

Особенности показателей врождённого и адаптивного иммунитета у пациентов с болезнью Паркинсона

И.В. Красаков^{1,2}, Н.И. Давыдова¹, А.А. Калашникова¹, И.В. Литвиненко², С.С. Алексанин¹, Н.В. Макарова¹

¹ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова», Санкт-Петербург, Россия;

²ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова», Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Введение. Т-клеточное звено играет существенную роль в нейровоспалении при болезни Паркинсона (БП). $\gamma\delta$ T-клетки являются малоизученной «минорной» субпопуляцией Т-лимфоцитов. Оценка состояния иммунной системы у пациентов с БП с фокусом на $\gamma\delta$ T-лимфоцитах позволяет получить новые данные о патогенезе нейродегенеративных заболеваний.

Цель исследования — изучение субпопуляций лимфоцитов, неклассических $\gamma\delta$ T-лимфоцитов и продукции цитокинов у пациентов с 3 стадией БП, осложнённой моторными флуктуациями.

Материалы и методы. Обследованы 20 пациентов с 3 стадией БП, получающих комбинированную дофаминергическую терапию (основная группа) и 20 пациентов с хроническими цереброваскулярными заболеваниями сопоставимого возраста (группа сравнения). С учётом предполагаемой роли хронического запора в поддержании у пациентов с БП дисбиотических состояний и хронического воспаления наличие запоров являлось критерием включения пациента в исследование. Проведена оценка субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови методом проточной цитофлуориметрии, а также уровня цитокинов методом иммуноферментного анализа.

Результаты. Установлено, что количество зрелых CD3⁺-Т-лимфоцитов, Т-клеточный рецептор (T-cell receptor, TCR) которых представлен $\alpha\beta$ - или $\gamma\delta$ -цепями, в популяции лимфоцитов в группе пациентов с БП было значимо ниже (медиана 74% (57,3–83,5), чем в группе сравнения — 80% (73,0–86,0); $p = 0,014$. Также выявлено достоверное снижение количества CD3⁺CD56⁺-натуральных киллеров (NK) в группе пациентов с БП — 4,7% (1,3–7,7), тогда как в группе сравнения — 7,8% (0,8–24); $p = 0,036$. При этом в группе пациентов с БП количество CD3⁺CD56⁺-NK-клеток было значимо выше — 16,4% (9–34), чем в группе сравнения — 8,7% (5–15); $p = 0,001$. Кроме того, в основной группе выявлено достоверное повышение количества активированных CD3⁺CD8⁺-NK-клеток — 7% (4,5–13,5), в группе сравнения — 3,5% (0,86–4,9); $p < 0,001$. Среди общего количества $\gamma\delta$ T-клеток субпопуляция Т-хелперов CD4⁺CD8⁺-TCR $\gamma\delta$ была достоверно ниже в группе пациентов с БП — 13,6% (6,2–27,0), чем в группе сравнения — 29,8% (4,0–52,1); $p = 0,016$. При исследовании уровней цитокинов в группе пациентов с БП выявлено значимое повышение индуцированной продукции интерлейкина (ИЛ)-1 β , а также высокая (аберрантная) спонтанная продукция ИЛ-10, которая в группе пациентов с БП составила 227,5 пг/мл при норме 0–23 пг/мл. В результате корреляционного анализа субпопуляции Т-хелперов CD4⁺CD8⁺-TCR $\gamma\delta$ и цитокинов в группе пациентов с БП выявлена достоверная ($p = 0,048$) обратная взаимосвязь с индуцированной продукцией ИЛ-10 ($r = -0,745$) и значимая ($p = 0,042$) прямая связь с индуцированной продукцией провоспалительного цитокина ИЛ-1 β ($r = 0,648$). Выявлена тенденция к повышению спонтанной продукции ИЛ-10 ($r = -0,602$; $p = 0,0506$) при снижении уровня Т-хелперов CD4⁺CD8⁺-TCR $\gamma\delta$.

Заключение. В крови пациентов с БП выявлены изменения, свидетельствующие о наличии хронического воспалительного процесса: увеличение количества NK-клеток CD3⁺CD56⁺, в том числе активированных CD3⁺CD8⁺, повышение продукции провоспалительного цитокина ИЛ-1 β и противовоспалительного цитокина ИЛ-10. Определено снижение содержания минорной субпопуляции $\gamma\delta$ T-клеток CD4⁺CD8⁺-TCR $\gamma\delta$. Выявленная взаимосвязь этой субпопуляции с продукцией про- и противовоспалительных цитокинов позволяет предположить ее роль в регуляции хронического воспаления при БП.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона; $\gamma\delta$ T-лимфоциты; нейровоспаление; иммунитет

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешних источников финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Адрес для корреспонденции: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2. ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова. E-mail: ikrasakov@gmail.com. Красаков И.В.

Для цитирования: Красаков И.В., Давыдова Н.И., Калашникова А.А., Литвиненко И.В., Алексанин С.С., Макарова Н.В. Особенности показателей врождённого и адаптивного иммунитета у пациентов с болезнью Паркинсона. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии* 2022; 16(1): 14–23.

DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2022.1.2>

Поступила 08.01.2021 / Принята в печать 29.12.2021 / Опубликовано 21.03.2022

Features of innate and adaptive immunity in patients with Parkinson's disease

Igor V. Krasakov^{1,2}, Nataliya I. Davydova¹, Anastasiya A. Kalashnikova¹, Igor V. Litvinenko², Sergey S. Aleksanin¹, Nataliya V. Makarova¹

¹A.M. Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russia;

²S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

Abstract

Introduction. T cells play a significant role in neuroinflammation in Parkinson's disease (PD). Gamma delta T cells are an under-researched 'minor' subpopulation of T cells. An assessment of the immune system in patients with PD, with a focus on $\gamma\delta$ T cells, provides new data on the pathogenesis of neurodegenerative diseases. The aim of the study was to examine the lymphocyte subpopulations, nonclassical $\gamma\delta$ T cells, as well as cytokine production in patients with 3 stage PD complicated by motor fluctuations.

Materials and methods. We examined 20 patients with 3 stage PD receiving dopaminergic combination therapy (main group) and 20 age-matched patients with chronic cerebrovascular disease (comparison group). Considering the suspected role of chronic constipation in maintaining dysbiosis and chronic inflammation in patients with PD, the presence of constipation was an inclusion criterion for this study. The subpopulation profile of the peripheral blood lymphocytes was assessed using flow cytometry, as well as cytokine levels using enzyme linked immunosorbent assay.

Results. It was found that the number of mature CD3⁺ T cells with $\alpha\beta$ or $\gamma\delta$ chains as the T-cell receptors (TCR) in the lymphocyte population was significantly lower in patients with PD — median 74% (57.3–83.5) than in the comparison group (median 80% (73.0–86.0); $p = 0.014$). There was also a statistically significant reduction in the number of CD3⁺CD56⁺ natural killer (NK) T cells in the group of patients with PD vs. the comparison group — 4.7% (1.3–7.7) vs. 7.8% (0.8–24); $p = 0.036$. At the same time, the number of CD3⁺CD56⁺ NK cells was significantly higher in the group of patients with PD (16.4% (9–34)) vs. the comparison group — 8.7% (5–15); $p = 0.001$. Moreover, the main group had a statistically significantly higher number of activated CD3⁺CD8⁺ NK cells — 7% (4.5–13.5) vs. the comparison group — 3.5% (0.86–4.9); $p < 0.001$. Out of the total number of $\gamma\delta$ T cells, the TCR $\gamma\delta$ CD4⁺CD8⁻ subpopulation was statistically smaller in the group of patients with PD — 13.6% (6.2–27.0) than in the comparison group — 29.8% (4.0–52.1); $p = 0.016$. The study of cytokine levels in the group of patients with PD showed a significant increase in the induced production of interleukin-1 β (IL-1 β), as well as a high (aberrant) spontaneous production of IL-10, which was 227.5 pg/ml in patients with PD when the normal range is 0–23 pg/ml. The correlation analysis showed that the TCR $\gamma\delta$ CD4⁺CD8⁻ subpopulation and cytokines in the group of patients with PD had a statistically significant ($p = 0.048$) negative correlation with the induced production of IL-10 ($r = -0.745$) and a significant ($p = 0.042$) positive correlation with the induced production of the pro-inflammatory cytokine IL-1 β ($r = 0.648$). There was a trend towards increased spontaneous production of IL-10 ($r = -0.602$; $p = 0.0506$) as the level of the TCR $\gamma\delta$ CD4⁺CD8⁻ T helper cells decreased.

