophages; F, dendritic cells. Abscissa, time after inoculation (hours); ordinate, number of cells  $\times 10^5$ .

The differences are significant: compared to the control (\*\*\*)  $p < 0.001$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ ); compared to the number of leukocytes in lavage of mice infected with the original strain at the same time point (##  $p < 0.01$ ; #  $p < 0.05$ ); compared to the number of leukocytes in lavage of mice infected with the same strain at the previous time point (¥¥¥  $p < 0.001$ ; ¥¥  $p < 0.01$ ; ¥  $p < 0.05$ ).

что деплеция макрофагов или ингибирование их фагоцитарной активности приводит к усилению диссеминации *S. pyogenes* [1, 22, 31, 52]. У мышей, зараженных мутантным штаммом, накопление макрофагов в очаге инфекции происходило на более раннем сроке по сравнению с этим показателем у мышей, зараженных исходным штаммом. Пул тканевых макрофагов пополняется за счет миграции и дифференцировки моноцитов из кровеносного русла [42], и этот процесс многократно усиливается при воспалении [52]. Поэтому снижение скорости накопления макрофагов в очаге при инфекции исходным штаммом может быть связано с ингибированием миграции моноцитов в очаг или подавлением дифференцировки моноцитов в макрофаги. Действительно, только при инфекции мутантным штаммом через 6 часов после инокуляции происходило повышение концентрации моноцитов в очаге воспаления

(рис. 2Г). Концентрация моноцитов при инфекции, вызванной исходным штаммом, на этом сроке достоверно не изменялась.

Дендритные клетки, так же как и макрофаги, являются «сенсорами» микробных паттернов и инициируют иммунный ответ на патогены [40]. В наших экспериментах только у мышей, зараженных мутантным штаммом, происходило достоверное по сравнению с контролем повышение концентрации дендритных клеток в очаге через 6 часов после инокуляции. Тогда как концентрация клеток данной популяции в очаге воспаления мышей, инфицированных исходным штаммом, достоверно не изменялась. Выявленные отличия могут быть связаны со снижением миграции в очаг воспаления как моноцитов, так и предшественников дендритных клеток, равно как и нарушение процессов дифференцировки моноцитов в дендритные клетки у мышей, зара-

женных исходным штаммом. Дендритные клетки располагаются повсеместно в местах первичного проникновения СГА в организм хозяина — в коже и слизистых. При распознавании консервативных структур патогенов, дендритные клетки быстро активируются и продуцируют провоспалительные цитокины, определяющие дальнейшее направление развития адаптивного иммунного ответа [40]. Этот процесс сопровождается повышением экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости и костимуляторных молекул, которые усиливают иммуногенность этих клеток и способность индуцировать адаптивный иммунный ответ [28, 29, 40].

Подавлением дифференцировки и активации дендритных клеток в очаге можно объяснить снижение абсолютное количество лимфоцитов у мышей группы *S. pyogenes* M49-16, по сравнению с этим показателем у мышей группы *S. pyogenes* M49-16delArgA. Абсолютное количество лимфоцитов в очаге инфекции мутантным штаммом достигало пиковых значений в точке 6 часов после начала эксперимента, а также превышало в 2 раза значения, полученные у мышей, инфицированных исходным штаммом (рис. 2Б). Абсолютное содержание лимфоцитов при инфекции исходным штаммом достоверно не отличалось от контроля. На модели кожной стрептококковой инфекции было показано, что дендритные клетки ограничивают диссеминацию СГА [17, 28]. Дендритные клетки являются основным источником IL-12, продукция которого необходима для развития протективного иммунного ответа на внутриклеточные патогены [28, 29]. Стрептококки традиционно считаются внеклеточно-паразитирующими бактериями, однако в последнее время появляется все больше экспериментальных данных, свидетельствующих о том, что эти бактерии используют специфические молекулярные механизмы, позволяющие избегать элиминации в фаголизосомах, но персистировать и реплицироваться внутриклеточно [52]. Показано, что распознавание СГА дендритными клетками мыши и человека индуцирует их созревание и продукцию цитокинов, связанных с Th1 типом иммунного ответа, в частности  $IFN\gamma$  [5, 6, 7, 29]. Это усиливает бактерицидную активность макрофагов и способность элиминировать внутриклеточно паразитирующие бактерии [28, 29].

