

УДК 57.04;57.053:616-002-008.953-092

ВЛИЯНИЕ ГЛИКОДЕЛИНА НА УРОВЕНЬ Т-РЕГУЛЯТОРНЫХ ЛИМФОЦИТОВ И БЕЛКОВ ОСТРОЙ ФАЗЫ ВОСПАЛЕНИЯ У КРЫС WISTAR ПРИ ВВЕДЕНИИ АЛЛОГЕННЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА

© 2023 г. С. А. Заморина^{1,2, *}, М. С. Бочкова^{1,2}, В. П. Тимганова¹, С. В. Ужвиюк¹, К. Ю. Шардина¹, В. В. Власова¹, М. Б. Раев^{1,2}

¹Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН — филиал Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения РАН, Пермь, 614081 Россия

²Биологический факультет Пермского государственного национального исследовательского университета, Пермь, 614068 Россия

*E-mail: zamorina.sa@gmail.com

Поступила в редакцию 25.05.2023 г.

После доработки 19.06.2023 г.

Принята к публикации 24.06.2023 г.

Амниотический вариант гликоделина (GdA) обладает выраженными иммуномодулирующими свойствами, участвуя в формировании иммунной толерантности в период беременности. Исследовали влияние GdA на количество Т-регуляторных лимфоцитов (Treg), и уровень белков острой фазы воспаления (α -2-макроглобулина (α -2М), орозомикоид, С-реактивного белка (СРБ)) при введении аллогенных клеток красного костного мозга (КМ) крысам Wistar в динамическом эксперименте *in vivo*. Установлено, что введение GdA на фоне введения аллогенных КМ вызывало повышение доли периферических Treg среди CD4⁺-лимфоцитов в финале эксперимента (на 21-е сут) в сравнении с группой, которой вводили КМ. Показано, что GdA снижал уровень СРБ и α -2М, но повышал концентрацию орозомикоид в сыворотке экспериментальных животных в начале эксперимента (3-и сут), однако к концу эксперимента (21-е сут) у всех групп экспериментальных животных наблюдали нормализацию содержания белков острой фазы воспаления до уровня интактных животных. Таким образом, гликоделин способен реализовать иммуносупрессорный эффект в отношении аллогенных клеток через повышение уровня Treg и орозомикоид, а также снижение концентрации СРБ и α -2М.

Ключевые слова: костный мозг, крысы, гликоделин, регуляторные Т-лимфоциты, белки острой фазы воспаления

DOI: 10.31857/S0041377123050103, EDN: DGDGMF

Гликоделин (PP14, PAEP, альфа-2-макроглобулин) является фетоплацентарным белком, который был впервые выделен и идентифицирован в 1976 (Татаринов и др., 1976). Амниотический вариант гликоделина (GdA) обладает выраженными иммуномодулирующими свойствами (Alok, Karande, 2009; Dixit et al., 2018) что дает основания исследовать не только его роль в формировании иммунной толерантности в период беременности, но и его иммунофармакологический потенциал. Т-регуляторные клетки (Treg) играют ключевую роль в ограничении иммунного ответа (Sakaguchi et al., 2008). Ранее в экспериментах *in vitro* мы показали, что GdA практически не влияет на дифференцировку этих клеток, полученных от человека (Шардина и др., 2022).

Индукция Treg и их адаптивный перенос являются эффективными способами снижения вероятности отторжения трансплантата (Romano et al., 2017; Martin-Moreno et al., 2018). Между тем, несомненные перспективы GdA как препарата в трансплантологии (Dixit et al., 2018), или иммунотерапии (Ochanina et al., 2008) делают задачу по глубокому изучению его роли в формировании иммунной толерантности крайне важной.

Изменения в иммунной системе реципиента на введение аллогенных клеток костного мозга (КМ) происходят в первые три недели после трансплантации, а уровень Treg в данном случае является одним из ключевых показателей развития иммунного ответа (Sakaguchi et al., 2008). В процессе развития иммунного ответа также изменяется уровень белков острой фазы воспаления. Известно, что α -2-макроглобулин (α -2М) и α -1 кислый гликопротеин (орозомикоид) являются положительными белками

Принятые сокращения: КМ — костный мозг; РХПТ — реакция хозяин против трансплантата; α -2М — α -2-макроглобулин; GdA — амниотический гликоделин; Treg — Т-регуляторные лимфоциты; СРБ — С-реактивный белок.

