

На правах рукописи

А. Колерова

КОЛЕРОВА АНАСТАСИЯ ВИКТОРОВНА

**РОЛЬ IL-7 В РЕГУЛЯЦИИ CD4⁺КЛЕТОК ПАМЯТИ ПРИ
ВУЛЬГАРНОМ ПСОРИАЗЕ**

14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология

14.01.10 – Кожные и венерические болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ)

Научные руководители:

Академик РАН,

доктор медицинских наук, профессор
Александрович

Козлов Владимир

Доктор медицинских наук
Геннадьевна

Сергеева Ирина

Официальные оппоненты:

Хайрутдинов Владислав Ринатович – доктор медицинских наук, доцент кафедры кожных и венерических болезней Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова»

Трунов Александр Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» СО РАН.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» обособленное подразделение «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МЕДИЦИНСКИХ ПРОБЛЕМ СЕВЕРА»

Защита состоится « » _____ 2022 года в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 001.001.01 по адресу: 630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, д.14.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НИИФКИ и на сайте <http://niikim.ru/ru/диссовет/объявления-диссовета>

Автореферат разослан _____ 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
Кандидат биологических наук **Облеухова Ирина Александровна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Одна из главных функций иммунной системы - формирование иммунологической памяти для защиты от инфекционных агентов, что обеспечивается за счет циркулирующих, долгоживущих Т-клеток памяти, которые представлены гетерогенной популяцией. В зависимости от фенотипа Т-клетки памяти делят на центральные ($CD45RO^+CCR7^+CD62L^+$, Tcm), способные рециркулировать в лимфоидных органах, секретировать IL-2; эффекторные ($CD45RO^+CCR7^-CD62L^-$, Tem), которые экспрессируют хемокины для миграции в органы и ткани, продуцируют эффекторные цитокины, перфорины и гранзимы; терминально дифференцированные клетки памяти ($CD45RA^+CCR7^-CD62L^-$) и редкую субпопуляцию стволовых клеток памяти ($CD45RA^+CCR7^+CD27^+$), являющуюся переходной между наивными Т-клетками и субпопуляциями клеток памяти (Restifo et al, 2013).

Выживание, поддержание, гомеостатическая пролиферация Т-клеток обеспечивается IL-7, причем в большей степени от него зависят наивные $CD4^+$ -лимфоциты, $CD4^+$ центральные (Tcm) и эффекторные (Tem) клетки памяти (Caserta et al, 2007). Поддерживающий эффект IL-7 опосредуется связыванием с высоко аффинной α -цепью рецептора IL-7 (IL-7R α , CD127) и запуском сигнального пути через активацию тирозинкиназ Jak1 и Jak3, связанных с α -цепью и общей γ -цепью (CD132). В результате происходит активация и димеризация транскрипционного фактора STAT5, который мигрирует в ядро и регулирует транскрипцию генов (Mazzucchelli et al, 2007). Несмотря на эквивалентную экспрессию цитокинового рецептора на $CD4^+$ Tcm и Tem, в ответ на стимуляцию IL-2 и IL-7 *in vitro* в центральных клетках памяти был обнаружен более высокий уровень фосфорилированного STAT5, что может говорить в пользу большей отзывчивости на IL-7 и значимой роли данного цитокина в обеспечении высокой продолжительности жизни указанной клеточной популяции (Paukku et al, 2004).

В последнее время исследователи отмечают важную роль гомеостатического фактора IL-7 в патогенезе аутоиммунных заболеваний. Прямое действие IL-7 на Т-лимфоциты способствует продукции преимущественно цитокинов Th1- и Th17-типа (Leung et al, 2010). Он опосредует Т-зависимую активацию макрофагов, дендритных клеток и В-клеток, что сопровождается увеличением экспрессии дифференцировочных факторов, хемокинов, адгезивных и костимуляторных молекул, катаболических ферментов (Bikker et al, 2012). Кроме того, высказывается предположение, что IL-7 может обеспечивать высокую продолжительность жизни аутореактивных клонов Т-клеток и приводить к хронизации аутоиммунного воспаления.

Впервые об иммунологической памяти при вульгарном псориазе заговорили после того, как трансплантация клинически здоровой кожи от пациентов с вульгарным псориазом мышам с иммунодефицитом привела к развитию клинических и гистологических признаков заболевания у реципиентов (Boyman et al, 2004). Было выявлено, что клинически здоровая кожа при псориазе характеризуется наличием персистирующего воспаления: гены, ассоциированные с функцией Т-лимфоцитов (LCK, TRCb1), и гены провоспалительных цитокинов (IL-17, IL-22, IFN- γ) остаются активными в течение более чем 3 месяцев после начала терапии ингибиторами TNF- α . Установлено, что локальный воспалительный процесс в коже поддерживается деятельностью резидентных клеток памяти (Trm) (Suárez-Fariñas et al, 2010). Trm способны инициировать каскад воспалительных реакций, что приводит к развитию высыпаний в одних и тех же локализациях. Gaide и соавт. установили, что резидентные клетки памяти имеют общее происхождение с центральными клетками памяти (Tcm), что указывает на возможность репопуляции пула резидентных клеток памяти кожи за счет центральных Т-клеток памяти (Gaide et al, 2015)

Установлено, что у пациентов с аутоиммунной патологией наблюдается накопление клеток памяти. Dianì и соавт. выявили прямую корреляционную связь между количеством CD4⁺CCR6⁺ эффекторных клеток памяти (CCR6 - маркер хоминга кожи) в периферической крови при псориазе и тяжестью течения заболевания, а также с уровнем С-реактивного белка; обратную взаимосвязь количества CD4⁺CXCR3⁺ эффекторных клеток памяти, количества CD4⁺CLA⁺ центральных клеток памяти со значением индекса PASI (Dianì et al, 2016). Помимо этого была выявлена прямая корреляционная связь между количеством CD4⁺CCR4⁺ центральных клеток памяти со значением PASI и негативная - между количеством CCR5⁺ центральных клеток памяти и PASI (Bose et al, 2013). Эти данные указывают на участие CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти в развитии заболевания и его рецидивов, что обуславливает необходимость исследования механизмов регуляции данной популяции и ее влияния на течение вульгарного псориаза.