Conclusion. Changes were found in the blood of patients with PD, which indicate a chronic inflammatory process: increased number of CD3⁺CD56⁺ NK cells, including activated CD3⁺CD8⁺ cells, and increased production of pro-inflammatory cytokine IL-1 β and anti-inflammatory cytokine IL-10. A decrease was found in the level of a minor subpopulation of $\gamma\delta$ T cells, TCR $\gamma\delta$ CD4⁺CD8⁻. The correlation found between this subpopulation and the production of pro- and anti-inflammatory cytokines indicates its role in regulation of chronic inflammation in PD.

Keywords: Parkinson's disease; $\gamma\delta$ T cells; neuroinflammation; immunity

Source of funding. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For correspondence: 194044, Russia, St. Petersburg, Lebedeva str., 4/2. Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine. E-mail: ikrasakov@gmail.com. Krasakov I.V.

For citation: Krasakov I.V., Davydova N.I., Kalashnikova A.A., Litvinenko I.V., Aleksanin S.S., Makarova N.V. [Features of innate and adaptive immunity in patients with Parkinson's disease]. *Annals of clinical and experimental neurology* 2022; 16(1): 14–23. (In Russ.)

DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2022.1.2>

Received 08.01.2021 / Accepted 29.12.2021 / Published 21.03.2022

Введение

Болезнь Паркинсона (БП) является одной из значимых медицинских проблем XXI в. С целью разработки новых методов лечения предлагаются теории, объясняющие патогенез заболевания, основанные на изучении показателей как локального, так и системного воспаления, в том числе иммунологических. Исследование патогенеза БП выявило дисфункцию иммунной системы, в частности, врождённый нейровоспалительный ответ как потенциальный фактор предрасположенности к заболеванию [1–3].

В нейровоспалительной активности при БП существенную роль играет T-клеточное звено иммунной системы [4]. В настоящее время активно изучается гетерогенная суб-

популяция $\gamma\delta$ T-лимфоцитов, доминирующая в слизистых оболочках и коже, сочетающая свойства и функции клеток как врождённого, так и адаптивного иммунитета.

Закладка эпителия тимуса происходит на 6-й неделе развития плода. Клетки-предшественники, мигрирующие в тимус из фетальной печени на 8-й неделе эмбрионального развития, созревают в $\gamma\delta$ T-клетки с ограниченной вариабельностью T-клеточного рецептора (T-cell receptor, TCR), эмигрируют из тимуса в эмбриональном периоде в кожу, слизистые оболочки языка и репродуктивную систему, в последующем самостоятельно поддерживаются локально. Потомки клеток-предшественников второй волны миграции из фетальной печени в тимус не покидают его, образуя резерв для срочной регенерации (при стрессе, воздействии

повреждающих факторов). Позже в тимусе формируются $\gamma\delta$ T-лимфоциты с более широким спектром специфичностей TCR, покидающие тимус после рождения (до 13 сут) и заселяющие слизистые оболочки различных органов.

После рождения прекоммитированные к развитию в Т-клетки лимфоциты, покидая костный мозг, мигрируют в тимус, где проходят основные этапы развития [5]. Этапы дифференцировки в тимусе включают стадию дубль-негативных CD4⁻CD8⁻-клеток (DN), более зрелая популяция имеет фенотип CD4⁺CD8⁺ — дубль-позитивные клетки, они слабо экспрессируют на мембране CD3. Зрелые тимоциты, как и периферические Т-клетки, экспрессируют один из корцепторов: CD3⁺CD4⁺CD8⁻-хелперы, CD3⁺CD4⁻CD8⁺-цитотоксические Т-лимфоциты. На стадии DN происходит дивергенция тимоцитов к дифференцировке в различные линии $\alpha\beta$ или $\gamma\delta$, запускается основное событие дифференцировки Т-лимфоцитов — реаранжировка V-генов TCR в последовательности δ , γ , β [6]. Уже на стадии DN3 тимоцит экспрессирует $\gamma\delta$ TCR и быстро эмигрирует из тимуса. У человека вариабельные домены $\gamma\delta$ TCR кодируются тремя основными V δ -генами и не менее чем шестью V γ -генами, что обуславливает высокий полиморфизм $\gamma\delta$ TCR, большой потенциал к формированию разнообразных лиганд-связывающих участков [7]. Не более 5% от общего числа покинувших тимус Т-лимфоцитов составляют $\gamma\delta$ T-клетки. Большинство Т-клеток имеют TCR, которые содержат α - и β -цепи, взаимодействуют с пептидными антигенами, представляемыми в комплексе с молекулами системы HLA антигенпрезентирующими клетками (классические Т-лимфоциты). Популяция $\gamma\delta$ T-лимфоцитов экспрессирует уникальный Т-клеточный рецептор, способный распознавать собственные и чужеродные антигены непептидной природы в отсутствие необходимых для презентации молекул I или II классов системы HLA [8].

$\gamma\delta$ T-лимфоциты впервые были описаны в середине 1980-х гг. [9, 10]. В периферической крови взрослого человека $\gamma\delta$ T-клетки составляют около 5% общего числа CD3⁺-Т-лимфоцитов. Во всех лимфоидных органах (тимус, селезенка, лимфатические узлы, миндалины), в эпителии репродуктивных органов, респираторного тракта, языка общее содержание $\gamma\delta$ T-клеток также составляет менее 5% зрелых Т-лимфоцитов [11, 12]. Существуют корреляции экспрессии $\gamma\delta$ TCR с определенными анатомическими зонами. Так, резидентные $\gamma\delta$ T-клетки с вариантами CD3⁺V δ 1⁺-TCR или CD3⁺V δ 3⁺-TCR доминируют в слизистых оболочках желудочно-кишечного, респираторного и урогенитального трактов, в крови основная субпопуляция Т-лимфоцитов имеет V γ 9V δ 2-TCR [13].

Активация и функциональная активность $\gamma\delta$ T-клеток определяется экспрессией на мембране различных рецепторов, в том числе рецепторов клеток врожденного иммунитета. Так, $\gamma\delta$ T-клетки экспрессируют активационные рецепторы натуральных клеток-киллеров NKG2D, которые при взаимодействии с лигандами — белковыми молекулами, «инфицированных» внутриклеточными возбудителями и опухолевых клеток, реализуют цитотоксическую функцию, т.е. противовирусную, противоопухолевую защиту. Киллинг этих клеток-мишеней $\gamma\delta$ T-лимфоцитами через индукцию апоптоза, опосредованный перфорин-гранзим, Fas-Fas-лиганд, TNF-TNFR1 (tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1A) взаимодействием — особенностью этой субпопуляции лимфоцитов. Активация супрессиру-

ющих рецепторов CD94/NKG2A и CD94/NKG2C на мембране $\gamma\delta$ T-клеток подавляет киллинг клеток-мишеней [14].

На мембране $\gamma\delta$ T-клеток определены рецепторы, распознающие патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (общие структурные особенности, свойственные группам молекул чужеродных и опасных микроорганизмов): Толл-подобные рецепторы (TLR), рецепторы к полисахаридам бактерий, грибам, CD36, скэвенджер-рецепторы, обуславливающие участие этих клеток в антибактериальной защите. При контактах с бактериями эта субпопуляция может менять регуляторную функцию (продукция цитокинов) на антигенпрезентирующую, т.к. экспрессирует антигены HLAII класса, необходимые для эффективной презентации антигенов классическим CD4⁺-Т-хелперам, что свидетельствует о функциональной пластичности $\gamma\delta$ T-клеток. Популяция V γ 9V δ 2 Т-лимфоцитов распознает фосфатные антигены pAgs, которые имеют микробное происхождение или являются эндогенными промежуточными продуктами мевалонатного пути (изопренилпирофосфат) и накапливаются в клетках, «инфицированных» вирусами, и опухолевых клетках. V γ 9V δ 2 Т-лимфоциты осуществляют иммунный надзор, инициируя поликлональные ответы на pAgs после взаимодействия TCR с экспрессированным на клетке-мишени бутирофилином — членом семейства BTN3A1/CD277 [15].