острой фазы у крыс, тогда как С-реактивный белок (СРБ) у данного вида не столь показателен (Schreiber et al., 1989).

Таким образом, цель исследования заключается в изучении влияния рекомбинантного GdA на уровень Treg и белков острой фазы воспаления в процессе формирования иммунного ответа на введение КМ в динамическом эксперименте на крысах Wistar.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Животные и схема экспериментов. Эксперименты проводили на самцах белых крыс линии Wistar ($n = 12$) в возрасте от 2–3 мес. массой около 250 г. Животных содержали в виварии Пермского государственного национального исследовательского университета в условиях, соответствующих ГОСТ 33216-2014 (“Правила работы с лабораторными грызунами и кроликами”). Эксперименты проводили с соблюдением биоэтических норм в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите экспериментальных животных (86/609/ЕЕС; 1986). Выведение животных из эксперимента осуществляли на 3-и и 21-е сут; в этот момент собирали периферическую кровь, из которой выделяли мононуклеарные клетки в градиенте плотности 1.077 г/см^3 (Диаколл, Диаэм, Россия). Выделенные клетки замораживали до -80°C в среде, содержащей 90% инактивированной теплом эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС; Corning, США) и 10% диметилсульфоксида (Thermo Fisher, США), затем переносили в жидкий азот для длительного хранения (-196°C).

В работе использовали оригинальную модель реакции “хозяин против трансплантата” (РХПТ), разработанную по аналогии с моделью реакции “трансплантат против хозяина” (Hardt Claësson, 1971). Животных делили на 3 группы: группа 1 ($n = 4$) – интактные животные; группа 2 ($n = 4$) – контрольная, животным которой вводили 10^7 клеток КМ, обработанных камптотецином (50 мкг/мл, Tocris Bioscience, Великобритания), внутрибрюшинно в 100 мкл физиологического раствора; группа 3 ($n = 4$) – животные, которым после введения аллогенного КМ, обработанного камптотецином, делали инъекции рекомбинантного GdA, полученного из *Escherichia coli* (MBS718444; MyBioSource, Германия). GdA (14 мг в 100 мкл физиологического раствора) вводили внутримышечно (достигаемая концентрация в крови крыс составляла $\approx 0.75 \text{ мкг/мл}$) на 1, 5, 9 и 12 сут эксперимента, как было описано нами ранее (Бочкова и др., 2022). Трансплантацию суспензии аллогенных клеток КМ осуществляли без предварительного кондиционирования животного-реципиента.

Оценка уровня лимфоцитов Treg. Перед проведением эксперимента клетки размораживали при 37°C и отмывали в 10 мл полной питательной среды RPMI-1640, содержащей 10% ЭТС (Corning, США), 100 ед./мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина (Sigma,

США). Размороженные мононуклеарные клетки окрашивали флуоресцентно меченными (фикоэритрином (PE) или FITC) антителами, специфичными к поверхностным молекулам CD4 и CD25, после чего клетки фиксировали, пермеабелизовали и окрашивали антителами к внутриядерному транскрипционному фактору FOXP3. Использовали набор “FlowX Rat Regulatory T Cell Kit” (R&D Systems, США), включающий анти-CD25-PE, анти CD4-FITC и анти-FOXP3-AlexaFluor 647 антитела. Фенотип Treg определяли как $\text{CD4}^+\text{CD25}^+\text{FOXP3}^+$ (рис. 1). Анализ проводили на проточном цитометре CytoFLEX S (Beckman Coulter, США). Данные представлены в виде абсолютного и относительного количества Treg в пуле CD4^+ -Т-лимфоцитов.

Оценка уровня белков общей фазы воспаления. Для определения уровня СРБ, α -2М и орозомукоида крыс использовали иммуноферментные коммерческие наборы производства Cloud-Clone Corp. (Китай). Считывание результатов проводили на спектрофотометре MultiskanSky (Thermo Scientific, Inc., США) Обработку полученных данных осуществляли в программе Curve Expert 13.