Цель исследования - оценить влияние блокады альфа-цепи рецептора IL-7 на пролиферацию, фенотип и внутриклеточное содержание цитокинов в CD4⁺ центральных и эффекторных клетках памяти *in vitro* в норме и при вульгарном псориазе.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Охарактеризовать содержание и фенотип CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти периферической крови пациентов с вульгарным псориазом и

- условно-здоровых доноров.
2. Оценить количество $\text{IFN-}\gamma^+$, IL-4^+ , IL-17^+ CD4^+ центральных и эффекторных клеток памяти у условно-здоровых доноров и у пациентов с вульгарным псориазом.
 3. Установить влияние IL-7 на пролиферацию, фенотип и внутриклеточное содержание $\text{IFN-}\gamma$, IL-4 , IL-17 в сортированных CD4^+ центральных и эффекторных клетках памяти— условно-здоровых доноров и пациентов с вульгарным псориазом.
 4. Оценить влияние блокады моноклональными антителами α -цепи рецептора IL-7 на пролиферацию, фенотип и содержание $\text{IFN-}\gamma^+$, IL-4^+ , IL-17^+ CD4^+ центральных и эффекторных клетках памяти условно-здоровых доноров и пациентов с вульгарным псориазом.
 5. Сопоставить особенности фенотипа, пролиферации и внутриклеточного содержания $\text{IFN-}\gamma$, IL-4 , IL-17 в CD4^+ центральных и эффекторных клетках памяти с клиническими характеристиками пациентов с вульгарным псориазом (индекс PASI)

Научная новизна

Впервые получены данные о сравнении механизмов поддержания центральных и эффекторных CD4^+ клеток памяти в норме и при вульгарном псориазе *in vitro*, а также продемонстрирована возможность модуляции ответа субпопуляций клеток памяти на IL-7 с помощью блокады $\text{IL-7R}\alpha$ моноклональными антителами. Впервые описаны особенности экспрессии рецептора IL-7 на CD4^+ клетках памяти при псориазе, а также особенности продукции Th1 , Th2 и Th17 цитокинов популяциями центральных и эффекторных клеток памяти. Впервые проведено исследование по изучению блокады α -цепи рецептора IL-7 на пролиферацию, фенотип и внутриклеточное содержание Th1 , Th2 и Th17 цитокинов при псориазе.

Теоретическая и практическая значимость

Мы охарактеризовали взаимосвязь между содержанием CD4^+ центральных клеток памяти, ко-экспрессирующих α - и γ -цепь рецептора IL-7 , в периферической крови и тяжестью течения вульгарного псориаза (значением PASI), а также между содержанием $\text{CD4}^+\text{IL-17}^+$ центральных и эффекторных клеток памяти в периферической крови, и течением заболевания. Полученные результаты в перспективе могут позволить использовать указанные параметры как дополнительные критерии в оценке активности вульгарного псориаза и учитывать содержание клеток данной популяции в качестве маркера тяжелого течения заболевания.

Полученные данные об особенностях экспрессии $\text{IL-7R}\alpha$ CD4^+ клетками памяти при вульгарном псориазе расширяют современное понимание о

патогенезе заболевания и механизмах развития его рецидивов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. IL-7 усиливает пролиферацию CD4⁺ клеток памяти и повышает внутриклеточное содержание IFN γ и IL-17, уменьшает внутриклеточное содержание IL-4 при вульгарном псориазе *in vitro*.
2. Блокада рецептора IL-7 снижает пролиферацию CD4⁺ клеток памяти, снижает внутриклеточное содержание IL-17 и IFN γ , повышает – IL-4 при вульгарном псориазе *in vitro*.

Степень достоверности, апробация результатов и личное участие автора

Достоверность полученных результатов подтверждается логично выстроенным алгоритмом работы, достаточной выборкой исследования, использованием современных иммунологических методов и адекватных методов статистической обработки. Автор участвовал в разработке дизайна исследования, критериев включения и исключения, формировании и заполнении регистрационных карт, анализе медицинской документации. Материалы исследования были доложены и обсуждены на 14 Международном форуме дерматовенерологов и косметологов (г. Москва, 2021), работе присуждено первое место в конкурсе молодых ученых в номинации «Лучшее фундаментальное исследование». Также материалы исследования были доложены и обсуждены на конгрессе Европейской академии аллергологии и иммунологии (онлайн, 2020) на 17 Международном конгрессе по иммунологии (г. Пекин, Китай, 2019).

Публикации

По материалам исследования опубликовано 6 научных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых периодических изданиях, определяемых в соответствии с рекомендацией ВАК.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 136 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследования», результатов собственных исследований, отраженных в шести главах, заключения, выводов и списка литературы. Диссертация иллюстрирована 26 рисунками и 10 таблицами. Список литературы содержит 224 источника.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект и предмет исследования

Объектами исследования являлись $CD4^+$ клетки памяти, полученные из фракции моноклеарных клеток (МНК) периферической крови 21 больного вульгарным псориазом (11 мужчин и 10 женщин, средний возраст $36 \pm 5,7$ лет, среднее значение PASI – $21,1 \pm 5,48$) и 29 условно-здоровых доноров (12 мужчин и 17 женщин, средний возраст $42 \pm 4,4$ года). Диагноз устанавливали на основании анамнеза, данных осмотра и гистологического исследования. Все пациенты на момент исследования находились на амбулаторном лечении в медицинском центре “Аллергосити плюс” (г. Новосибирск). Тяжесть заболевания оценивали в соответствии с методикой расчета индекса PASI (Psoriasis Area Severity Index), которая включает оценку выраженности эритемы, инфильтрации, шелушения и распространенности высыпаний.

Демографическая и клиническая характеристика включенных пациентов и здоровых доноров представлены в таблице 1.

Кровь для исследования забиралась у пациентов в стадии обострения заболевания. Критериями исключения из исследования были: наличие онкологических, гематологических и других аутоиммунных заболеваний в анамнезе, прием системных иммуносупрессивных препаратов в течение 3 месяцев до включения в исследование. Набор участников осуществлялся после подписания добровольного информированного согласия.