$\gamma\delta$ T-клетки экспрессируют на мембране рецепторы цитокинов интерлейкинов (ИЛ) -2R, -15R, -23R и др., которые активируют и способствуют реализации функциональной активности или супрессируют эффекторные функции этих клеток, в том числе пролиферативную и регуляторную [8]. Активация $\gamma\delta$ T-клеток через TCR стимулирует продукцию интерферона- γ (ИФН- γ), ИЛ-17, фактора некроза опухоли (ФНО), CCL3/4, CCL5, которые являются промоторами активации и миграции других клеток иммунной системы в зону воспаления; активация через костимуляторные молекулы CD27, CD30 способствует продукции ИФН- γ и ИЛ-4. Функциональные фенотипы $\gamma\delta$: $\gamma\delta$ T1-клетки, продуцирующие ИФН- γ , и $\gamma\delta$ T17-клетки, синтезирующие ИЛ-17, генерируются в течение пренатального тимического развития.

Коммитированная к продукции ИЛ-17 субпопуляция $\gamma\delta$ T-лимфоцитов характеризуется экспрессией ИЛ-23R, CCR6 и отсутствием CD27 на клеточной мембране. Супрессия нейроиммунного воспаления при БП реализует противовоспалительный цитокин ИЛ-10, в крови он продуцируется клетками врожденного иммунитета (дендритными, макрофагами, эозинофилами, нейтрофилами, тучными клетками, NK-клетками) и клетками адаптивного иммунитета — Т-хелперами: Th1, T2, Th17, Т- и В-регуляторными клетками [16, 17]. В центральной нервной системе ИЛ-10 экспрессируется клетками микроглии, астроцитами и нейронами [18, 19]. ИЛ-10 ингибирует продукцию ФНО, ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12 и ИЛ-23, пролиферацию и синтез цитокинов Th1 (ИЛ-2 и ИФН- γ), Th2 (ИЛ-4, ИЛ-5), но не супрессирует синтез ИЛ17 Th17 [20, 21].

Роль $\gamma\delta$ T-клеток в иммунном ответе на чужеродные антигены, противоопухолевой защите, патогенезе аутоиммунных заболеваний характеризуется некоторыми особенностями. $\gamma\delta$ T-клетки способны распознавать различные типы антигенов, спонтанно продуцировать цитокины, обладают различными и уникальными функциями, в том числе антигенпрезентирующей, привержены к определённой

анатомической локализации. Им принадлежит решающая роль в защите от специфических патогенов, они способны к активации дендритных клеток.

Несмотря на то, что $\gamma\delta$ T-клетки являются «минорной» субпопуляцией, между их количеством и вариантами течения/исходами заболеваний были выявлены значимые корреляции [22–24]. Так, содержание $\gamma\delta$ T-клеток резко возрастает (до 60% от общего количества T-клеток) в крови больных с различными инфекционными заболеваниями [25–27]. $\gamma\delta$ T-лимфоциты первыми запускают иммунный ответ при острых инфекциях (сальмонеллез, туляремия, листериоз, токсоплазмоз). Внедрение возбудителей активирует $\gamma\delta$ T-клетки, что сопровождается продукцией цитокинов: ИФН- γ при *Listeria monocytogenes* и ИЛ-4 при *Nippostrongylus brasiliensis*. На экспериментальных моделях инфекционных и аутоиммунных заболеваний было показано, что $\gamma\delta$ T-клетки являются основными продуцентами ИЛ-17 [28], который инициирует воспалительные реакции, стимулируя созревание и рекрутирование нейтрофилов из костного мозга [29]. Кроме того, на ранних стадиях рассеянного склероза также описано повышенное содержание $\gamma\delta$ T-клеток (до 20–30% общего количества T-клеток) [30].

В 1994 г. U. Fiszer и соавт. впервые показали, что у пациентов с БП содержание $\gamma\delta$ T-лимфоцитов как в периферической крови, так и в ликворе было выше, чем у пациентов с другими неврологическими заболеваниями [31]. Стимулом к изучению субпопуляций T-лимфоцитов при БП послужили исследования, определившие важный вклад системного воспаления в патогенез БП.

Среди возможных «регуляторов» системного воспаления при БП кишечная микробиота в последние годы стала одним из самых популярных объектов исследования. Подробное изучение её состава стало возможным благодаря внедрению в практику современных методов лабораторной диагностики. Кишечная микробиота находится в тесном контакте с эпителиальным барьером кишечника, подавляющее число иммунных процессов происходит в барьерных тканях, которые подвергаются постоянной антигенной нагрузке. Эпителиальные клетки экспрессируют рецепторы, взаимодействие которых с микроорганизмами приводит к активации и продукции противомикробных пептидов, синтезу цитокинов, усилению экспрессии на эпителиальных корепепторов для клеток иммунной системы. М-клетки эпителиального слоя контролируют перенос через барьер чужеродного материала. Такой контролируемый «трафик» необходим для сигнализации иммунной системе о дисбалансе микробиоты. В подэпителиальной рыхлой соединительной ткани *lamina propria* (собственная пластинка) диффузно расположены клетки врожденного иммунитета, под эпителием в *lamina propria* — «изолированные лимфоидные фолликулы» с T-, B-клеточными зонами и герминативным центром, где присутствуют $\alpha\beta$ TCR CD4⁺-T-хелперы (Th1, Th2, Th17) и продуцирующие ИЛ-10 T-регуляторные клетки, а также V-лимфоциты. Доставляемый М-клетками в фолликулы антигенный материал запускает адаптивный (специфический) иммунный ответ с участием региональных лимфатических образований (аппендикс, миндалины, пейеровы бляшки и др.), локальный иммунный ответ переходит на системный уровень [32].

Эволюция организма-хозяина проходила совместно с бактериями-комменсалами кишечника с целью реали-

зации симбиотических отношений посредством синтеза и реагирования на некоторые общие медиаторы. Результатом совместной эволюции явилось расширение функций микробиоты: её участие в метаболизме нерасщепляемых углеводов, обеспечении хозяина энергоносителями (АТФ), жирными и желчными кислотами, в синтезе витаминов, конкуренции с патогенными микроорганизмами, предотвращении колонизации ими кишечного тракта хозяина и стимуляции его мукозального иммунитета. Кишечник стал местом синтеза веществ, способных влиять на секрецию гормонов, работу нервной и иммунной систем посредством синтеза нейромедиаторов, метаболитов и жирных кислот.

Для объяснения влияния микробиоты кишечника на физиологию хозяина были предложены три механизма [33]:

- секреция нейромедиаторов, нейропептидов и метаболитов, которые могут непосредственно стимулировать рецепторы в нейронах кишечной нервной системы, тем самым вызывая и/или модулируя нервные сигналы, непосредственно влияющие на физиологию кишечника, или мигрировать через блуждающий нерв в центральную нервную систему;
- возможность метаболитов и гормонов, производимых микробиотой в кишечном тракте, диффундировать через стенку кишечника в портальную систему и оказывать влияние дистантно;
- стимуляция медиаторами, продуцируемыми кишечной микробиотой (короткоцепочечными жирными кислотами), рецепторов, экспрессированных на мембране клеток иммунной системы, — таким образом, микробиота участвует в регуляции иммунного ответа как на локальном, так и на системном уровнях.

Ранее с использованием метода газовой хроматографии, совмещённого с масс-спектрометрией, нами было показано, что у пациентов с развёрнутой стадией БП в пристеночном слое кишечника отмечается увеличение общего количества микробных маркеров на 43% по сравнению с группой контроля [34]. Увеличение происходило за счет двукратного повышения количества маркеров условно-патогенной микрофлоры, что сопровождалось снижением вдвое количества микробных маркеров полезной микрофлоры.