Статистическую обработку данных проводили в программе GraphPad Prism 8, используя двухфакторный дисперсионный анализ (two-way ANOVA) и post-hoc тест Тьюки для множественных сравнений. Различия считали достоверными при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Клетки Treg обеспечивают периферическую толерантность путем контроля силы и продолжительности иммунного ответа через регуляцию функции Т-эффекторов, участвуя в процессе трансплантации аллогенных клеток. В результате эксперимента было установлено, что на 3-и сут после трансплантации крысам КМ абсолютное и относительное количество Treg в пуле CD4^+ -Т-лимфоцитов существенно снижается в сравнении с показателями интактных крыс (группа 1). В тоже время введение GdA крысам с трансплантированным КМ не оказывало существенного влияния на абсолютное и относительное содержание Treg на 3-и сут эксперимента (рис. 2а, 3а). По-видимому, именно процедура введения КМ приводила к снижению Treg, что согласуется с данными из литературы (Корсунский и др., 2008).

Установлено, что вместе с долей Treg при введении аллогенного КМ сокращается также относительное число клеток $\text{CD25}^+\text{FOXP3}^+\text{CD4}^+$ (рис. 2б). Роль этих клеток в регуляции иммунного ответа до сих пор не установлена. Предполагается, что клетки $\text{CD25}^+\text{FOXP3}^+$ происходят от конвенциональных Treg в присутствии высоких концентраций фактора роста TGF- β , либо относятся к Treg, недавно покинувшим тимус (Zohouri et al., 2021). Установлено, что абсолютное и относительное содержание клеток $\text{CD25}^+\text{FOXP3}^+\text{CD4}^+$ на 3-и сут эксперимента сокра-