Активация макрофагов и дендритных клеток при первичном контакте с патогеном запускает продукцию этими клетками провоспалительных цитокинов, привлекающих в очаг другие клетки-эффекторы врожденного иммунитета [23, 33, 48, 52]. Нейтрофилы являются наиболее многочисленной популяцией лейкоцитов крови и первыми мигрируют из кровеносного русла в ткани. В наших экспериментах не было выявлено отличий в накоплении нейтрофилов у мышей, инфици-

рованных исходным и мутантным штаммом, в очаге на начальной стадии развития инфекции (рис. 2А). Достоверное трехкратное повышение концентрации нейтрофилов происходило у мышей обеих групп через 2 часа после инокуляции. Однако уже через 6 часов после начала эксперимента дальнейший прирост концентрации нейтрофилов в очаге инокуляции у мышей, зараженных мутантным штаммом, был значительно выше такового мышей, инфицированных исходным штаммом. Полученные результаты позволяют предположить, что АД подавляет миграцию нейтрофилов в очаг воспаления — напрямую или опосредованно, возможно, за счет подавления продукции хемоаттрактантных молекул и провоспалительных цитокинов клетками-резидентами. Нейтрофилы участвуют в ограничении диссеминации и элиминации патогена за счет своей фагоцитарной активности и продукции широкого спектра бактерицидных молекул [53]. Нарушение механизмов рекрутирования нейтрофилов в очаг воспаления на ранних стадиях развития инфекции может приводить к дальнейшей дисрегуляции иммунного ответа и снижать эффективность элиминации патогена [8].

Эозинофилы были второй по численности после нейтрофилов популяцией лейкоцитов, составляющей воспалительный инфильтрат при инфекции исходным и мутантным штаммом. Через 6 часов после инокуляции количество этих клеток в очаге у мышей, инфицированных мутантным штаммом, было в 2 раза выше по сравнению с этим показателем у мышей, зараженных исходным штаммом (рис. 2В). Эти результаты доказывают, что АД может прямо или опосредованно снижать эффективность накопления эозинофилов в участке воспаления. Полученные в наших экспериментах результаты и данные других исследователей показывают, что при стрептококковой инфекции эозинофилы могут составлять значительную долю клеток воспалительного инфильтрата [15]. Несмотря на приобретение в ходе эволюции узкой специализации — борьбы с гельминтами, эозинофилы сохранили многие функциональные характеристики, свойственные клеткам нейтрофильного ряда [38, 51]. Так, эозинофилы экспрессируют широкий спектр рецепторов, распознающих бактериальные паттерны [36, 56]. Так же как и нейтрофилы, хотя и с меньшей эффективностью, они способны к фагоцитозу патогенов [43] с последующей элиминацией в фаголизосомах с помощью МВР (от англ. major basic protein и ЕСР (от англ. eosinophil cationic protein), а также и эозинофильной пероксидазы [26, 38]. Эозинофилы способны активно участвовать в элиминации патогенных микроорганизмов за счет секреции цитотоксических гранул, содержащих антимикробные субстанции [38, 49], и выброса внутриклеточной ДНК

(«эозинофильных ловушек») [9, 26, 38, 39]. Поэтому эти клетки могут играть важную роль в элиминации патогенов при бактериальной инфекции. Снижение накопления в очаге этих клеток при инфекции исходным штаммом, экспрессирующим АД может ослаблять защитные иммунные реакции.