В случае развития клинически значимых запоров у пациентов с БП количество бактерий в кишечнике увеличивается, приводя к развитию синдрома избыточного бактериального роста. Показано, что этот синдром коррелирует с тяжестью двигательных расстройств, нарушениями ходьбы, застоями и выраженностью моторных флуктуаций [35]. Полученные корреляции, в первую очередь, объясняются снижением биодоступности (поступления из кишечника в кровь) противопаркинсонических препаратов на фоне синдрома избыточного бактериального роста [36]. Данная теория подтверждается результатами исследований, проведённых V. Maini Rekdal и соавт. [37]. Ими была продемонстрирована способность *Enterococcus faecalis* декарбоксиллировать леводопу до дофамина, а также возможность дальнейшего дегидроксилирования дофамина до тирамина бактерией *Eggerthella lenta*.

Цель исследования — изучение субпопуляций лимфоцитов, неклассических $\gamma\delta$ T-лимфоцитов и продукции цитокинов у пациентов с третьей стадией БП, испытывающих моторные флуктуации.

Материалы и методы

В исследование были включены 20 пациентов (11 мужчин и 9 женщин; средний возраст $69,0 \pm 4,5$ года) с БП, получающих комбинированную дофаминергическую терапию: препараты леводопы + агонисты дофаминовых рецепторов, средняя эквивалентная доза леводопы составила $730,4 \pm 150,6$ мг/сут. С учётом предполагаемой роли хронического запора у пациентов с БП в поддержании дисбиотических состояний и хронического воспаления наличие запоров являлось критерием включения пациента в исследование.

Критерии включения:

- 3 стадия по шкале Хен–Яра;
- наличие моторных флуктуаций;
- наличие симптомов хронического запора.

Наличие моторных флуктуаций определяли с помощью краткого опросника для выявления феномена истощения действия дозы леводопы (WOQ-9) [38].

Верификация хронического запора у пациентов с БП проводилась согласно клиническим рекомендациям Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению взрослых пациентов с хроническим запором [39].

Группу контроля составили 20 пациентов (8 мужчин и 12 женщин; средний возраст $67,0 \pm 2,5$ года) с хроническими цереброваскулярными заболеваниями (дисциркуляторная энцефалопатия I и II стадий).

Критерии невключения:

- верифицированные заболевания крови, желудочно-кишечного тракта, эндокринных органов;
- больные, имеющие оценку по Монреальской когнитивной шкале менее 26 баллов.

У всех пациентов определяли субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови и уровень цитокинов. Кровь для исследования брали из локтевой вены, в качестве антикоагулянта использовали ЭДТА. Для визуализации субпопуляций лимфоцитов использовали моноклональные антитела: HLADR-FITC, CD4-PE, CD3-ECD, CD56-PC5.5, CD25-PC7, CD8-APC, CD19-APC-AF700, CD45-APC-AF750. В качестве лизирующего раствора использовали VersaLyse. Пробы анализировали на проточном цитофлюориметре «Navios» в многоцветном протоколе (прибор и реактивы «Beckman Coulter»). Популяцию лимфоцитов оценивали как CD45+brightSSdim-клетки. Анализ образцов проводили при наборе 5000 событий в лимфоцитарном регионе.

Субпопуляции В-лимфоцитов выявляли с использованием моноклональных антител CD19-FITC, CD27-PE, CD5-PC5. Пробы анализировали на проточном цитофлюориметре «Cytomics FC 500» в многоцветном протоколе (прибор и реактивы «Beckman Coulter»). Популяцию лимфоцитов оценивали как FSdimSSdim-клетки. Анализ образцов проводили при наборе 5000 событий в лимфоцитарном регионе.

При определении субпопуляций $\gamma\delta$ T-лимфоцитов использовали моноклональные антитела CD4-FITC, CD8-PE, CD3-ECD, TCR $\gamma\delta$ -PC5, CD8-APC, CD45-APC-AF750.

После лизиса эритроцитов пробы отмывали центрифугированием в фосфатно-солевом буфере при 1500 об/мин в течение 5 мин. Пробы анализировали на проточном цитофлюориметре «Navios» в многоцветном протоколе (прибор и реактивы «Beckman Coulter»). Популяцию лимфоцитов оценивали как CD45+brightSSdim-клетки. Анализ образцов проводили при наборе 5000 событий в лимфоцитарном регионе. В связи с отсутствием референсных значений для субпопуляций $\gamma\delta$ T-лимфоцитов оценку изменений проводили путём сравнения двух групп.

Уровни цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО, ИЛ-10 в культуральных средах (спонтанная, индуцированная продукция) и в сыворотке определяли с использованием наборов реагентов для иммуноферментного анализа (АО «Вектор-Бест», Международный сертификат ISO 13485). Чувствительность набора для определения ИЛ-6 не превышает 0,5 пг/мл, для ИЛ-1 β , ФНО, ИЛ-10 — 1,0 пг/мл.

Статистическую обработку проводили в программе «Statistica 8.0». Для выявления различий применяли непараметрический критерий Манна–Уитни, для выявления зависимости — коэффициент корреляции Спирмена. Результаты статистического анализа считали значимыми при $p < 0,05$. Результаты представлены в виде: медиана [1-й квартиль; 3-й квартиль].

Результаты

При исследовании лимфоцитов периферической крови выявлено, что количественные характеристики популяций лимфоцитов, определённых у пациентов с БП и у лиц группы сравнения, не выходили за границы референсного интервала. Однако общее количество зрелых CD3⁺T-лимфоцитов в группе пациентов с БП было значимо ниже, чем в группе сравнения (табл. 1). По количеству CD3⁺CD4⁺-Т-хелперов и CD3⁺CD8⁺-Т-цитотоксических лимфоцитов группы были сопоставимы. Количество CD3⁺CD56⁺-ТНК-клеток в группе пациентов с БП было достоверно ниже, чем в группе сравнения. При этом в группе пациентов с БП количество CD3⁺CD56⁺-NK-клеток было значимо выше, чем в группе сравнения. Кроме того, в основной группе выявлено значимое повышение количества активированных CD3⁺CD8⁺-NK-клеток. Общее количество В-лимфоцитов, количество В1-лимфоцитов было сопоставимо в обеих группах, однако у пациентов с БП значимо снижено количество CD19⁺CD27⁺-В-клеток памяти.

При оценке субпопуляций $\gamma\delta$ T-лимфоцитов выявлено, что количество Т-хелперов CD4⁺CD8⁻-TCR $\gamma\delta$ было достоверно меньше в группе пациентов с БП, чем в группе сравнения (табл. 2). В отношении остальных субпопуляций Т-лимфоцитов значимых различий между группами не выявлено.

При исследовании уровней цитокинов в группе пациентов с БП обнаружено значимое повышение индуцированной продукции ИЛ-1 β , а также высокая спонтанная продукция ИЛ-10 (табл. 3). Уровень медианы индуцированной продукции ИЛ-10 в исследуемой группе не выходил за границы референсных значений, однако следует отметить сильный разброс полученных результатов, что требует отдельного анализа и, возможно, определяет гетерогенность течения БП.

Таблица 1. Результаты иммунофенотипирования лимфоцитов периферической крови, % (Me [Q₁; Q₃])

Table 1. Results of immunophenotyping peripheral blood lymphocytes, % (Me [Q₁; Q₃])

Лимфоциты Lymphocytes	Норма Normal	БП PD	Группа сравнения Comparison group	Критерий Манна-Уитни Mann-Whitney test
CD3 ⁺	52–76	74,0 [60,0; 77,0]	80,0 [75,0; 82,0]	0,014
CD3 ⁺ CD56 ⁺	0,1–8	4,7 [2,7; 5,2]	7,8 [3,4; 14,2]	0,038
CD3 ⁺ CD4 ⁺	31–46	45,0 [39,0; 53,6]	49,2 [43,0; 60,0]	0,274
CD3 ⁺ CD8 ⁺	23–40	24,3 [20,0; 32,0]	26,4 [20,0; 32,0]	0,722
CD4 ⁺ CD8 ⁺	0,1–1,1	1,5 [0,7; 3,7]	1,0 [0,6; 1,5]	0,285
CD3 ⁺ CD8 ⁺	1,5–6	7,0 [5,4; 9,1]	3,5 [2,3; 4,1]	0,001
CD3 ⁺ CD56 ⁺	9–19	16,4 [13,2; 21,6]	8,7 [7,0; 13,0]	0,001
CD3 ⁺ -TCRγδ	2–7	1,8 [1,2; 3,5]	1,4 [1,1; 3,1]	0,602
CD19 ⁺	6–18	7,5 [5,0; 11,0]	13,0 [10,0; 16,0]	0,194
CD19 ⁺ CD5 ⁺	0–3,5	1,4 [0,5; 1,9]	2,5 [1,7; 3,3]	0,451
CD19 ⁺ CD27 ⁺	2–7	2,0 [1,7; 2,6]	4,7 [3,1; 6,3]	0,031

