

ОСОБЕННОСТИ РЕАЛИЗАЦИИ АПОПТОЗА CD4+ ЛИМФОЦИТОВ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ КРИПТОСПОРИДИОЗОМ

Е.Г. Старикова¹, О.В. Воронкова¹, Н.И. Шубина², Ю.В. Стариков³

¹ Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

² Медицинская санитарная часть № 2, Томск, Россия

³ Томская областная клиническая больница, Томск, Россия

Features of CD4+ lymphocytes apoptosis in children with cryptosporidiosis

E.G. Starikova¹, O.V. Voronkova¹, N.I. Shubina², Yu.V. Starikov³

¹ Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

² Medical Unit № 2, Tomsk, Russia

³ Tomsk Regional Clinical Hospital, Tomsk, Russia

Резюме

Цель: выявление особенностей апоптоза CD4+ лимфоцитов при криптоспориidioзе у детей.

Материалы и методы: кал для выявления криптоспоридий и венозная кровь для изучения апоптоза лимфоцитов. Мононуклеарные лейкоциты выделяли из цельной венозной крови и культивировали в полной питательной среде. Клетки инкубировали в течение 24 ч с индукторами рецепторного и митохондриального путей апоптоза — TNFα и дексаметазоном.

Результаты: криптоспоридии были обнаружены в 35 % случаев острой кишечной инфекции у детей. Количество лимфоцитов с цитофлуориметрическими признаками апоптоза в группе криптоспориdioз-позитивных пациентов не отличалось от такового у пациентов без криптоспориdioза ($p=0,421$). Не было установлено межгрупповых различий в количестве CD4+лимфоцитов, экспрессирующих на своей поверхности Fas-рецептор ($p=0,462$). В культурах, инкубируемых в присутствии дексаметазона, было зарегистрировано снижение количества апоптотически измененных CD4+ лимфоцитов только в группе криптоспориdioз-позитивных пациентов ($p=0,028$).

Заключение: в исследовании было показано, что при криптоспориidioзе изменяется чувствительность CD4+ клеток к индукции митохондриального пути апоптоза в пользу замедления указанного варианта клеточной гибели.

Ключевые слова: криптоспориidioз, апоптоз, митохондриальный путь апоптоза, рецепторный путь апоптоза.

Abstract

The aim of this study was to identify the features of CD4+ lymphocytes apoptosis in children with cryptosporidiosis. Feces for the detection of cryptosporidium and venous blood for the study of lymphocytes apoptosis were the material of the study. Mononuclear leukocytes were isolated from venous whole blood and cultured in a complete culture medium. Cells were incubated for 24 hours with inducers of the receptor (TNFα) and mitochondrial pathways of apoptosis (dexamethasone).

Cryptosporidia have been found in 35 % of acute intestinal infections in children. The number of lymphocytes with cytofluorimetric signs of apoptosis in the group of cryptosporidiosis-positive patients did not differ from that in patients without cryptosporidiosis ($p=0.421$). There were no intergroup differences in the number of CD4+ lymphocytes expressing the Fas receptor on their surface ($p=0.462$). In cultures incubated in the presence of dexamethasone, a decrease in the number of apoptotically altered CD4+ lymphocytes was registered only in the group of cryptosporidiosis-positive patients ($p=0.028$).

The study showed that in cryptosporidiosis, the sensitivity of CD4+ cells to the induction of the mitochondrial pathway of apoptosis changes in favor of slowing down this variant of cell death.

Key words: cryptosporidiosis, apoptosis, mitochondrial pathway of apoptosis, receptor pathway of apoptosis.

Введение

Криптоспориidioз является протозойным заболеванием, характеризующимся поражением желудочно-кишечного тракта. Симптоматика криптоспориidioза варьирует от диареи с тенденцией к самоизлечению до множественного поражения вис-

церальных органов вследствие диссеминации паразита. Группу риска по осложненному течению криптоспориidioза составляют дети младшего возраста, а также лица с иммунодефицитными состояниями, характеризующимися нарушением Т-клеточного ответа (ВИЧ-инфекция, синдром сочетанного иммунодефицита, CD4+ -лимфоцитопении и др.) [1, 2].