После элиминации патогена, макрофаги участвуют в клиренсе очага, осуществляя фагоцитоз апоптотических клеток и элиминацию клеточного дебриса. Это служит важным механизмом ограничения активации клеток иммунной системы. Фагоцитоз макрофагами апоптотических телец в очаге воспаления, индуцирует продукцию этими клетками противовоспалительных цитокинов. Дисрегуляция функциональной активности макрофагов может приводить к нарушению программы разрешения воспаления в очаге инфекции. Нарушением этих процессов и/или непродуктивной воспалительной реакцией можно объяснить повышение концентрации макрофагов в составе воспалительного инфильтрата на

24 часа пост-инфекции у мышей, зараженных исходным штаммом. В отличие от этого, у мышей, зараженных мутантным штаммом через 24 часа происходило достоверное снижение количества всех лейкоцитов в очаге. Повышенные по сравнению с контролем на сроке 24 часа пост-инфекции исходным штаммом абсолютные значения нейтрофилов, эозинофилов, дендритных клеток и макрофагов говорят в пользу этого предположения. У мышей, зараженных мутантным штаммом через 24 часа после инокуляции эти показатели возвращаются к исходным или близким к исходным значениям.

## Заключение

Сравнение формирования воспалительного инфильтрата у мышей, зараженных исходным *S. pyogenes* M49-16 и его изогенным мутантом *S. pyogenes* M49-16delArgA штаммами показал, что активность АД может приводить к дисрегуляции защитных реакций врожденного иммунитета.

## Список литературы / References

1. Фрейдлин И.С., Старикова Э.А., Лебедева А.М. Преодоление защитных функций макрофагов факторами вирулентности *Streptococcus pyogenes* // Бюллетень сибирской медицины, 2019. Т. 18, № 1. С. 109-118. [Freidlin I.S., Starikova E.A., Lebedeva A.M. Overcoming the protective functions of macrophages by *Streptococcus pyogenes* virulence factors. *Byulleten sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*, 2019, Vol. 18, no. 1, pp. 109-118. (In Russ.)]
2. Amiel E., Everts B., Fritz D., Beauchamp S., Ge B., Pearce E.L., Pearce E.J. Mechanistic target of rapamycin inhibition extends cellular lifespan in dendritic cells by preserving mitochondrial function. *J. Immunol.*, 2014, Vol. 193, pp. 2821-2830.
3. Badurdeen S., Mulongo M., Berkley J.A. Arginine depletion increases susceptibility to serious infections in preterm newborns. *Pediatr. Res.*, 2015, Vol. 77, no. 2, pp. 290-297.
4. Barone M.C., Darley-Usmar V.M., Brookes P.S. Reversible inhibition of cytochrome c oxidase by peroxynitrite proceeds through ascorbate-dependent generation of nitric oxide. *J. Biol. Chem.*, 2003, Vol. 278, pp. 27520-27524.
5. Barton G.M., Medzhitov R. Toll-like receptor signaling pathways. *Science*, 2003, Vol. 300, pp. 1524-1525.
6. Beutler B., Hoebe K., Du X., Ulevitch R.J. How we detect microbes and respond to them: the Toll-like receptors and their transducers. *J. Leukoc. Biol.*, 2003, Vol. 74, pp. 479-485.
7. Blander J.M., Medzhitov R. Regulation of phagosome maturation by signals from Toll-like receptors. *Science*, 2004, Vol. 304, pp. 1014-1018.
8. Bogoslawski A., Butcher E.C., Kubes P. Neutrophils recruited through high endothelial venules of the lymph nodes via PNA<sup>d</sup> intercept disseminating *Staphylococcus aureus*. *PNAS*, 2018, Vol. 115, no. 10, pp. 2449-2454.
9. Borelli V., Vita F., Shankar S., Soranzo M.R., Banfi E., Scialino G., Brochetta C., Zabucchi G. Human eosinophil peroxidase induces surface alteration, killing, and lysis of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect. Immun.*, 2003, Vol. 71, pp. 605-613.
10. Brown G.C. Nitric oxide and mitochondrial respiration. *Biochim. Biophys. Acta*, 1999, Vol. 1411, pp. 351-369.
11. Canturk N.Z., Vural B., Canturk Z., Esen N., Vural S., Solakoglu S., Kirkal G. The role of L-arginine and neutrophils on incisional wound healing. *Eur. J. Emerg. Med.*, 2001, Vol. 8, pp. 311-315.
12. Carroll B., Maetzel D., Maddocks O.D., Otten G., Ratcliff M., Smith G.R., Dunlop E.A., Passos J.F., Davies O.R., Jaenisch R., Tee A.R., Sarkar S., Korolchuk V.I. Control of TSC2-Rheb signaling axis by arginine regulates mTORC1 activity. *eLife Sci.*, 2016, Vol. 7, no. 5, e11058. doi: 10.7554/eLife.11058.
13. Casiano-Colon A., Marquis R.E. Role of the arginine deiminase system in protecting oral bacteria and an enzymatic basis for acid tolerance. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1988, Vol. 54, pp. 1318-1324.
14. Chantranupong L., Scaria S.M., Saxton R.A., Gygi M.P., Shen K., Wyant G.A., Wang T., Harper J.W., Gygi S.P., Sabatini D.M. The CASTOR proteins are arginine sensors for the mTORC1 pathway. *Cell*, 2016, Vol. 165, no. 1, pp. 153-164.
15. Chiappini N., Seubert A., Telford J.L., Grandi G., Serruto D., Margarit I., Janulczyk R. *Streptococcus pyogenes* SpyCEP influences host-pathogen interactions during infection in a murine air pouch model. *PLoS ONE*, 2012, Vol. 7, no. 7, e40411. doi: 10.1371/journal.pone.0040411.