Таблица 2. Результаты иммунофенотипирования γδТ-лимфоцитов, % (Me [Q₁; Q₃])

Table 2. Results of immunophenotyping γδT cells, % (Me [Q₁; Q₃])

Показатель Parameter	БП PD	Группа сравнения Comparison group	Критерий Манна-Уитни Mann-Whitney test
CD4 ⁺ CD8 ⁺	25,1 [22,2; 35,5]	19,1 [18,0; 27,3]	0,250
CD4 ⁺ CD8 ⁺ CD56 ⁺	17,6 [10,3; 32,1]	43,4 [21,9; 50,8]	0,052
CD4 ⁺ CD8 ⁻	13,6 [8,4; 19,5]	29,8 [17,0; 37,7]	0,016
CD4 ⁺ CD8 ⁻ CD56 ⁺	2,9 [1,5; 7,5]	4,2 [1,5; 10,9]	0,660
CD4 ⁺ CD8 ⁻	57,4 [52,8; 67,6]	47,9 [37,2; 58,7]	0,163
CD4 ⁺ CD8 ⁻ CD56 ⁺	23,6 [13,5; 40,0]	22,5 [9,8; 39,5]	0,827
CD3 ⁺ CD56 ⁺	15,6 [9,0; 20,9]	20,2 [13,6; 33,8]	0,155
CD3 ⁺ CD56 ⁻	78,7 [64,6; 84,3]	78,0 [64,7; 83,0]	0,743

Таблица 3. Результаты оценки уровней цитокинов у пациентов с БП, пг/мл (Me [Q₁; Q₃])

Table 3. Results of measuring cytokine levels in patients with PD, pg/ml (Me [Q₁; Q₃])

Показатель Parameter	Норма Normal	Результаты Results
ИЛ-1β / IL-1β		
спонтанная продукция / spontaneous production	0–107	2,3 [1; 8]
индуцированная продукция / induced production	50–1200	1796,0 [491; 3181]
содержание в сыворотке / content in serum	0–11	1,5 [1; 4]
ИЛ-6 / IL-6		
спонтанная продукция / spontaneous production	30–280	1,0 [1; 1]
индуцированная продукция / induced production	11 450–42 200	11249,5 [8951; 14041]
содержание в сыворотке / content in serum	0–10	1,0 [1; 1]
ФНО / Tumor necrosis factor		
спонтанная продукция / spontaneous production	7–30	1,0 [1; 4]
индуцированная продукция / induced production	2810–5700	2532,5 [931; 10199]
содержание в сыворотке / content in serum	0–6	8,5 [1; 56]
ИЛ-10 / IL-10		
спонтанная продукция / spontaneous production	0–23	227,5 [13; 482]
индуцированная продукция / induced production	66–335	241,0 [94; 447]
содержание в сыворотке / content in serum	0–31	2 [1; 5]

Таблица 4. Результаты корреляционного анализа содержания CD4⁺CD8⁻-TCRγδ субпопуляции Т-хелперов и ИЛ-1β, ИЛ-10Table 4. Results of the correlation analysis between the TCRγδ CD4⁺CD8⁻ subpopulation numbers and the IL-1β, IL-10 numbers

Показатель Parameter	CD4 ⁺ CD8 ⁻ -TCRγδ субпопуляция Т-хелперов TCRγδ CD4 ⁺ CD8 ⁻ subpopulation of T helper cells	
	r	p
ИЛ-1β IL-1β	0,648	0,042
ИЛ-10, индуцированная продукция IL-10, induced production	-0,745	0,048
ИЛ-10, спонтанная продукция IL-10, spontaneous production	-0,602	0,0506

Корреляционный анализ субпопуляции Т-хелперов CD4⁺CD8⁻-TCRγδ и цитокинов в группе пациентов с БП продемонстрировал наличие достоверной обратной зависимости этой субпопуляции Т-хелперов с индуцированной продукцией ИЛ-10 и достоверной прямой зависимости с содержанием провоспалительного цитокина ИЛ-1β (табл. 4). Кроме того, была выявлена тенденция к повышению спонтанной продукции ИЛ-10 при снижении Т-хелперов CD4⁺CD8⁻-TCRγδ.

Обсуждение

Среди отечественных трудов, посвящённых изучению субпопуляционного состава лимфоцитов и клеток врождённого иммунитета у пациентов с БП, представляют интерес данные, изложенные Е.В. Бочаровым и соавт. [40]. Ими были выявлены следующие изменения: снижение общего числа Т-лимфоцитов (CD3⁺), преимущественно за счёт Т-хелперов (CD4⁺), CD4⁺/CD8⁺-иммунорегуляторного индекса, а также снижение В-лимфоцитов (CD20⁺) и количества лимфоцитов, экспрессирующих HLA-DR (антигены HLA II), что сочеталось с увеличением количества лимфоцитов с экспрессией рецептора к ИЛ-2 (CD25⁺) и количества клеток, несущих на мембране CD95⁺ — маркер готовности к апоптозу. Врождённый иммунитет характеризовался увеличением количества макрофагов (CD11b⁺ и CD18⁺) и натуральных киллеров (NK16⁺). Общими изменениями в субпопуляционном составе лимфоцитов крови, выявленными в исследовании цитируемых авторов и в нашей работе, являются снижение Т-лимфоцитов у пациентов с БП, увеличение в крови CD3⁺CD56⁺-NK-клеток, наличие параметров активности иммунного ответа: увеличение количества лимфоцитов, экспрессирующих маркер ранней активации в CD25⁺, а в нашей работе — увеличение количества активированных NK-клеток, значимое повышение индуцированной продукции провоспалительного цитокина ИЛ-1β.

Компоненты клеточной стенки и внутреннего содержания комменсалов и патогенов распознаются TLR эпителия и клетками врождённого иммунитета [41], а микробиота непрерывно сигнализирует мукозассоциированной лимфоидной ткани и поддерживает барьерный иммунитет в состоянии хронической активации. Однако микробиота обладает и иммуносупрессивными/толерогенными свойствами. *Bacteroides fragilis* при взаимодействии с TLR2 на

клетках врождённого иммунитета может блокировать их провоспалительную активность [32]. Микробиота может активировать комменсал-специфические Т-регуляторные клетки, что приводит к продукции ими противовоспалительного цитокина ИЛ-10 [42]. Таким образом, эти процессы обусловлены взаимодействием микробиоты, барьерного эпителия и клеток врождённого и адаптивного иммунитета в сайте воспаления.

С. Zhou и соавт. продемонстрировали снижение в крови пациентов с более тяжёлым течением БП (по шкале UPDRS) количества TNK и γδТ-лимфоцитов в сравнении с этими показателями у здоровых лиц [43]. В нашем исследовании количество CD4⁺CD8⁻-TCRγδ в периферической крови было достоверно меньше в группе пациентов с БП и сочеталось с aberrантной спонтанной продукцией ИЛ-10. Спонтанная продукция цитокинов γδТ-лимфоцитами участвует в поддержании баланса между воспалением и толерантностью [14]. Известно, что основными продуцентами ИЛ-10 являются Т-регуляторные клетки с TCR, представленным αβ- или γδ-цепями, а также В-регуляторные клетки. Вероятно, выраженная спонтанная продукция ИЛ-10 у пациентов с БП связана в том числе с повышенной активностью CD4⁺CD8⁻-TCRγδ клеток, а именно с регуляторной субпопуляцией.

Известны работы, в которых показано, что количество Т-лимфоцитов меняется в процессе прогрессирования нейродегенерации при БП. Более того, показана взаимосвязь уровня так называемых α-синуклеин-реактивных Т-лимфоцитов со стадией заболевания, возрастом пациента, а также дозой леводопы [44]. α-Синуклеин-реактивные Т-лимфоциты появляются на премоторной стадии БП, достигают максимума на этапе развития моторных симптомов и значительно снижаются на развёрнутых стадиях. Нельзя исключать, что уровень γδТ-клеток также меняется в процессе прогрессирования БП, а принимая во внимание роль данных клеток в антибактериальной защите, можно предположить, что эти изменения могут быть связаны и с составом микробиоты.