Известно, что количество Т-леток при остром воспалении регулируется за счет запрограммированной гибели активированных лимфоцитов (АГИК — активированная гибель иммунных клеток). В основном АГИК реализуется за счет механизмов внешнего Fas/FasL пути апоптоза. Наряду с этим, гибель Т-лимфоцитов может быть реализована запуском Bcl-2-опосредованного апоптотического пути за счет активации Bcl-2-only-белков Bim и Puma. Это вариант так называемой автономной гибели активированных Т-клеток. Апоптоз лимфоцитов минимизирует повреждение здоровых тканей, опосредованное иммунными эффекторными молекулами (воспалительные цитокины, иммунные комплексы, перфорин-гранзимы) [3]. Ряд экспериментальных исследований на мышах демонстрируют изменения Т-клеточного ответа после ингибирования каспаз, а также повышение выживаемости животных при моделировании протозойных инфекций [4, 5]. Другие данные свидетельствуют о том, что ингибция Fas-опосредованного апоптоза приводила к повышению смертности мышей при инфицировании трипаносомой *T. cruzi* [6].

В настоящее время данные о влиянии криптоспоридий на механизмы гибели Т-лимфоцитов *in vivo* отсутствуют.

Цель исследования — установить особенности апоптоза CD4⁺ лимфоцитов при криптоспоридиозе у детей.

Задачи исследования:

1. Определить наличие криптоспоридий у детей, госпитализированных с признаками острой кишечной инфекции.
2. Оценить базовый уровень апоптоза лимфоцитов при криптоспоридиозе и без него.
3. Оценить влияние индукторов митохондриального и рецепторного путей клеточной гибели на апоптоз лимфоцитов при криптоспоридиозе.

Материалы и методы исследования

Дизайн исследования. Исследование являлось одноцентровым, одномоментным, выборочным, контролируемым. Изучение параметров апоптоза лимфоцитов у больных носило наблюдательный характер (рис.).

Критерии включения:

- дети в возрасте до 5 лет включительно, госпитализированные в инфекционный стационар в порядке оказания скорой медицинской помощи с признаками ОКИ (повышение температуры до 38–39°C, жидкий водянистый стул от 3 до 10 раз/сут, слабость, снижение аппетита и/или рвота);
- получение письменного информированного согласия на участие ребенка в исследовании от его родителя (законного представителя).

Критерии не включения:

- наличие доброкачественных и злокачественных новообразований, аутоиммунных заболеваний, хронических инфекционных заболеваний.

Материалом исследования служил кал для выявления криптоспоридий и венозная кровь для изучения апоптоза лимфоцитов. Венозную кровь забирали утром натощак из локтевой вены в количестве 1 мл, стабилизировали К₃ЭДТА (забор крови для исследования осуществляли одновременно с забором крови для проведения необходимых анализов (клинического, биохимического и др.) в соответствии с планом обследования пациента).

Для определения наличия криптоспоридий в кале концентрировали ооцисты с применением устройства одноразового использования Mini Parasep (Diasys LTD, США). Приготовление препаратов осуществляли следующим образом: на обезжиренное предметное стекло наносили осадок, полученный после концентрирования кала, и высушивали на воздухе. Препараты окрашивали по Цилю — Нильсену (Эколаб, Россия). Окрашенные препараты микроскопировали с иммерсионной системой на микроскопе Primo Star (Carl Zeiss, Германия). Ооцисты криптоспоридий идентифицировали как округлые образования красного цвета диаметром 3–5 мкм.

Мононуклеарные лейкоциты выделяли из цельной венозной крови методом градиентного центрифугирования. Выделенные клетки ресуспендировали в полной питательной среде (90% RPMI-1640, 10% эмбриональной телячьей сыворотки («Gibco Invitrogen», США), 0,3 мг/мл L- глутамина, 100 мкг/мл гентамицина).

Клетки инкубировали в течение 24 ч с индукторами рецепторного и митохондриального путей апоптоза — TNF (BD Bioscience, США) в конечной концентрации 30 нг/мл и дексаметозоном (KRKA, Словения) в конечной концентрации 5 моль/мл соответственно.