В качестве предмета исследования изучались экспрессия рецептора IL-7, внутриклеточное содержание цитокинов $CD4^+$ центральными и эффекторными клетками памяти периферической крови пациентов с псориазом в сравнении с условно-здоровыми донорами.

Таблица 1. Характеристика пациентов с вульгарным псориазом и условно-здоровых доноров, включенных в исследование

		Пациенты	Условно-здоровые доноры
Пол	Женщины, n (%)	10 (47,6)	17 (58,6)
Возраст	Медиана (ИКР)	36 (30,8;42,2)	42 (37,6;46,4)
PASI < 10	N (%)	10 (47,6)	-
PASI > 10	N (%)	11 (52,4)	-

Выделение моноклеарных клеток из периферической крови

Забор венозной крови у доноров и пациентов с вульгарным псориазом производился из кубитальной вены в стерильных условиях в вакуумные пробирки с гепарином. Выделение МНК осуществляли методом центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографина. Прилипающую фракцию (моноциты) получали путем культивирования выделенных МНК в чашке Петри в течение 1 часа во влажной атмосфере с 5 % CO₂ при 37°C. Неприлипающую фракцию клеток аккуратно собирали и использовали для последующей иммуномагнитной сепарации на CD4⁺ центральные и эффекторные клетки памяти. Прилипающую фракцию культивировали в отсутствии и присутствии LPS 055:b5 в течение 18-20 часов. Далее клетки прилипающей фракции собирали, центрифугировали, затем удаляли супернатант. После чего клетки сокультивировали с сортированными CD4⁺ центральными или эффекторными клетками памяти в присутствии или отсутствии IL-7 в течение 6 дней во влажной атмосфере с 5 % CO₂ при 37°C.

Иммуномагнитная сепарация CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти

Популяции CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти получали из неприлипающей фракции МНК методом иммуномагнитной сепарации. CD4⁺45RO⁺CCR7⁻ эффекторные клетки памяти получали с помощью негативной магнитной сортировки, CD4⁺45RO⁺CCR7⁺ центральные клетки памяти получали в 2 этапа: сначала проводили негативную сортировку CD4⁺45RO⁺ клеток, потом из данной популяции - позитивную сортировку CCR7⁺ клеток. Для сортировки использовалось в среднем 5-7×10⁷ МНК. Чистота сортировки для CD4⁺ центральных клеток памяти в среднем составила 92%, чистота сортировки для CD4⁺ эффекторных клеток памяти – 78%.

Перед сокультивированием с прилипающей фракцией отсортированные клетки окрашивали витальным красителем CFSE (4мкМ, Molecular probe, США) для последующей оценки пролиферативного ответа клеток памяти на IL-7.

Цитофлуориметрический анализ

Фенотипирование CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти проводилось методом многоцветной проточной цитометрии. Клетки периферической крови и клетки после культивирования окрашивали конъюгированными с флуорохромами человеческими моноклональными антителами к поверхностным маркерам центральных и эффекторных CD4⁺ клеток памяти, α-цепи рецептора для IL-7, общей γ-цепи в количестве рекомендуемом производителем 15 минут при комнатной температуре в темноте. Использовались следующие панели: 1. CD4-PE (ООО «Сорбент»), CD45RO-PE/Cy7, CD197(CCR7)-APC/Cy7, CD127-PerCP/Cy5.5, CD132-APC

(BioLegend, США), 2. CD4⁻, CD45RO-APC, CD197(CCR7)-APC/Cy7, CD5-PE/Cy7 (BioLegend, США). Окрашивание проводили комбинацией антител согласно протоколу, рекомендованному производителем. Фенотипирование клеточных популяций и исследование пролиферативной активности проводили на клеточном анализаторе FACS Canto II (BD, США) с использованием программного обеспечения FACS Diva 6.1. Анализ пролиферативной активности на IL-7 заключался в определении относительного числа пролиферирующих клеток, окрашенных CFSE, по уровню их флуоресценции, и не включал в себя пик неделящихся клеток.

Определение содержания CD4⁺ клеток памяти, содержащих IL-4, IL-17 и IFN γ

Для определения содержания цитокинов внутри клеток мы выбрали время культивирования клеток и внесения активаторов продукции цитокинов, блокатора транспорта из эндоплазматического ретикулума. Оказалось, что без активаторов цитокиновой продукции в культурах со стимуляцией IL-7, как и без нее, практически отсутствует продукция IL-4 и IFN γ . Поэтому в дальнейшем мы добавляли активаторы для продукции цитокинов во все варианты культур. Протокол по определению содержания цитокинов внутриклеточно состоял из 4 дней, и на первых этапах был аналогичен описанной ранее методике культивирования. На 3-й день к культурам добавляли форбол-12-мирикат-13-ацетат (PMA) и Ionomycin для активации продукции цитокинов. Через 2 часа к культурам добавляли блокатор внутриклеточного транспорта Brefeldin A и инкубировали 20 часов для накопления цитокинов. На 4-й день клетки снимали, отмывали PBS+EDTA, метили моноклональными антителами к поверхностным антигенам CD4, CD45RO, CCR7. После клетки фиксировали и пермеабелизировали, используя набор Fixation/Permeabilization Solution Kit и метили моноклональными антителами к IL-4, IFN- γ и IL-17.

Методы статистической обработки

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0». Поскольку согласно критерию Шапиро-Уилка, не всегда соответствовало нормальному распределению, применялись методы непараметрической статистики. Для сравнения связанных переменных использовали парный критерий Вилкоксона, а для оценки несвязанных переменных – критерий Манна-Уитни. Для оценки коэффициента корреляции использовали метод Спирмана. Выявленные отличия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Фенотип CD4⁺ клеток памяти и внутриклеточное содержание в них цитокинов в норме и при вульгарном псориазе

У пациентов с псориазом наблюдалось накопление CD4⁺ центральных клеток памяти в периферической крови относительно здоровых доноров, при этом количество эффекторных клеток памяти было снижено ([Таблица 1](#)). Мы исследовали экспрессию α - (CD127) и γ -субъединиц (CD132) рецептора IL-7 на поверхности CD4⁺ клеток памяти в норме и при вульгарном псориазе. В периферической крови пациентов с псориазом мы выявили достоверно меньшее число Т-клеток с экспрессией общей γ -цепи, а также CD127⁺CD132⁺ клеток как среди центральных, так и среди эффекторных CD4⁺ клеток памяти, при этом доля CD127⁺CD132⁻ эффекторных CD4⁺ клеток памяти у пациентов была повышена. Количество CD127⁺CD132⁻ Tcm и Tem при псориазе не отличалось от группы контроля.