Таким образом, полученные нами данные позволяют по-новому оценить вклад γδТ-клеток в патогенез БП, указывают на их роль в прогрессировании заболевания, а также на взаимосвязь с изменениями (качественными и количественными) кишечной микробиоты при этой патологии.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Литвиненко И.В., Красаков И.В., Бисага Г.Н. и др. Современная концепция патогенеза нейродегенеративных заболеваний и стратегия терапии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2017;6:2-3-10. DOI: 10.17116/jnevro2017117623-10.
2. Czlonkowska A., Kurkowska-Jastrzebska I., Czlonkowski A. et al. Immune processes in the pathogenesis of Parkinson's disease — a potential role for microglia and nitric oxide. *Med Sci Monit*. 2002;8(8):RA165–RA177. PMID: 12165754.
3. Whitton P.S. Inflammation as a causative factor in the aetiology of Parkinson's disease. *Br J Pharmacol*. 2007;150(8):963–976. DOI: 10.1038/sj.bjp.0701767. PMID: 17339843.
4. Chen Z., Chen S., Liu J. The role of T cells in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Prog Neurobiol*. 2018;169:1–23. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2018.08.002. PMID: 30114440.
5. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.
6. Janeway C.A. Jr., Travers P., Walport M., Shlomchik M.J. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th edition. New York: Garland Science, 2001.
7. Нижегородова Д.Б., Зафранская М.М. $\gamma\delta$ T-Лимфоциты: общая характеристика, субпопуляционный состав, биологическая роль и функциональные особенности. *Медицинская иммунология*. 2009;11(2–3):115–130. DOI: 10.15789/1563-0625-2009-2-3-115-130.
8. Hedges J.F., Jutila M.A. Harnessing $\gamma\delta$ T cells as natural immune modulators. *Mucosal Vaccines*. 2020;773–787. DOI: 10.1016/B978-0-12-811924-2.00046-8.
9. Saito H., Kranz D.M., Takagaki Y. et al. Complete primary structure of a heterodimeric T-cell receptor deduced from cDNA sequences. *Nature*. 1984;309(5971):757–62. DOI: 10.1038/309757a0. PMID: 6330561.
10. Chien Y.H., Iwashima M., Kaplan K.B. et al. A new T-cell receptor gene located within the alpha locus and expressed early in T-cell differentiation. *Nature*. 1987;327(6124):677–682. DOI: 10.1038/327677a0. PMID: 2439914.
11. Groh V., Porcelli S., Fabbri M. et al. Human lymphocytes bearing T cell receptor gamma/delta are phenotypically diverse and evenly distributed throughout the lymphoid system. *J Exp Med*. 1989;169(4):1277–1294. DOI: 10.1084/jem.169.4.1277. PMID: 2564416.
12. Parker C.M., Groh V., Band H. et al. Evidence for extrathymic changes in the T cell receptor gamma/delta repertoire. *J Exp Med*. 1990;171(5):1597–1612. DOI: 10.1084/jem.171.5.1597. PMID: 2185330.
13. McCarthy N.E., Hedin C.R., Sanders T.J. Azathioprine therapy selectively ablates human $V\delta 2^+$ T cells in Crohn's disease. *J Clin Invest*. 2015;125(8):3215–3225. DOI: 10.1172/JCI80840. PMID: 26168223.
14. Paul S., Singh A.K., Lal S., Lal G. Phenotypic and functional plasticity of gamma-delta ($\gamma\delta$) T cells in inflammation and tolerance. *Int Rev Immunol*. 2014;33(6):537–558. DOI: 10.3109/08830185.2013.863306. PMID: 24354324.
15. Harly C., Guillaume Y., Nedellec S. Key implication of CD277/butyrophilin-3 (BTN3A) in cellular stress sensing by a major human $\gamma\delta$ T-cell subset. *Blood*. 2012;120(11):2269–2279. DOI: 10.1182/blood-2012-05-430470. PMID: 22767497.
16. Moore K.W., de Waal Malefyt R., Coffman R.L., O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol*. 2001;19:683–765. DOI: 10.1146/annurev.immunol.19.1.683. PMID: 11244051.
17. Saraiva M., O'Garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nat Rev Immunol*. 2010;10(3):170–181. DOI: 10.1038/nri2711. PMID: 20154735.
18. Gutierrez J., Raju S., Riley J.P., Boulis N.M. Introduction to neuropathic pain syndromes. *Neurosurg Clin N Am*. 2014;25(4):639–662. DOI: 10.1016/j.nec.2014.06.002. PMID: 25240654.
19. Tarazi F.I., Sahli Z.T., Wolny M., Mousa S.A. Emerging therapies for Parkinson's disease: from bench to bedside. *Pharmacol Ther*. 2014;144(2):123–133. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2014.05.010. PMID: 24854598.
20. Naundorf S., Schröder M., Höflich C. et al. IL-10 interferes directly with TCR-induced IFN-gamma but not IL-17 production in memory T cells. *Eur J Immunol*. 2009;39(4):1066–1077. DOI: 10.1002/eji.200838773. PMID: 19266486.
21. Sabat R., Grütz G., Warszawska K. Biology of interleukin-10. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2010;21(5):331–344. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2010.09.002. PMID: 21115385.
22. Moore T.A., Moore B.B., Newstead M.W., Standiford T.J. Gamma delta-T cells are critical for survival and early proinflammatory cytokine gene expression during murine Klebsiella pneumonia. *J Immunol*. 2000;165(5):2643–2650. DOI: 10.4049/jimmunol.165.5.2643. PMID: 10946293.
23. Toth B., Alexander M., Daniel T. et al. The role of gammadelta T cells in the regulation of neutrophil-mediated tissue damage after thermal injury. *J Leukoc Biol*. 2004;76(3):545–552. DOI: 10.1189/jlb.0404219. PMID: 15197233.
24. Koohsari H., Tamaoka M., Campbell H.R., Martin J.G. The role of gamma delta T cells in airway epithelial injury and bronchial responsiveness after chlorine gas exposure in mice. *Respir Res*. 2007;8(1):21. DOI: 10.1186/1465-9921-8-21. PMID: 17343743.
25. Balbi B., Valle M.T., Oddera S. et al. T-lymphocytes with gamma delta+ V delta 2+ antigen receptors are present in increased proportions in a fraction