Определение количества клеток, вступивших в апоптоз, проводили с использованием PE-меченного аннексина V и 7-AAD (PI) (BD Bioscience, США) на проточном цитофлуориметре (BD Accuri C6 plus, США). Определение клеток, несущих CD4-, CD3-, Fas-рецептор, проводили с использованием моноклональных антител к человеческим CD4, CD95 (Fas/Apo-1) (BD Bioscience, США) методом проточной лазерной цитометрии.

Анализ полученных данных выполнен при помощи пакета статистических программ SPSS 23.0 (IBM SPSS Statistics, США). Описание количественных показателей проведено с указанием медианы (Me) и межквартильного интервала (Q25; Q75). Межгрупповое сравнение количественных показателей зависимых выборок проводилось с ис-



Рис. Дизайн исследования. Экспериментальное двойное слепое исследование проводилось с использованием клеток крови, полученных от пациентов

пользованием критерия Фридмана. Внутригрупповое сравнение количественных показателей 2 зависимых выборок проводилось с использованием критерия Вилкоксона. Сравнение количественных показателей 2 независимых выборок проводилось с использованием U-критерия Манна — Уитни. Различия между группами считались статистически значимыми при значении коэффициента достоверности менее 0,05.

Результаты исследования

В исследовании приняли участие 17 детей (8 мальчиков и 9 девочек), медиана возраста 19 (8; 30) мес. Все дети были госпитализированы с жалобами на повышение температуры (38,5 (37,7; 39,0)°С), боль в животе, слабость и снижение аппетита. У всех 17 (100%) пациентов зарегистрирован симптом диареи — жидкий водянистый стул от 3

до 10 раз/сут; количество дефекаций на момент поступления в стационар составило 4 (2; 7) раза в сутки.

У 6 из 17 детей с ОКИ в кале были обнаружены ооцисты криптоспоридий. Для изучения особенностей апоптоза CD4+ лимфоцитов были сформированы 2 группы: в первую группу вошли криптоспоридиоз-положительные пациенты (6 человек), во вторую — криптоспоридиоз-негативные пациенты (11 человек). Ранее нами было показано, что этиологическая структура ОКИ, ассоциированной с криптоспоридиями, и ОКИ у криптоспоридиоз-отрицательных детей не различалась. Криптоспоридии определялись вместе с другими возбудителями кишечных инфекций (ротавирус, сальмонеллы, стафилококки и др.) в 73% случаев. В качестве единственного инфекционного агента криптоспоридии регистрировались у 7% пациентов. При

этом при поступлении в стационар у детей с ОКИ, ассоциированной с криптоспоридиями, отмечен более высокий уровень лейкоцитов крови, по другим клиническим показателям (температура тела, СОЭ, число дефекаций) различий между группами выявлено не было [7]. Таким образом, установленные различия в клинической картине между группами не могут оказать влияние на результаты исследования апоптоза CD4+ лимфоцитов.

При анализе количества лимфоцитов с цитофлуориметрическими признаками апоптоза не было выявлено статистически значимых межгрупповых различий исследуемого показателя ($p=0,421$) (табл. 1). Количество CD4+ клеток, экспрессирующих Fas-рецептор (CD95) также не различалось в группах больных с криптоспоридиозом и без него ($p=0,462$).

Добавление в культуральную клеточную среду индуктора апоптоза TNF-лиганда не привело к изменению количества лимфоцитов с цитофлуориметрическими признаками апоптоза как в группе больных криптоспоридиозом, так и у криптоспоридиоз-негативных пациентов (табл. 1). В культурах, инкубируемых в присутствии дексаметозона, было зарегистрировано снижение количества апоптотически измененных CD4+ лимфоцитов только в группе криптоспоридиоз-позитивных пациентов ($p=0,028$). Аналогичное воздействие на клетки пациентов без криптоспоридиоза не

приводило к изменению показателя программированной гибели лимфоцитов крови ($p=0,594$) (табл. 2).

Обсуждение

Активность как клеточного, так и гуморального иммунного ответа в большой степени зависит от интенсивности программированной клеточной гибели. При воспалительной реакции количество Т- и В-лимфоцитов, специфических к чужеродному антигену, может увеличиваться в несколько сотен раз. Большинство лимфоцитов дифференцируются в эффекторные клетки (хелперы, цитотоксические, антителообразующие) и уничтожают патоген как напрямую, так и посредством активации клеток врожденного иммунитета. После реализации своих специфических функций эффекторные клетки должны быть удалены посредством апоптоза, поскольку являются потенциально опасными. Этим обеспечивается нормальное функционирование периферических лимфоидных органов, формируется плацдарм для обеспечения иммунного ответа при последующих инфекциях [8].