Таким образом, у пациентов с вульгарным псориазом в периферической крови при большем относительном количестве Tcm по сравнению с донорами понижено содержание CD4⁺ Т-клеток памяти, экспрессирующих γ -цепь и одновременно α - и γ -цепь, при этом отсутствуют отличия в содержании клеток с экспрессией только α -цепи рецептора. Это отражает особенности экспрессии рецептора IL-7 при вульгарном псориазе.

Таблица 2. Фенотип CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти периферической крови условно-здоровых доноров и пациентов с псориазом

	Контроль	Псориаз
Tcm, %	33,4±10,14	40,8±11,07
CD127 ⁺ 132 ⁻ , %	29,40±14,96	26,90±17,08
CD127 ⁺ 132 ⁺ , %	10,55±1,49	1,68±1,94*
CD127 ⁻ 132 ⁻ , %	50,31±9,63	69,46±18,01
CD127 ⁻ 132 ⁺ , %	9,73±6,78	1,94±2,26*
Tem, %	28,70±9,51	23,83±10,10
CD127 ⁺ 132 ⁻ , %	27,45±12,05	28,57±16,67
CD127 ⁺ 132 ⁺ , %	12,26±5,83	1,17±2,05*

CD127 ⁻ 132 ⁻ , %	48,87±10,07	69,84±26,61*
CD127 ⁺ 132 ⁺ , %	11,14±4,86	0,70±1,00*

Примечание: данные представлены в виде медианы с интерквартильным размахом (25-75%). *-достоверные отличия по сравнению с условно-здоровыми донорами, $p < 0.05$.

Центральные и эффекторные клетки памяти при псориазе характеризовались достоверно меньшей продукцией IFN γ по сравнению с контролем (Таблица 3). Значимых отличий в содержании IL-4 и IL-17 в CD4⁺ клетках памяти пациентов с псориазом и условно-здоровых доноров выявлено не было.

Таблица 3. Содержание IL-4⁺, IFN- γ ⁺ и IL-17⁺ CD4⁺ центральных и эффекторных клеткок памяти в культурах клеток условно-здоровых доноров и пациентов с псориазом

	Контроль	Псориаз
Tcm, %		
IL-4 ⁺ , %	2,50 (1,30-4,10)	2,25 (1,20-5,30)
IFN ⁺ , %	17,70 (4,90-21,80)	0,80 (0,15-8,20)*
IL-17 ⁺ , %	5,20 (1,00-7,60)	5,10 (2,55-32,75)
Tem, %		
IL4 ⁺ , %	1,60 (0,30-4,50)	1,70 (0,70-2,30)
IFN ⁺ , %	17,90 (15,40-28,20)	3,20 (1,63-11,73)*
IL-17 ⁺ , %	1,40 (1,40-2,90)	2,35 (1,13-3,40)

Примечание: данные представлены в виде медианы с интерквартильным размахом (25-75%). *-достоверные отличия по сравнению с условно-здоровыми донорами, $p < 0.05$.

Была обнаружена прямая корреляционная связь между содержанием CD4⁺ центральных клеток памяти, экспрессирующих одновременно α- и γ-цепи рецептора IL-7 (CD127⁺CD132⁺) и значением PASI (коэффициент корреляции Спирмана R=0,57, p<0,05)

Также выявлена взаимосвязь между количеством Tcm, продуцирующих IL-17, и тяжестью течения заболевания (R=0,64, p<0,05). Аналогичные данные были получены по поводу взаимосвязи числа IL-17⁺CD4⁺ эффекторных клеток памяти в периферической крови и тяжестью заболевания (R=0,67, p=0,006).

Установлено, что пациенты с тяжелой формой вульгарного псориаза (PASI>10) характеризуются достоверно большим количеством CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти, содержащих IL-17, по сравнению с пациентами из группы с легким течением заболевания (PASI<10) (Таблица 4). Также для группы пациентов с PASI>10 характерно большее количество CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти в периферической крови по сравнению с пациентами с легкой формой вульгарного псориаза. Значимых отличий в экспрессии CD127 и CD132, а также в продукции IL-4 и IFNγ между пациентами с PASI более 10 и менее 10 обнаружено не было.

Исходя из результатов корреляционного анализа можно сделать вывод о том, что CD4⁺ Tcm, экспрессирующие обе цепи рецептора IL-7, а также Tcm и Tem, содержащие IL-17, характерны для пациентов с высоким значением индекса PASI и могут быть использованы в качестве маркера тяжелого течения вульгарного псориаза.

Таблица 4. Сравнение продукции IL-4, IFNγ, IL-17 и экспрессии CD127 и CD132 CD4⁺ центральными и эффекторными клетками памяти пациентов с PASI>10 и с PASI<10.

		PASI>10	PASI<10
IL-4 ⁺	Tcm	1,40 (0,60-2,58)	1,70 (0,75-7,55)
	Tem	2,30 (0,70-3,40)	1,70 (0,00-30,45)
IFNγ ⁺	Tcm	0,72 (0,00-5,40)	0,10 (0,00-50,00)
	Tem	2,90 (1,80-11,10)	3,50 (0,70-25,15)
IL-17 ⁺	Tcm	4,40 (3,70-6,30)	0,50 (0,20-0,95)*
	Tem	2,40 (1,18-5,75)	1,00 (0,60-1,55)*
Tcm, %		43,20 (31,50-50,60)	21,30 (15,70-23,10)*
Tem, %		24,20 (11,90-36,50)	13,10 (11,00-17,25)*

CD127 ⁺ CD132 ⁻	Tcm	27,50 (13,60-45,40)	26,60 (14,10-45,55)
	Tem	23,50 (21,50-33,30)	32,40 (24,35-45,65)
CD127 ⁺ CD132 ⁺	Tcm	0,40 (0,00-3,40)	0,40 (0,30-0,68)
	Tem	0,00 (0,00-1,00)	0,50 (0,25-1,00)
CD127 ⁻ CD132 ⁻	Tcm	72,40 (47,80-84,80)	72,80 (53,35-83,35)
	Tem	75,65 (71,12-79,48)	66,20 (52,45-86,00)
CD127 ⁻ CD132 ⁺	Tcm	0,10 (0,00-3,80)	0,60 (0,35-0,70)
	Tem	0,30 (0,00-1,10)	0,85 (0,25-0,98)

Примечание: * - достоверные отличия, $p < 0,05$. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха.