References

1. Litvinenko I.V., Krasakov I.V., Bisaga G.N. et al. Modern conception of the pathogenesis of neurodegenerative diseases and therapeutic strategy. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 2017;6:2-3-10. DOI: 10.17116/jnevro2017117623-10. PMID: 28980606. (In Russ.)
2. Czlonkowska A., Kurkowska-Jastrzebska I., Czlonkowski A. et al. Immune processes in the pathogenesis of Parkinson's disease — a potential role for microglia and nitric oxide. *Med Sci Monit*. 2002;8(8):RA165–RA177. PMID: 12165754.
3. Whitton P.S. Inflammation as a causative factor in the aetiology of Parkinson's disease. *Br J Pharmacol*. 2007;150(8):963–976. DOI: 10.1038/sj.bjp.0701767. PMID: 17339843.
4. Chen Z., Chen S., Liu J. The role of T cells in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Prog Neurobiol*. 2018;169:1–23. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2018.08.002. PMID: 30114440.
5. Yarin A.A. [Immunologiya]. Moscow: GEOTAR-Media; 2010. (In Russ.)
6. Janeway C.A. Jr., Travers P., Walport M., Shlomchik M.J. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th edition. New York: Garland Science, 2001.
7. Nizhegorodova D.B., Zafranskaya M.M. $\gamma\delta$ T-Lymphocytes: general characteristics, subpopulation profile, biological role, and functional features. *Meditsinskaya immunologiya*. 2009;11(2–3):115–130. DOI: 10.15789/1563-0625-2009-2-3-115-130. (In Russ.)
8. Hedges J.F., Jutila M.A. Harnessing $\gamma\delta$ T cells as natural immune modulators. *Mucosal Vaccines*. 2020;773–787. DOI: 10.1016/B978-0-12-811924-2.00046-8.
9. Saito H., Kranz D.M., Takagaki Y. et al. Complete primary structure of a heterodimeric T-cell receptor deduced from cDNA sequences. *Nature*. 1984;309(5971):757–62. DOI: 10.1038/309757a0. PMID: 6330561.
10. Chien Y.H., Iwashima M., Kaplan K.B. et al. A new T-cell receptor gene located within the alpha locus and expressed early in T-cell differentiation. *Nature*. 1987;327(6124):677–682. DOI: 10.1038/327677a0. PMID: 2439914.
11. Groh V., Porcelli S., Fabbri M. et al. Human lymphocytes bearing T cell receptor gamma/delta are phenotypically diverse and evenly distributed throughout the lymphoid system. *J Exp Med*. 1989;169(4):1277–1294. DOI: 10.1084/jem.169.4.1277. PMID: 2564416.
12. Parker C.M., Groh V., Band H. et al. Evidence for extrathymic changes in the T cell receptor gamma/delta repertoire. *J Exp Med*. 1990;171(5):1597–1612. DOI: 10.1084/jem.171.5.1597. PMID: 2185330.
13. McCarthy N.E., Hedin C.R., Sanders T.J. Azathioprine therapy selectively ablates human $V\delta 2^+$ T cells in Crohn's disease. *J Clin Invest*. 2015;125(8):3215–3225. DOI: 10.1172/JCI80840. PMID: 26168223.
14. Paul S., Singh A.K., Lal S., Lal G. Phenotypic and functional plasticity of gamma-delta ($\gamma\delta$) T cells in inflammation and tolerance. *Int Rev Immunol*. 2014;33(6):537–558. DOI: 10.3109/08830185.2013.863306. PMID: 24354324.
15. Harly C., Guillaume Y., Nedellec S. Key implication of CD277/butyrophilin-3 (BTN3A) in cellular stress sensing by a major human $\gamma\delta$ T-cell subset. *Blood*. 2012;120(11):2269–2279. DOI: 10.1182/blood-2012-05-430470. PMID: 22767497.
16. Moore K.W., de Waal Malefyt R., Coffman R.L., O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol*. 2001;19:683–765. DOI: 10.1146/annurev.immunol.19.1.683. PMID: 11244051.
17. Saraiva M., O'Garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nat Rev Immunol*. 2010;10(3):170–181. DOI: 10.1038/nri2711. PMID: 20154735.
18. Gutierrez J., Raju S., Riley J.P., Boulis N.M. Introduction to neuropathic pain syndromes. *Neurosurg Clin N Am*. 2014;25(4):639–662. DOI: 10.1016/j.nec.2014.06.002. PMID: 25240654.
19. Tarazi F.I., Sahli Z.T., Wolny M., Mousa S.A. Emerging therapies for Parkinson's disease: from bench to bedside. *Pharmacol Ther*. 2014;144(2):123–133. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2014.05.010. PMID: 24854598.
20. Naundorf S., Schröder M., Höflich C. et al. IL-10 interferes directly with TCR-induced IFN-gamma but not IL-17 production in memory T cells. *Eur J Immunol*. 2009;39(4):1066–1077. DOI: 10.1002/eji.200838773. PMID: 19266486.
21. Sabat R., Grütz G., Warszawska K. Biology of interleukin-10. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2010;21(5):331–344. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2010.09.002. PMID: 21115385.
22. Moore T.A., Moore B.B., Newstead M.W., Standiford T.J. Gamma delta-T cells are critical for survival and early proinflammatory cytokine gene expression during murine Klebsiella pneumonia. *J Immunol*. 2000;165(5):2643–2650. DOI: 10.4049/jimmunol.165.5.2643. PMID: 10946293.
23. Toth B., Alexander M., Daniel T. et al. The role of gammadelta T cells in the regulation of neutrophil-mediated tissue damage after thermal injury. *J Leukoc Biol*. 2004;76(3):545–552. DOI: 10.1189/jlb.0404219. PMID: 15197233.
24. Koohsari H., Tamaoka M., Campbell H.R., Martin J.G. The role of gamma delta T cells in airway epithelial injury and bronchial responsiveness after chlorine gas exposure in mice. *Respir Res*. 2007;8(1):21. DOI: 10.1186/1465-9921-8-21. PMID: 17343743.
25. Balbi B., Valle M.T., Oddera S. et al. T-lymphocytes with gamma delta+ V delta 2+ antigen receptors are present in increased proportions in a fraction