16. Clementi E., Brown G.C., Feelisch M., Moncada S. Persistent inhibition of cell respiration by nitric oxide: crucial role of S-nitrosylation of mitochondrial complex I and protective action of glutathione. *PNAS USA*, 1998, Vol. 95, pp. 7631-7636.
17. Cortés G., Wessels M.R. Inhibition of dendritic cell maturation by group A Streptococcus. *J. Infect. Dis.*, 2009, Vol. 200, no. 7, pp. 1152-1161.
18. Cusumano Z.T., Caparon M.G. Citrulline protects *Streptococcus pyogenes* from acid stress using the arginine deiminase pathway and the F1Fo-ATPase. *J. Bacteriol.*, 2015, Vol. 197, pp. 1288-1296.
19. Dunn J.L.M., Kartchner L.B., Gast K., Sessions M., Hunter R.A., Thurlow L., Richardson A., Schoenfisch M., Cairns B.A., Maile R. Mammalian target of rapamycin regulates a hyper-responsive state in pulmonary neutrophils late after burn injury. *J. Leukoc. Biol.*, 2018, Vol. 103, no. 5, pp. 909-918.
20. Everts B., Amiel E., van der Windt G.J., Freitas T.C., Chott R., Yarasheski K.E., Pearce E.L., Pearce E.J. Commitment to glycolysis sustains survival of NO-producing inflammatory dendritic cells. *Blood*, 2012, Vol. 120, pp. 1422-1431.
21. Everts B., Amiel E., Huang S.C., Smith A.M., Chang C.H., Lam W.Y., Redmann V., Freitas T.C., Blagih J., van der Windt G.J., Artyomov M.N., Jones R.G., Pearce E.L., Pearce E.J. TLR-driven early glycolytic reprogramming via the kinases TBK1-IKKε supports the anabolic demands of dendritic cell activation. *Nat. Immunol.*, 2014, Vol. 15, pp. 323-332.
22. Goldmann O., Rohde M., Chhatwal G.S., Medina E. Role of macrophages in host resistance to group A streptococci. *Infect. Immun.*, 2004, Vol. 72, no. 5, pp. 2956-2963.
23. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Immunity*, 2003, Vol. 3, pp. 23-35.
24. Hibbs J.B. Jr., Taintor R.R., Vavrin Z., Rachlin E.M. Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1988, Vol. 157, pp. 87-94.
25. Kobayashi Y. The regulatory role of nitric oxide in proinflammatory cytokine expression during the induction and resolution of inflammation. *J. Leukoc. Biol.*, 2010, Vol. 88, pp. 1157-1162.
26. Linch S.N., Kelly A.M., Danielson E.T., Pero R., Lee J.J., Gold J.A. Mouse eosinophils possess potent antibacterial properties *in vivo*. *Infect. Immun.*, 2009, Vol. 77, no. 11, pp. 4976-4982.
27. Linke M., Fritsch S.D., Sukhbaatar N., Hengstschlager M., Weichhart T. mTORC1 and mTORC2 as regulators of cell metabolism in immunity. *FEBS Lett.*, 2017, Vol. 591, no. 19, pp. 3089-3103.
28. Loof T.G., Rohde M., Chhatwal G.S., Jung S., Medina E. The contribution of dendritic cells to host defenses against *Streptococcus pyogenes*. *J. Infect. Dis.*, 2007, Vol. 196, no. 12, pp. 1794-1803.
29. Loof T.G., Goldmann O., Medina E. Immune recognition of *Streptococcus pyogenes* by dendritic cells. *Infect. Immun.*, 2008, Vol. 76, no. 6, pp. 2785-2792.