Фенотип и пролиферация CD4⁺ клеток памяти в смешанных культурах условно-здоровых доноров и пациентов с вульгарным псориазом

У пациентов с псориазом культуры клеток без стимуляции IL-7 спустя 6 дней культивирования с МНК характеризовались достоверно меньшим относительным количеством CD4⁺ центральных клеток памяти по сравнению с условно-здоровыми донорами. Также наблюдалось большее количество CD127⁺CD132⁺ Tcm у здоровых доноров по сравнению с пациентами.

Не было обнаружено отличий в общем количестве CD4⁺ эффекторных клеток памяти в исследуемых группах. При этом у пациентов с псориазом отмечалось меньшее содержание CD127⁺ и CD127⁺CD132⁺ Tem по сравнению с условно-здоровыми донорами.

Таким образом, спустя 6 дней нахождения в клеточных культурах у пациентов снижается количество Tcm, а также экспрессия рецептора IL-7 на Tcm и Tem по сравнению с группой доноров.

Влияние IL-7 на фенотип и пролиферацию CD4⁺ клеток памяти при псориазе и у условно-здоровых доноров *in vitro*

В группе доноров действие IL-7 приводило к повышению пролиферации CD4⁺ центральных клеток памяти по сравнению с клетками без стимуляции. Относительное количество Tcm не менялось в ответ на действие IL-7. CD4⁺ центральные клетки памяти характеризовались снижением экспрессии CD127 в результате действия IL-7, при этом повышалась экспрессия CD132. Количество CD127⁺CD132⁺ центральных клеток памяти не менялось.

Пролиферация CD4⁺ центральных клеток памяти также достоверно повышалась в ответ на действие IL-7 при вульгарном псориазе. Относительное

количество Тсм имело тенденцию к снижению в условиях действия IL-7 ($p=0,24$). При этом уменьшалось количество клеток, экспрессирующих α -цепь рецептора IL-7 (CD127), а также повышалось количество CD132⁺ центральных клеток памяти по сравнению с культурами клеток без стимуляции. Относительное количество CD127⁺CD132⁺ Тсм не менялось в ответ на действие IL-7.

В группе доноров пролиферация Тем повышалась под влиянием IL-7. Относительное количество Тем не менялось в ответ на действие IL-7, а количество CD127⁺CD132⁻ и CD127⁺CD132⁺ при этом снижалось. Как и в популяции CD4⁺ центральных клеток памяти, среди Тем увеличивалось содержание CD132⁺ лимфоцитов.

При вульгарном псориазе снижалось количество CD4⁺ эффекторных клеток памяти, экспрессирующих CD127 по сравнению с клетками без стимуляции IL-7. Количество Тем, экспрессирующих общую γ -цепь, напротив, повышалось. Пролиферация Тем достоверно повышалась в условиях действия IL-7 по сравнению с контролем. В группе пациентов с PASI менее 10 наблюдалось достоверное повышение количества CD127⁺CD132⁺CD4⁺ эффекторных клеток памяти в ответ на действие IL-7, при этом у пациентов с тяжелой формой заболевания количество таких клеток имело тенденцию к снижению ($p=0,33$).

Таким образом, IL-7 повышает пролиферацию CD4⁺ клеток памяти, что указывает на то, что IL-7 является индуктором пролиферации CD4⁺ клеток памяти при вульгарном псориазе.

Изменения экспрессии IL-7R в результате действия IL-7 в норме и при псориазе не отличаются.

Влияние блокады IL-7R α моноклональными антителами на фенотип и пролиферацию CD4⁺ клеток памяти в норме и при вульгарном псориазе *in vitro*

В культурах клеток условно-здоровых доноров блокада рецептора IL-7 приводила к снижению относительного количества CD4⁺ центральных клеток по сравнению с клетками, культивируемыми в условиях действия IL-7. Также снижалось количество клеток, экспрессирующих α -цепь рецептора IL-7 ($p=0,46$). Экспрессия общей γ -цепи достоверно снижалась под влиянием блокады IL-7R α . В условиях блокады пролиферация CD4⁺ центральных клеток памяти достоверно снижалась по сравнению с культурами клеток, стимулированными IL-7.

Блокада IL-7R α не приводила к изменению соотношения между CD4⁺ центральными и эффекторными клетками памяти у пациентов с вульгарным псориазом. Экспрессия CD127 и CD132 CD4⁺ центральными клетками памяти

имела тенденцию к снижению ($p=0.14$ и $p=0.27$, соответственно). Моноклональные антитела к IL-7R α приводили к достоверному снижению пролиферации Tcm.

У условно-здоровых доноров содержание CD4⁺ эффекторных клеток памяти не менялось под влиянием блокады рецептора IL-7. Моноклональные антитела к IL-7R α снижали экспрессию CD127 в популяции Tem *in vitro* по сравнению с контролем. При этом количество Tem, экспрессирующих γ -цепь рецептора IL-7 также снижалось по сравнению с клетками, культивируемыми в присутствии IL-7. Пролиферация CD4⁺ эффекторных клеток памяти снижалась в ответ на блокаду рецептора IL-7 по сравнению с клетками, стимулированными IL-7.