Первые доказательства того, что изменения активности рецептор-опосредованного апоптоза Т-лимфоцитов оказывают неблагоприятное влияние на иммунный ответ при паразитарных инвазиях, были получены на Fas-, FasL- и TNF-дефицитных мышах, зараженных лейшманиями.

Таблица 1

Уровень апоптоза и экспрессии CD95 рецептора у больных с ОКИ

Показатель	Криптоспоридиоз-позитивные пациенты (n = 6)	Криптоспоридиоз-негативные пациенты (n = 11)	p
Апоптоз CD4+ лимфоцитов	12,8 (9,6; 14,5)	7,8 (7,1; 11,9)	0,421
Количество CD95 + CD4+ лимфоцитов	17,1 (11,4; 25)	25,3 (11,8; 39,3)	0,462

Таблица 2

Уровень индуцированного апоптоза CD4+ лимфоцитов при криптоспоридиозе

Показатель	Количество CD4+ лимфоцитов с цитофлуориметрическими признаками апоптоза			Межгрупповые различия	Внутригрупповые различия
	Без стимуляции, %	При воздействии TNF, %	При воздействии дексаметозона, %		
Криптоспоридиоз-позитивные пациенты (n = 6)	11,3 (8,4; 14,5)	9,3 (7,3; 13,2)	7,1 (5,6; 8,6)	$p=0,042$	$p_1 = 0,500$; $p_2 = 0,028$
Криптоспоридиоз-негативные пациенты (n = 11)	9,1 (7,7; 11,9)	9,8 (6,9; 13,6)	10,2 (6,1; 13,4)	$p=0,529$	$p_1 = 0,722$; $p_2 = 0,594$

p_1 — достоверность различий при сравнении значений при индукции TNF и без стимуляции; p_2 — достоверность различий при сравнении значений при индукции дексаметазоном и без стимуляции.

У генетически-модифицированных мышей паразитизма была выше, как и выраженность кожных инфильтратов по сравнению с диким типом мышей [9].

Было показано, что подавление Fas-сигнального пути апоптоза Т-лимфоцитов ассоциировано с низкой выживаемостью мышей при инвазии, вызванной *Trypanosoma cruzi*. Так, у животных на фоне интенсивного воспаления почек было зарегистрировано изменение цитокинового профиля крови, свидетельствующего о развитии непротективного при трипаносомозе Th2-иммунного ответа [10]. В настоящее время в доступной литературе отсутствуют данные о клинических либо экспериментальных исследованиях механизмов апоптотической гибели иммунокомпетентных клеток при криптоспорициозной инвазии.

В результате проведенного нами исследования было установлено, что у детей с ОКИ уровень апоптоза лимфоцитов крови, оцениваемый по экспрессии Fas-рецептора на CD4+ клетках, не зависел от этиологического варианта заболевания. Дополнительная активация апоптоза TNF-лигандом при культивировании клеток *in vitro* не приводила к изменению уровня апоптоз-позитивных клеток у всех обследованных пациентов. Снижение активности апоптоза Т-лимфоцитов у больных криптоспорициозом наблюдалось при воздействии на клетки дексаметазоном, что свидетельствует о нарушении митохондриального, но не рецептор-зависимого пути апоптоза. Можно предположить два возможных механизма, лежащих в основе подавления апоптотической активности клеток: увеличение содержания антиапоптотических белков (Bcl-2, Bcl-xL) либо снижение концентрации проапоптотических протеинов (Bax, Bad, Bim, PUMA). Известно, что митохондриальный путь апоптоза в иммунокомпетентных клетках запускается в результате снижения уровня цитокинов, ответственных за выживание лимфоцитов, таких как IL-4, IL-13 [11, 12].

Дефицит факторов выживания после экспансии активированных Т-лимфоцитов индуцирует экспрессию белка Bim в этих клетках, что приводит к ингибированию антиапоптотического влияния протеинов Bcl-2 и Bcl-xL на Bax и Bak. Совместно с Fas-зависимыми механизмами Bim-опосредованный апоптоз отвечает за удаление эффекторных клонов Т-клеток [13].