- of patients with tuberculosis or with sarcoidosis. *Am Rev Respir Dis.* 1993;148 (6 Pt 1):1685–1690. DOI: 10.1164/ajrcm/148.6_Pt_1.1685. PMID: 8256920.
26. Bertotto A., Gerli R., Spinozzi F. et al. Lymphocytes bearing the gamma delta T cell receptor in acute Brucella melitensis infection. *Eur J Immunol.* 1993;23(5):1177–1180. DOI: 10.1002/eji.1830230531. PMID: 8477812.
27. Caldwell C.W., Everett E.D., McDonald G. et al. Apoptosis of gamma/delta T cells in human ehrlichiosis. *Am J Clin Pathol.* 1996;105(5):640–646. DOI: 10.1093/ajcp/105.5.640. PMID: 8623774.
28. Chien Y.H., Meyer C., Bonneville M. $\gamma\delta$ T cells: first line of defense and beyond. *Annu Rev Immunol.* 2014;32:121–155. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032713-120216. PMID: 24387714.
29. Stark M.A., Huo Y., Burcin T.L. et al. Phagocytosis of apoptotic neutrophils regulates granulopoiesis via IL-23 and IL-17. *Immunity.* 2005;22(3):285–294. DOI: 10.1016/j.immuni.2005.01.011. PMID: 15780986.
30. Wucherpfennig K.W., Newcombe J., Li H. et al. Gamma delta T-cell receptor repertoire in acute multiple sclerosis lesions. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89(10):4588–4592. DOI: 10.1073/pnas.89.10.4588. PMID: 1374907.
31. Fiszler U., Mix E., Fredrikson S. et al. Gamma delta+ T cells are increased in patients with Parkinson's disease. *J Neurol Sci.* 1994;121(1):39–45. DOI: 10.1016/0022-510x(94)90154-6. PMID: 8133310.
32. Козлов И.Г. Микробиота, мукозальный иммунитет и антибиотики: тонкости взаимодействия. *РМЖ.* 2018;8(1):19–27.
33. Campos-Acuña J., Elgueta D., Pacheco R. T-cell-driven inflammation as a mediator of the gut-brain axis involved in Parkinson's disease. *Front Immunol.* 2019;10:239. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00239. PMID: 30828335.
34. Красаков И.В., Литвиненко И.В., Родионов Г.Г. и др. Оценка микробиоты кишечника у пациентов с болезнью Паркинсона с помощью метода газовой хромато-масс-спектрометрии. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2018;12(4):23–29.
35. Fasano A., Bove F., Gabrielli M. et al. The role of small intestinal bacterial overgrowth in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2013;28(9):1241–1249. DOI: 10.1002/mds.25522. PMID: 23712625.
36. Fasano A., Visanji N.P., Liu L.W. et al. Gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2015;14(6):625–639. DOI: 10.1016/S1474-4422(15)00007-1. PMID: 25987282.
37. Maini Rekdal V., Bess E.N., Bisanz J.E. et al. Discovery and inhibition of an interspecies gut bacterial pathway for Levodopa metabolism. *Science.* 2019;364(6445):eaau6323. DOI: 10.1126/science.aau6323. PMID: 31196984.
38. Stacy M., Bowron A., Guttman M. et al. Identification of motor and non-motor wearing-off in Parkinson's disease: comparison of a patient questionnaire versus a clinician assessment. *Mov Disord.* 2005;20(6):726–733. DOI: 10.1002/mds.20383. PMID: 15719426.
39. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Шептулин А.А. и др. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению взрослых пациентов с хроническим запором. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* 2017;27(3):75–83.
40. Бочаров Е.В., Крыжановский Г.Н., Полещук В.В. и др. Нарушение иммунной и антиоксидантной защиты при болезни Паркинсона. *Патогенез.* 2012;10(1):34–38.
41. Bouskra D., Brézillon C., Bérard M. et al. Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis. *Nature.* 2008;456(7221):507–510. DOI: 10.1038/nature07450. PMID: 18987631.
42. Ubeda C., Pamer E.G. Antibiotics, microbiota, and immune defense. *Trends Immunol.* 2012;33(9):459–466. DOI: 10.1016/j.it.2012.05.003. PMID: 22677185.
43. Zhou C., Zhou X., He D. et al. Reduction of peripheral blood iNKT and $\gamma\delta$ T cells in patients with Parkinson's disease: an observational study. *Front Immunol.* 2020;11:1329. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01329. PMID: 32670293.
44. Lindestam Arlehamn C.S., Dhanwani R., Pham J. et al. α -Synuclein-specific T cell reactivity is associated with preclinical and early Parkinson's disease. *Nat Commun.* 2020;11(1):1875. DOI: 10.1038/s41467-020-15626-w. PMID: 32313102.
- of patients with tuberculosis or with sarcoidosis. *Am Rev Respir Dis.* 1993;148 (6 Pt 1):1685–1690. DOI: 10.1164/ajrcm/148.6_Pt_1.1685. PMID: 8256920.
26. Bertotto A., Gerli R., Spinozzi F. et al. Lymphocytes bearing the gamma delta T cell receptor in acute Brucella melitensis infection. *Eur J Immunol.* 1993;23(5):1177–1180. DOI: 10.1002/eji.1830230531. PMID: 8477812.
27. Caldwell C.W., Everett E.D., McDonald G. et al. Apoptosis of gamma/delta T cells in human ehrlichiosis. *Am J Clin Pathol.* 1996;105(5):640–646. DOI: 10.1093/ajcp/105.5.640. PMID: 8623774.
28. Chien Y.H., Meyer C., Bonneville M. $\gamma\delta$ T cells: first line of defense and beyond. *Annu Rev Immunol.* 2014;32:121–155. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032713-120216. PMID: 24387714.
29. Stark M.A., Huo Y., Burcin T.L. et al. Phagocytosis of apoptotic neutrophils regulates granulopoiesis via IL-23 and IL-17. *Immunity.* 2005;22(3):285–294. DOI: 10.1016/j.immuni.2005.01.011. PMID: 15780986.
30. Wucherpfennig K.W., Newcombe J., Li H. et al. Gamma delta T-cell receptor repertoire in acute multiple sclerosis lesions. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89(10):4588–4592. DOI: 10.1073/pnas.89.10.4588. PMID: 1374907.
31. Fiszler U., Mix E., Fredrikson S. et al. Gamma delta+ T cells are increased in patients with Parkinson's disease. *J Neurol Sci.* 1994;121(1):39–45. DOI: 10.1016/0022-510x(94)90154-6. PMID: 8133310.
32. Kozlov I.G. [Microbiota, mucosal immunity and antibiotics: the fineness of the interaction]. *RMJ.* 2018;8(1):19–27. (In Russ.)
33. Campos-Acuña J., Elgueta D., Pacheco R. T-cell-driven inflammation as a mediator of the gut-brain axis involved in Parkinson's disease. *Front Immunol.* 2019;10:239. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00239. PMID: 30828335.
34. Krasakov I.V., Litvinenko I.V., Rodionov G.G. et al. Evaluation of gut microbiota in Parkinson's disease using gas chromatography with mass spectrometric detection. *Annals of clinical and experimental neurology.* 2018;12(4):23–29. DOI: 10.25692/ACEN.2018.4.3. (In Russ.)
35. Fasano A., Bove F., Gabrielli M. et al. The role of small intestinal bacterial overgrowth in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2013;28(9):1241–1249. DOI: 10.1002/mds.25522. PMID: 23712625.
36. Fasano A., Visanji N.P., Liu L.W. et al. Gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2015;14(6):625–639. DOI: 10.1016/S1474-4422(15)00007-1. PMID: 25987282.
37. Maini Rekdal V., Bess E.N., Bisanz J.E. et al. Discovery and inhibition of an interspecies gut bacterial pathway for Levodopa metabolism. *Science.* 2019;364(6445):eaau6323. DOI: 10.1126/science.aau6323. PMID: 31196984.
38. Stacy M., Bowron A., Guttman M. et al. Identification of motor and non-motor wearing-off in Parkinson's disease: comparison of a patient questionnaire versus a clinician assessment. *Mov Disord.* 2005;20(6):726–733. DOI: 10.1002/mds.20383. PMID: 15719426.
39. Ivashkin V.T., Mayev I.V., Sheptulin A.A. Diagnostics and treatment of chronic constipation in adults: clinical guidelines of the Russian gastroenterological association. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology.* 2017;27(3):75–83. DOI: 10.22416/1382-4376-2017-27-3-75-83. (In Russ.)
40. Bocharov E.V., Kryzhanovsky G.N., Poleschuk V.V. Immune and antioxidant disorders in Parkinson's disease. *Patogenez.* 2012;10(1):34–38. (In Russ.)
41. Bouskra D., Brézillon C., Bérard M. et al. Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis. *Nature.* 2008;456(7221):507–510. DOI: 10.1038/nature07450. PMID: 18987631.
42. Ubeda C., Pamer E.G. Antibiotics, microbiota, and immune defense. *Trends Immunol.* 2012;33(9):459–466. DOI: 10.1016/j.it.2012.05.003. PMID: 22677185.
43. Zhou C., Zhou X., He D. et al. Reduction of peripheral blood iNKT and $\gamma\delta$ T cells in patients with Parkinson's disease: an observational study. *Front Immunol.* 2020;11:1329. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01329. PMID: 32670293.
44. Lindestam Arlehamn C.S., Dhanwani R., Pham J. et al. α -Synuclein-specific T cell reactivity is associated with preclinical and early Parkinson's disease. *Nat Commun.* 2020;11(1):1875. DOI: 10.1038/s41467-020-15626-w. PMID: 32313102.

Информация об авторах

Красаков Игорь Вячеславович — к.м.н., рук. центра экстрапирамидных заболеваний ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова, преподаватель каф. нервных болезней ФГБВОУ ВО ВМедА им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия, orcid.org/0000-0001-6092-0659

Давыдова Наталья Ивановна — к.м.н., с.н.с., зав. лаб. клинической иммунологии отд. клиничко-лабораторной диагностики ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова, Санкт-Петербург, Россия, orcid.org/0000-0001-8644-905X

Калашикова Анастасия Андреевна — к.б.н., с.н.с. лаб. клинической иммунологии отд. клиничко-лабораторной диагностики ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова, Санкт-Петербург, Россия, orcid.org/0000-0002-5338-0866

Литвиненко Игорь Вячеславович — д.м.н., проф., нач. каф. нервных болезней ФГБВОУ ВО ВМедА им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия, orcid.org/0000-0001-8988-3011

Александрин Сергей Сергеевич — д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, директор ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова, Санкт-Петербург, Россия, orcid.org/0000-0001-6998-1669

Макарова Наталья Васильевна — к.ф.-м.н., в.н.с. НИО «Медицинский регистр МЧС России» ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова, Санкт-Петербург, Россия, orcid.org/0000-0002-8697-0096

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Information about the authors

Igor V. Krasakov — Cand. Sci. (Med.), Head, Center of Extraparallel Disorders, Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine; assistant, Department of nervous diseases, Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia, orcid.org/0000-0001-6092-0659

Nataliya I. Davydova — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Head, Clinical immunology laboratory, Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russia, orcid.org/0000-0001-8644-905X

Anastasiya A. Kalashnikova — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Clinical immunology laboratory, Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russia, orcid.org/0000-0002-5338-0866

Igor V. Litvinenko — D. Sci. (Med.), Prof., Head, Department of nervous diseases, Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia, orcid.org/0000-0001-8988-3011

Sergey S. Aleksanin — D. Sci. (Med.), Prof., Director, Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russia, orcid.org/0000-0001-6998-1669

Nataliya V. Makarova — Cand. Sci. (Phys. and Math.), leading researcher, Head, Statistical analysis department, Medical Register, EMERCOM of Russia research laboratory of statistical analysis and forecasting, Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russia, orcid.org/0000-0002-8697-0096

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.