Таблица 5. Влияние IL-7 и блокирующих антител aIL-7R на экспрессию субъединиц рецептора IL-7 CD127, CD132 и пролиферацию CD4⁺ центральных клеток памяти условно-здоровых доноров

	k	IL-7	IL-7R α
CD127 ⁺ 132 ⁻ , %	64,8 (41,7-80,5)	6,5 (3,2-12,1)*	6,2 (1,9-16,3) *
CD127 ⁺ 132 ⁺ , %	5,4 (2,2-7,4)	2,8 (2,1-6,5)	3,8 (0,4-9,9)
CD127 ⁻ 132 ⁺ , %	0,9 (0,1-2,6)	19,1 (15,7-25,0) *	6,2 (3,7-9,3) *#
Пролиф. клетки, %	2,3 (1,5-3,8)	24,9 (7,5-26,8) *	2,6 (0,8-4,6)#

Примечание k - клеточные культуры без добавления IL-7, LPS и моноклональных антител к IL-7R; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7R α – культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7. Пролиф. клетки – число клеток, у которых происходило снижение флюоресценции по CFSE. * - достоверные отличия по сравнению с контролем без стимуляции (k), $p<0,05$; # - достоверные отличия по сравнению с клетками, стимулированными IL-7, $p<0,05$. Данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха (25-75 процентиля).

Таблица 6. Влияние IL-7 и блокирующих антител aIL-7R на экспрессию субъединиц рецептора IL-7 CD127, CD132 и пролиферацию CD4⁺ эффекторных клеток памяти условно-здоровых доноров

	k	IL-7	IL-7R α
CD127 ⁺ 132 ⁻ , %	72,5 (55,8-82,8)	4,2 (2,0-18,1) *	17,6 (1,5-32,8) *
CD127 ⁺ 132 ⁺ , %	1,75 (0,9-11,7)	0,9 (0,3-5,4)	1,4 (0,5-2,4)
CD127 ⁻ 132 ⁺ , %	0,4 (0,1-0,7)	9,3 (6,5-29,5) *	3,6 (1,3-5,7) [#]
Пролиф. клетки, %	1,2 (0,7-1,4)	7,8 (1,8-15,8) *	2,0 (1,6-2,8) [#]

Примечание k - клеточные культуры без добавления IL-7, моноклональных антител к IL-7R; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7R α – культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7; Пролиф. клетки – число клеток, у которых происходило снижение флюоресценции по CFSE. * - достоверные отличия по сравнению с контролем без стимуляции (k), $p < 0,05$; # - достоверные отличия по сравнению с клетками, стимулированными IL-7, $p < 0,05$. Данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха (25-75 процентиля)

При вульгарном псориазе также блокада рецептора IL-7 сопровождалась снижением CD127⁺CD132⁺ CD4⁺ эффекторных клеток памяти по сравнению с клетками, культивируемыми в условиях действия IL-7. Количество Т_{em}, экспрессирующих γ -цепь рецептора IL-7, также уменьшалось в результате блокады IL-7R α . Моноклональные антитела к IL-7R α способствовали снижению пролиферации Т_{em} по сравнению с клетками, культивируемыми в условиях действия IL-7.

Таким образом, блокада IL-7R α снижает пролиферацию CD4⁺ клеток памяти в норме и при вульгарном псориазе, а также уменьшает экспрессию рецептора IL-7, что отражает действие моноклональных антител.

Влияние IL-7 и блокады моноклональными антителами IL-7R α на продукцию IL-4, IFN- γ и IL-17 CD4⁺ клетками памяти в норме и при вульгарном псориазе *in vitro*

В группе условно-здоровых доноров IL-7 достоверно повышал количество CD4⁺ центральных клеток памяти, продуцирующих IL-4, а также увеличивал число Т_{em}, продуцирующих IL-4 ($p = 0,68$). В группе условно-здоровых доноров блокада антителами IL-7R α не оказывала влияния на продукцию IL-4 Т_{cm} и Т_{em}.

У пациентов с вульгарным псориазом содержание IL-4 в CD4⁺ центральных и эффекторных клетках памяти не менялось на фоне действия IL-7. При этом блокада IL-7R α моноклональными антителами приводила к

повышению продукции IL-4 CD4⁺ центральными и эффекторными клетками памяти по сравнению с Tcm, стимулированными IL-7.

Содержание Tcm и Tem, продуцирующих IFN- γ , повышалось в ответ на действие IL-7 в группе условно-здоровых доноров, при этом блокада моноклональными антителами IL-7R α не оказывала влияния на продукцию IFN- γ Tcm и Tem.

У пациентов с вульгарным псориазом содержание CD4⁺IFN γ ⁺ центральных и эффекторных клеток памяти не менялось на фоне действия IL-7. При этом блокада IL-7R α моноклональными антителами приводила к снижению количества IFN γ -продуцирующих Tcm и Tem.

Мы ввели индекс соотношения цитокинов Th1/Th2 как частное от числа IFN γ -позитивных клеток к числу IL-4-позитивных клеток. Обработка культур клеток условно-здоровых доноров моноклональными антителами к α -цепи рецептора IL-7 способствовала снижению индекса Th1/Th2 в Tem субпопуляции по отношению к клеткам, стимулированным IL-7. Таким образом, антитела к IL-7R α приводили к смещению цитокинового баланса в сторону Th2 у условно-здоровых доноров.

У пациентов изменений в соотношении Th1 и Th2 клеток при действии IL-7 выявлено не было. Блокада IL-7R моноклональными антителами приводила к снижению индекса Th1/Th2 в популяции CD4⁺ эффекторных клеток памяти по отношению к Tem, подвергшихся действию IL-7 и провоспалительных факторов.

У условно-здоровых доноров содержание IL-17⁺ Tcm имело тенденцию к повышению в ответ на действие IL-7. Достоверных изменений в количестве IL-17⁺ CD4⁺ эффекторных клеток памяти на фоне действия IL-7 в группе контроля обнаружено не было. В группе условно-здоровых доноров блокада IL-7R α приводила к уменьшению внутриклеточного содержания IL-17 в CD4⁺ эффекторных клетках памяти по сравнению с культурами, стимулированными IL-7, при этом содержание IL-17-продуцирующих CD4⁺ центральных клеток памяти не менялось.