Одним из примеров влияния Bim-опосредованной клеточной гибели на активность иммунного ответа при паразитарной инвазии является мышинная модель лейшманиоза, вызванного *Leishmania major*. Было показано, что в организме зараженных мышей наблюдалась длительная персистенция небольшого количества паразитов в защищенных клеточных нишах, находящихся под регуляторным контролем Т-лимфоцитов, активно

продуцирующих IL-10. Это способствовало хронизации заболевания и формированию лекарственно-резистентных штаммов паразитов [14]. Полное избавление от паразитов достигалось путем включения белка Bim у модельных животных, которое способствовало увеличению количества IFN γ -продуцирующих CD4+ -клеток в месте инфекции, дренажу лимфатических узлов и формированию невосприимчивости к повторной инвазии [15].

Результаты проведенного нами исследования позволяют предположить, что потенциальное (*in vitro*) снижение активности митохондриального пути апоптоза Т-лимфоцитов является одной из защитно-приспособительных реакций и имеет важное значение для эффективной элиминации паразитов и предотвращения хронизации инвазии у иммунокомпетентных лиц.

Заключение

Уровень апоптоза лимфоцитов крови не зависит от инфицирования криптоспоридами при ОКИ у детей. При *in vitro* культивировании лимфоцитов, полученных от криптоспорициоз-позитивных пациентов, наблюдалось снижение активности апоптоза Т-лимфоцитов, реализуемого по митохондриальному, но не по рецептор-зависимому пути. Обнаруженная в исследовании способность криптоспорицид влиять на митохондриальный путь реализации апоптоза CD4+ лимфоцитов может быть использована для разработки лекарственных средств, направленных на элиминацию криптоспорицид.

Источник финансирования

Исследование выполнено на средства гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых (гоговор №14W01.17.3455-МД).

Литература

1. Старикова, Е.Г. Криптоспорицид и макроорганизм: факторы, влияющие на развитие криптоспорициоза / Е.Г. Старикова [и др.] // Вестник РАМН. — 2017. — Т.72, № 6. — С. 420 — 427. — doi: 10.15690/vramn888
2. Sabir, M.J., Low, R., Hall, N. et al. A Bioinformatics Approach to Identifying Potential Biomarkers for Cryptosporidium parvum: A Coccidian Parasite Associated with Fetal Diarrhea / M.J. Sabir // Vaccines (Basel). — 2021. — Vol.9. — P. 1427-1432. doi: 10.3390/vaccines9121427
3. Zhan Y, Carrington EM, Zhang Y, et al. Life and Death of Activated T Cells: How Are They Different from Naïve T Cells? Front. Immunol. 2017; 8:1809. doi: 10.3389/fimmu.2017.01809
4. Silva GK, Costa RS, Silveira TN, et al Apoptosis-Associated Speck-like Protein Containing a Caspase Recruitment Domain Inflammasomes Mediate IL-1 Response and Host Resistance to Trypanosoma cruzi Infection. The Journal of Immunology. 2013; 191(6): P 3373 -3383. doi:10.4049/jimmunol.1203293
5. Mammari N, Halabi MA, Yaacoub S. Toxoplasma gondii Modulates the Host Cell Responses: An Overview of Apopto-

sis Pathways. *BioMed Research International*. 2019; (11):1-10. doi:10.1155/2019/6152489

6. Vasconcelos, J.R., Bruna-Romero, O., Araujo, A.F., et al. Pathogen-induced proapoptotic phenotype and high CD95 (Fas) expression accompany a suboptimal CD8+ T-cell response: reversal by adenoviral vaccine / J.R. Vasconcelos // *PLoS Pathog.* — 2012. Vol.8. — P.26-34. doi:10.1371/journal.ppat.1002699.

7. Старикова, Е.Г. Распространенность и клинико-лабораторные особенности криптоспориоза у детей в возрасте до 5 лет: одномоментное исследование госпитальных случаев острой кишечной инфекции / Е.Г. Старикова [и др.] // *Вопросы современной педиатрии*. — 2018. — Т. 17, № 4. — С. 316-322. — doi: 10.15690/vsp.v17i4.1925

8. Citro, A., Barnaba, V., Martini, H. From T cell apoptosis to chronic immune activation in inflammatory diseases / A. Citro // *Int Arch Allergy Immunol.* — 2014. — Vol.164. — P.140-146. doi: 10.1159/000363385.