30. Maneerat K., Yongkiettrakul S., Jiemsup S., Tongtawe P., Gottschalk M., Srimanote P. Expression and characterization of serotype 2 *Streptococcus suis* arginine deiminase. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, 2017, Vol. 27, no. 3, p. 133-146.
31. Medina E., Goldmann O., Rohde M., Lengeling A., Chhatwal G.S. Genetic control of susceptibility to group A streptococcal infection in mice. *J. Infect. Dis.*, 2001, Vol. 184, no. 7, pp. 846-852.
32. Morris C.R. Arginine therapy shows promise for treatment of sickle cell disease clinical subphenotypes of hemolysis and arginine deficiency. *Anesth. Anal.*, 2017, Vol. 124, no. 4, pp. 1369-1370.
33. Mosser D.M. The many faces of macrophage activation. *J. Leukoc. Biol.*, 2003, Vol. 73, pp. 209-212.
34. Mulligan M.S., Lentsch A.B., Ward P.A. *In vivo* recruitment of neutrophils: consistent requirements for L-arginine and variable requirements for complement and adhesion molecules. *Inflammation*, 1998, Vol. 22, no. 3, pp. 327-339.
35. Munder M. Arginase: an emerging key player in the mammalian immune system. *Br. J. Pharmacol.*, 2009, Vol. 158, no. 3, pp. 638-651.
36. Nagase H., Okugawa S., Ota Y., Yamaguchi M., Tomizawa H., Matsushima K., Ohta K., Yamamoto K., Hirai K. Expression and function of Toll-like receptors in eosinophils: activation by Toll-like receptor 7 ligand. *J. Immunol.*, 2003, Vol. 171, pp. 3977-3982.
37. Popovic P.J., Zeh H.J. 3<sup>rd</sup>, Ochoa J.B. Arginine and immunity. *J. Nutr.*, 2007, Vol. 137, no. 6, pp. 1681S-1686S.
38. Ramirez G.A., Yacoub M.-R., Ripa M., Mannina D., Cariddi A., Saporiti N., Ciceri F., Castagna A., Colombo G., Dagna L. Eosinophils from physiology to disease: a comprehensive review. *BioMed Res. Int.*, 2018, Vol. 2018, pp. 1-28.
39. Ravin K.A., Loy M. The eosinophil in infection. *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, 2016, Vol. 50, no. 2, pp. 214-227.
40. Reis e Sousa C. Dendritic cells as sensors of infection. *Immunity*, 2001, Vol. 14, no. 5, pp. 495-498.
41. Rodriguez P.C., Ochoa A.C., Al-Khamsi A.A. Arginine metabolism in myeloid cells shapes innate and adaptive immunity. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, no. 93, pp. 1-12.
42. Serbina N.V., Pamer E.G. Monocyte emigration from bone marrow during bacterial infection requires signals mediated by chemokine receptor CCR2. *Nat. Immunol.*, 2006, Vol. 7, pp. 311-317.
43. Shamri R., Xenakis J.J., Spencer L.A. Eosinophils in innate immunity: an evolving story. *Cell Tissue Res.*, 2011, Vol. 343, no. 1, pp. 57-83.
44. Somasundaram V., Gilmore A.C., Basudhar D., Palmieri E.M., Scheiblin D.A., Heinz W.F., Cheng R.Y.S., Ridnour L.A., Altan-Bonnet G., Lockett S.J., McVicar D.W., Wink D.A. Inducible nitric oxide synthase-derived extracellular nitric oxide flux regulates proinflammatory responses at the single cell level. *Redox Biol.*, 2020, Vol. 28, pp. 1-14.