При вульгарном псориазе количество IL-17⁺ CD4⁺ центральных клеток памяти достоверно повышалось в ответ на действие IL-7. Количество Tem, продуцирующих IL-17, не менялось в культурах клеток, обработанных IL-7. При этом продукция IL-17 CD4⁺ центральными и эффекторными клетками памяти снижалась на фоне действия моноклональных антител к IL-7R α .

Отличий в продукции цитокинов в ответ на действие IL-7 в отсутствие и присутствии провоспалительных факторов в виде липополисахарида выявлено не было.

Таким образом, мы выявили отличия в действии IL-7 на продукцию цитокинов CD4⁺ клетками памяти в норме и при вульгарном псориазе: у доноров повышалась продукция IL-4 и IFN γ , а у пациентов – IL-17. Мы также выявили отличия в действии моноклональных антител к IL-7R α : в

группе контроля они приводили к снижению количества IL-17+ Tcm, тогда как при вульгарном псориазе повышалась продукция IL-4, снижалась – INF γ и IL-17.

Таблица 7. Влияние блокады IL-7R на содержание INF γ ⁺, IL-4⁺ и IL-17⁺ CD4⁺ центральных клеткок памяти в культурах клеток условно-здоровых доноров *in vitro*.

	Контроль	IL-7	IL-7R α
INF- γ ⁺ клетки, %	17,7 (4,9-21,8)	21,4 (9,1-28,4) *	17,1 (9,4-26,8)
IL-4 ⁺ клетки, %	2,5 (1,3-4,1)	2,8 (1,0-3,9) *	3,0 (1,6-4,4)
IL-17 ⁺ клетки, %	5,2 (1-7,6)	5,8 (1,5-11,2)	3,1 (1,3-8,1)
Индекс Th1/Th2	3,1 (2,7-5,9)	0,1 (2,2-20,3)	7,8 (4,0-9,6)

Примечание: контроль – культуры клеток без стимуляции IL-7, моноклональными антителами к IL-7R α ; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7R α – культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7. * - достоверные отличия по сравнению с клетками, стимулированными IL-7, p<0,05. Данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха (25-75 процентиля)

Таблица 8. Влияние блокады IL-7R на содержание INF- γ ⁺, IL-4⁺ и IL-17⁺ CD4⁺ эффекторных клеткок памяти в культурах клеток условно-здоровых доноров *in vitro*.

	Контроль	IL-7	IL-7R α
INF- γ ⁺ клетки, %	17,9 (15,4-28,2)	8,6 (4,6-29,6)	25,5 (21,1-31,2)
IL-4 ⁺ клетки, %	1,6 (0,3-4,5)	1,6 (0,6-6,0)	2,2 (0,8-6,1)
IL-17 ⁺ клетки, %	1,4 (1,4-2,9)	2,1 (1,1-2,4)	1,4 (0,2-1,9)*
Индекс Th1/Th2	13,8 (3,4-59,7)	17,9 (4,8-28,1)	12,8 (4,5-39)

Примечание: контроль – культуры клеток без стимуляции IL-7, LPS, моноклональными антителами к IL-7R α ; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7R α – культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7; * - достоверные отличия по сравнению с культурами, стимулированными IL-7, p<0,05.

Данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха (25-75 процентиля)

Таблица 9. Влияние блокады IL-7R на содержание INF- γ^+ , IL-4 $^+$ и IL-17 $^+$ CD4 $^+$ центральных клеткок памяти в культурах клеток пациентов с вульгарным псориазом *in vitro*.

	Контроль	IL-7	IL-7R α
INF- γ^+ клетки, %	0,8 (0,2-8,2)	4,6 (1,2-9,1)	2,7 (0,6-6,6)*
IL-4 $^+$ клетки, %	2,3 (1,2-5,3)	3,8 (2,4-4,2)	4,5 (3,2-5,2)*
IL-17 $^+$ клетки, %	4,4 (2,6-10,9)	4,6 (1,1-7,0)*	3,3 (0,5-4,8)*
Индекс Th1/Th2	0,3 (1,0-1,1)	1,4 (0,7-4,3)	0,7 (0,3-3,9))

Примечание: контроль – культуры клеток без стимуляции IL-7, LPS, моноклональными антителами к IL-7R α ; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7R α – культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7. * - достоверные отличия по сравнению с клетками, стимулированными IL-7, $p < 0,05$. Данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха (25-75 процентиля).

Таблица 10. Влияние блокады IL-7R на содержание INF- γ^+ , IL-4 $^+$ и IL-17 $^+$ CD4 $^+$ эффекторных клеткок памяти в культурах клеток пациентов с вульгарным псориазом *in vitro*.

	Контроль	IL-7	IL-7R α
INF- γ^+ клетки, %	3,2 (1,6-11,7)	14,5 (2,5-25,4)	11,7 (1,3-21,0)
IL-4 $^+$ клетки, %	1,7 (0,7-2,3)	2,3 (0,7-3,5)	2,9 (1,2-4,1)*
IL-17 $^+$ клетки, %	2,3 (0,0-3,4)	3,4 (1,9-6,4)	2,9 (2,2-5,7)*
Индекс Th1/Th2	0,3 (0,1-3,5)	3,5 (0,3-6,9)	2,4 (0,4-4,9)*

Примечание: контроль – культуры клеток без стимуляции IL-7, моноклональными антителами к IL-7R α ; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7R α – культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7.* - достоверные отличия по сравнению с клетками, стимулированными IL-7, $p < 0,05$. Данные

представлены в виде медианы, интерквартильного размаха (25-75 процентиля).

Таким образом, блокада альфа-цепи рецептора IL-7 способствует сдвигу соотношения Th1/Th2 в сторону продукции Th2 цитокинов и снижению продукции IL-17 при вульгарном псориазе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современная терапия вульгарного псориаза в большинстве случаев позволяет достигнуть пациенту полной клинической ремиссии. Однако за отменой препарата во всех случаях следует рецидив заболевания. Из данных литературы известно, что причиной этого является наличие в коже пациентов аутореактивных клеток памяти, способствующих формированию псориатических очагов на одних и тех же локализациях.