9. Oliveira, C.F., Manzoni-de-Almeida, D., Mello, P.S., et al. Characterization of chronic cutaneous lesions from TNF-receptor1-deficient mice infected by *Leishmania major* / C.F. Oliveira // *Clin Dev Immunol.* — 2012: 865708. doi: 10.1155/2012/865708.

10. Cardoso MS, Reis-Cunha JL, Bartholomeu DC. Evasion of the Immune Response by *Trypanosoma cruzi* during acute infection. *Front. Immunol.* 2016; 6:659. doi: 10.3389/fimmu.2015.00659

11. Song, X., Traub, B., Shi, J., Kornmann, M. Possible Roles of Interleukin-4 and -13 and Their Receptors in Gastric and Colon Cancer / X. Song // *Int J Mol Sci.* — 2021. — Vol.22. — P. 727-735. doi: 10.3390/ijms22020727

12. Lupi, L.A., Delella, F.K., Cuciolo, M.S. et al. P-MAPA and Interleukin-12 Reduce Cell Migration/Invasion and Attenuate the Toll-Like Receptor-Mediated Inflammatory Response in Ovarian Cancer SKOV-3 Cells: A Preliminary Study / L.A. Lupi // *Molecules.* — 2020. — Vol.25. P. 5 — 14. doi: 10.3390/molecules25010005

13. Magerus-Chatinet, A., Rieux-Laucat, F. In Vitro Evaluation of the Apoptosis Function in Human Activated T Cells / A. Magerus-Chatinet // *Methods Mol Biol.* — 2017. — Vol.1557. P. 33-40. doi: 10.1007/978-1-4939-6780-3_4.

14. Pagan, A.J., Peters, N.C., Debrabant, A., et al. Tracking antigen-specific CD4(+) T cells throughout the course of chronic *Leishmania major* infection in resistant mice / A.J. Pagan // *Eur J Immunol.* — 2012. — Vol.43. — P.427—438. doi: 10.1002/eji.201242715.

15. Herold, M. J., Stuchbery, R., Mérimo, D., Willson, T., Strasser, A., Hildeman, D., & Bouillet, P. Impact of conditional deletion of the pro-apoptotic BCL-2 family member BIM in mice. *Cell Death & Disease*. 2014; 5(10), e1446—e1446. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.409>

References

1. Starikova EG, Voronkova OV, Kovshirina YuV, et al. Cryptosporidia and macroorganism: factors that influence on the development of cryptosporidiosis. *Vestnik RAMN*. 2017; 72(6): 420-427. (in Russ). doi: 10.15690/vramn888

2. Sabir, M.J., Low, R., Hall, N. et al. A Bioinformatics Approach to Identifying Potential Biomarkers for *Cryptosporidium parvum*: A Coccidian Parasite Associated with Fetal Diarrhea / M.J. Sabir // *Vaccines (Basel)*. — 2021. - Vol.9. — P. 1427-1432. doi: 10.3390/vaccines9121427

3. Zhan Y, Carrington EM, Zhang Y, et al. Life and Death of Activated T Cells: How Are They Different from Naïve T Cells? *Front. Immunol.* 2017; 8:1809. doi: 10.3389/fimmu.2017.01809

4. Silva GK, Costa RS, Silveira TN, et al Apoptosis-Associated Speck-like Protein Containing a Caspase Recruitment Domain Inflammasomes Mediate IL-1 Response and Host Resistance to *Trypanosoma cruzi* Infection. *The Journal of Immunology*. 2013; 191(6): P 3373-3383. doi:10.4049/jimmunol.1203293

5. Mammari N, Halabi MA, Yaacoub S. *Toxoplasma gondii* Modulates the Host Cell Responses: An Overview of Apoptosis Pathways. *BioMed Research International*. 2019; (11):1-10. doi:10.1155/2019/6152489

6. Vasconcelos, J.R., Bruna-Romero, O., Araujo, A.F., et al. Pathogen-induced proapoptotic phenotype and high CD95 (Fas) expression accompany a suboptimal CD8+ T-cell response: reversal by adenoviral vaccine / J.R. Vasconcelos // *PLoS Pathog.* - 2012. Vol.8. — P.26-34. doi:10.1371/journal.ppat.1002699.