45. Soufli I., Toumi R., Rafa H., Touil-Boukoffa C. Overview of cytokines and nitric oxide involvement in immuno-pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *World J. Gastrointest. Pharmacol. Ther.*, 2016, Vol. 7, no. 3, pp. 353-360.
46. Starikova E.A., Sokolov A.V., Vlasenko A.Y., Burova L.A., Freidlin I.S., Vasilyev V.B. Biochemical and biological activity of arginine deiminase from *Streptococcus pyogenes* M22. *Biochem. Cell Biol.* 2016, Vol. 94, no. 2, pp. 129-137.
47. Starikova E.A., Golovin A.S., Vasilyev K.A., Karaseva A.B., Serebriakova M.K., Sokolov A.V., Kudryavtsev I.V., Burova L.A., Voynova I.V., Suvorov A.N., Vasilyev V.B., Freidlin I.S. Role of arginine deiminase in thymic atrophy during experimental *Streptococcus pyogenes* infection. *Scand. J. Immunol.*, 2019, Vol. 89, no. 2, e12734. doi: 10.1111/sji.12734.
48. Strauss-Ayali D., Conrad S.M., Mosser D.M. Monocyte subpopulations and their differentiation patterns during infection. *J. Leukoc. Biol.*, 2007, Vol. 82, pp. 244-252.
49. Svensson L., Wenneras C. Human eosinophils selectively recognize and become activated by bacteria belonging to different taxonomic groups. *Microbes Infect.*, 2005, Vol. 7, no. 4, pp. 720-728.
50. Thwe P., Amiel E. The role of nitric oxide in metabolic regulation of dendritic cell immune function. *Cancer Lett.*, 2018, Vol. 412, pp. 236-242.
51. Uzzaman A., Cho S.H. Classification of hypersensitivity reactions. *Allergy Asthma Proc.*, 2012, Vol. 33, no. 1, pp. S96-S99.
52. Valderrama J.A., Nizet V. Group A *Streptococcus* encounters with host macrophages. *Future Microbiol.*, 2018, Vol. 13, no. 1, pp. 119-134.
53. Voyich J.M., Musser J.M., DeLeo F.R. *Streptococcus pyogenes* and human neutrophils: a paradigm for evasion of innate host defense by bacterial pathogens. *Microbes Infect.*, 2004, Vol. 6, no. 12, pp. 1117-1123.
54. Weichhart T., Hengstschlager M., Linke M. Regulation of innate immune cell function by mTOR. *Nat. Rev. Immunology*, 2015, Vol. 15, pp. 599-614.
55. Wink D.A., Kasprzak K.S., Maragos C.M., Elespuru R.K., Misra M., Dunams T.M., Cebula T.A., Koch W.H., Andrews A.W., Allen J.S. DNA deaminating ability and genotoxicity of nitric oxide and its progenitors. *Science*, 1991, Vol. 254, pp. 1001-1003.
56. Wong C.K., Cheung P.F., Ip W.K., Lam C.W. Intracellular signaling mechanisms regulating toll-like receptor-mediated activation of eosinophils. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2007, Vol. 37, pp. 85-96.

---

**Авторы:**

**Старикова Э.А.** — к.б.н., старший научный сотрудник отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

**Кудрявцев И.В.** — к.б.н., заведующий лабораторией иммунорегуляции, отдел иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

**Бурова Л.А.** — д.м.н., ведущий научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

**Лебедева А.М.** — к.б.н., научный сотрудник отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

**Маммедова Дж.Т.** — научный сотрудник отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

**Фрейдлин И.С.** — д.м.н., член.-корр. РАН, главный научный сотрудник отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

---

**Authors:**

**Starikova E.A.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

**Kudryavtsev I.V.**, PhD (Biology), Head, Laboratory of Immunoregulation, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

**Burova L.A.**, PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Department of Molecular Microbiology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

**Lebedeva A.M.**, PhD (Biology), Research Associate, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

**Mammedova J.T.**, Research Associate, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

**Freidlin I.S.**, PhD, MD (Medicine), Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Main Research Associate, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

---

Поступила 14.06.2020  
Принята к печати 23.06.2020

---

Received 14.06.2020  
Accepted 23.06.2020