В нашем исследовании мы выявили связь в количестве CD4+ центральных и эффекторных клеток памяти, продуцирующих IL-17, и тяжестью течения заболевания: у пациентов с большим значением индекса PASI было выявлено достоверно больше таких клеток в периферической крови. Также мы обнаружили, что у пациентов с тяжелой и средне-тяжелой формами заболевания в периферической крови больше CD4+ центральных клеток памяти, экспрессирующих обе цепи рецептора IL-7. Это указывает на участие данной клеточной популяции в развитии вульгарного псориаза и их вклад в развитие тяжелых форм заболевания, что подчеркивает необходимость воздействия на CD4+ клетки памяти при разработке методов терапии.

Было показано, что IL-7 способен усиливать пролиферацию CD4+ клеток памяти при вульгарном псориазе, способствует их активации и повышает количество CD4+ центральных клеток памяти, продуцирующих IL-17, что, можно предположить, *in vivo* способствует ухудшению течения заболевания и развитию его рецидивов.

В настоящее время не существует методов лечения, направленных на данную клеточную популяцию. В нашем исследовании мы показали эффективность блокады αIL-7R в подавлении пролиферации CD4+ центральных и эффекторных клеток памяти, что будет препятствовать увеличению количества таких клеток. Также мы продемонстрировали изменение профиля продуцируемых цитокинов: блокада приводила к повышению количества CD4+ клеток памяти, продуцирующих IL-4, и снижала количество клеток, продуцирующих IFNγ и IL-17, что *in vivo* обычно наблюдается у пациентов, достигших ремиссии заболевания. Таким образом, использование моноклональных антител к α-цепи рецептора IL-7, одного из основных факторов, поддерживающих популяцию CD4+ центральных и эффекторных клеток памяти, является перспективным методом терапии, который, можно предположить, позволит увеличить продолжительность ремиссии при вульгарном псориазе.

ВЫВОДЫ

1. Пациенты с вульгарным псориазом характеризовались повышенным содержанием CD4⁺ центральных клеток памяти, при этом было снижено количество CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти, экспрессирующих γ -цепь рецептора IL-7 и α - и γ -цепь одновременно, по сравнению с условно-здоровыми донорами, что отражает особенности патогенеза вульгарного псориаза.
2. В культуре IL-7 повышал пролиферацию CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти, приводя к снижению экспрессию α -цепи и повышению γ -цепи на CD4⁺ клетках памяти в обеих исследуемых группах. Достоверных отличий в пролиферации CD4⁺ клеток памяти в ответ на IL-7 между пациентами с псориазом и условно-здоровыми донорами не было выявлено. Что говорит о схожем действии IL-7 на CD4⁺ клетки памяти в норме и при псориазе.
3. IL-7 *in vitro* способствовал повышению количества IL-4⁺ и IFN γ ⁺ CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти у условно-здоровых доноров, тогда как у пациентов с вульгарным псориазом – повышению количества IL-17⁺ CD4⁺ центральных клеток памяти, что указывает на вовлеченность IL-7 в индукцию указанных процессов при данном заболевании.
4. В культуре *in vitro* блокада IL-7R α моноклональными антителами у условно-здоровых доноров и у пациентов с вульгарным псориазом приводила к снижению пролиферации CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти в ответ на IL-7 и экспрессии α - и γ -цепей рецептора IL-7 на CD4⁺ клетках памяти, что отражает эффективность действия моноклональных антител.
5. При вульгарном псориазе блокада IL-7R α моноклональными антителами *in vitro* сопровождалась увеличением количества IL-4-продуцирующих и снижением количества IFN γ - и IL-17-продуцирующих CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти, в том числе, сдвигом баланса Th1/Th2 клеток в сторону Th2 популяции среди CD4⁺ эффекторных клеток памяти, что может говорить о перспективности данного подхода в терапии псориаза.
6. Была обнаружена прямая корреляционная взаимосвязь содержания CD4⁺ IL-17⁺ центральных и эффекторных клеток памяти с тяжестью течения вульгарного псориаза, а также содержания CD4⁺ центральных клеток памяти, экспрессирующих α - и γ -цепь рецептора IL-7, и тяжестью течения вульгарного псориаза (индекс PASI). Это свидетельствует о том, что содержание клеток данной клеточной популяции является маркером тяжелого течения заболевания.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Колерова А.В.**, Блинова Е.А., Козлов В.А., Сергеева И.Г. Влияние блокады рецептора IL-7 на продукцию IFN-gamma CD4⁺ клетками памяти у больных вульгарным псориазом // Клиническая дерматология и венерология. 2022. 21. №2. С.194 – 200.

2. **Колерова А.В.**, Микаилова Д.А., Бейманова М.А., Блинова Е.А. ХАРАКТЕРИСТИКА CD4⁺ ЦЕНТРАЛЬНЫХ И ЭФФЕКТОРНЫХ КЛЕТОК ПАМЯТИ ПРИ ПСОРИАЗЕ // Медицинская иммунология. 2021. 23. №4. С. 969-974.
3. Блинова Е.А., **Колерова А.В.**, Балясников В.Е., Козлов В.А. Поддержание CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти в норме и в модели воспаления in vitro // Медицинская иммунология. 2020. 22. №5. С. 837-846.
4. Blinova E, Kozlov V, **Koleroва A.** Homeostasis of CD4⁺ central and effector memory cells in norm and in model of inflammation in vitro. Eur. J. Immunol. 2019. 49 (Suppl. 3):1–222. 17th International Congress of Immunology, Beijing, China, 19-23 October, 2019.
5. Blinova E.A., **Koleroва A.V.**, Balyasnikov V.E., Kozlov V.A. The influence of IL-7 on CD5 expression in CD4⁺ central and effector memory cells in norm and inflammatory model in vitro // Eur. J. Immunol. – 2019. – Vol. 49 (Suppl. 4). – P. 12 4th Meeting of Middle European Societies for Immunology and Allergology. Location Samorin, Slovakia. Date November 28-30, 2019. тезисы WoS (Q1).
6. **Koleroва A**, Blinova E, Kozlov V. The effect of IL-7 receptor blockade on the production of interleukin-4 and interferon-gamma by central and effector CD4 (+) memory cells under normal and inflammatory conditions in vitro. EAACI Digital Congress (2020), Abstract. Allergy, 75: 5-99.