7. Starikova E.G., Shubina N.I., Voronkova O.V., Kovshirina YU.V., Yarovoj N.D. / *Rasprostranennost' i kliniko-laboratornye osobennosti kriptosporidioza u detej v vozraste do 5 let: odnomomentnoe issledovanie gospi-tal'nyh sluchaev ostroj kishhechnoj infekcii* // *Voprosy sovremennoj pediatrii*. — 2018. — Т.17. - № 4. - С.316-322. doi: 10.15690/vsp.v17i4.1925

8. Citro, A., Barnaba, V., Martini, H. From T cell apoptosis to chronic immune activation in inflammatory diseases / A. Citro // *Int Arch Allergy Immunol.* - 2014. — Vol.164. — P.140-146. doi: 10.1159/000363385.

9. Oliveira, C.F., Manzoni-de-Almeida, D., Mello, P.S., et al. Characterization of chronic cutaneous lesions from TNF-receptor1-deficient mice infected by *Leishmania major* / C.F. Oliveira // *Clin Dev Immunol.* - 2012: 865708. doi: 10.1155/2012/865708.

10. Cardoso MS, Reis-Cunha JL, Bartholomeu DC. Evasion of the Immune Response by *Trypanosoma cruzi* during acute infection. *Front. Immunol.* 2016; 6:659. doi: 10.3389/fimmu.2015.00659

11. Song, X., Traub, B., Shi, J., Kornmann, M. Possible Roles of Interleukin-4 and -13 and Their Receptors in Gastric and Colon Cancer / X. Song // *Int J Mol Sci.* — 2021. — Vol.22. — P. 727-735. doi: 10.3390/ijms22020727

12. Lupi, L.A., Delella, F.K., Cuciolo, M.S. et al. P-MAPA and Interleukin-12 Reduce Cell Migration/Invasion and Attenuate the Toll-Like Receptor-Mediated Inflammatory Response in Ovarian Cancer SKOV-3 Cells: A Preliminary Study / L.A. Lupi // *Molecules.* — 2020. — Vol.25. P. 5 - 14. doi: 10.3390/molecules25010005

13. Magerus-Chatinet, A., Rieux-Laucat, F. In Vitro Evaluation of the Apoptosis Function in Human Activated T Cells / A. Magerus-Chatinet // *Methods Mol Biol.* - 2017. - Vol.1557. P. 33-40. doi: 10.1007/978-1-4939-6780-3_4.

14. Pagan, A.J., Peters, N.C., Debrabant, A., et al. Tracking antigen-specific CD4(+) T cells throughout the course of chronic *Leishmania major* infection in resistant mice / A.J. Pagan // *Eur J Immunol.* - 2012. — Vol.43. — P.427—438. doi: 10.1002/eji.201242715.

15. Herold, M. J., Stuchbery, R., Mérimo, D., Willson, T., Strasser, A., Hildeman, D., & Bouillet, P. Impact of conditional deletion of the pro-apoptotic BCL-2 family member BIM in mice. *Cell Death & Disease*. 2014; 5(10), e1446—e1446. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.409>

Авторский коллектив:

Старикова Елена Григорьевна — профессор кафедры биологии и генетики Сибирского государственного медицинского университета, д.м.н.; тел.: 8(3811)90-11-01 доб. 16-93, e-mail: elena.g.starikova@yandex.ru

Воронкова Ольга Владимировна — профессор кафедры биологии и генетики Сибирского государственного медицинского университета, д.м.н., доцент; тел.: 8 (3811)90-11-01 доб. 19-45, e-mail: voronkova-ov@yandex.ru

Шубина Наталья Ивановна — врач-инфекционист Медико-санитарной части № 2; тел.: 8(3822)90-73-62, e-mail: natalya.i.shubina@gmail.com

Стариков Юрий Витальевич — врач клинической лабораторной диагностики Томской областной клинической больницы, к.м.н.; тел: +7-961-887-53-96, e-mail: to-yuri@yandex.ru