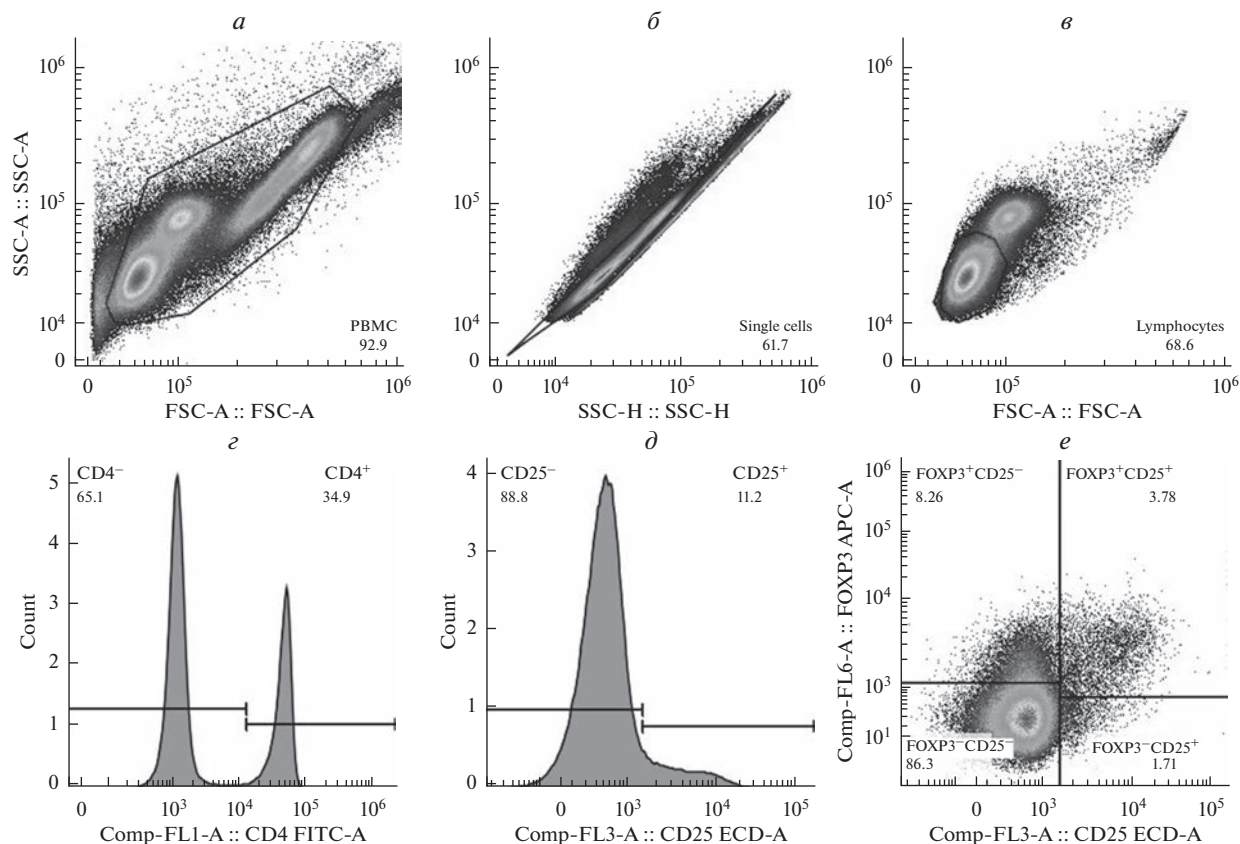


Рис. 1. Гистограммы гейтирования мононуклеарных клеток периферической крови для определения регуляторных $CD4^+$ -Т-лимфоцитов. *a* – Гейтирование мононуклеаров периферической крови (PBMC); *б* – выделение одиночных клеток; *в* – гейтирование лимфоцитов по параметрам светорассеяния; *г* – определение $CD4^+$ лимфоцитов; *д* – выделение $CD25^+CD4^+$ -клеток; *е* – определение регуляторных $CD4^+$ -Т-лимфоцитов ($FOXP3^+CD25^+$). По горизонтали: *a*, *в* – интенсивность прямого светорассеяния (FSC-A), *б* – интенсивность бокового светорассеяния (SSC-H); *г* – интенсивность флуоресценции клеток, окрашенных FITC-мечеными анти- $CD4$ -антителами; *д*, *е* – интенсивность флуоресценции клеток, окрашенных PE-мечеными анти- $CD25$ антителами; по вертикали: *a*, *б*, *в* – интенсивность бокового светорассеяния (SSC-A), *г*, *д* – число событий (count), *е* – интенсивность флуоресценции клеток, окрашенных анти- $FOXP3$ -антителами, мечеными AlexaFluor 647.

щалось независимо от введения животным GdA (рис. 2б, 3б). Таким образом, на 3 сут эксперимента мы наблюдали снижение уровня Treg и клеток $CD25^-FOXP3^+CD4^+$ у крыс с трансплантированным КМ, при этом GdA не оказывал значимого влияния на уровень Treg и клеток $CD25^-FOXP3^+CD4^+$.

Установлено, что на 21 сут после введения аллогенного КМ абсолютное и относительное содержание Treg среди $CD4^+$ -Т-клеток крови крыс из группы 2 (контрольной с введенным КМ) было ниже, чем в группе intactных животных (рис. 2в, 3в).

Однако было показано, что GdA повышает долю Treg на 21-е сут эксперимента (группа 2), приближая уровень этих клеток к таковому у intactных животных (рис. 2в). В то же время действия GdA на уровень абсолютных показателей обнаружено не было, но очевидна явная тенденция к повышению абсолютного количества Treg (рис. 3в).

Относительное содержание клеток $CD25^-FOXP3^+CD4^+$ на 21-е сут эксперимента было

на одном уровне и не различалось в группах 2 и 3 (контрольной и опытной соответственно) (рис. 2г). Однако было показано, что введение аллогенного КМ приводило к снижению количества этих клеток в абсолютном выражении (рис. 3г), а GdA приводил этот показатель к уровню intactных животных.

Таким образом, на 3 сут эксперимента мы наблюдали снижение уровня Treg и $CD25^-FOXP3^+CD4^+$ -клеток у крыс с трансплантированным КМ, при этом GdA не оказывал значимого влияния на уровень Treg и клеток $CD25^-FOXP3^+CD4^+$. Однако на 21 сут эксперимента GdA увеличивал процент Treg у крыс с трансплантированным КМ. В то же время не выявлено действия GdA на процентное содержание $CD25^-FOXP3^+CD4^+$ -клеток на 21-е сут эксперимента, однако в абсолютном выражении результатов GdA демонстрировал видимую тенденцию к повышению числа этих клеток.

Ранее при изучении влияния GdA на дифференцировку Treg в экспериментальной модели на клет-

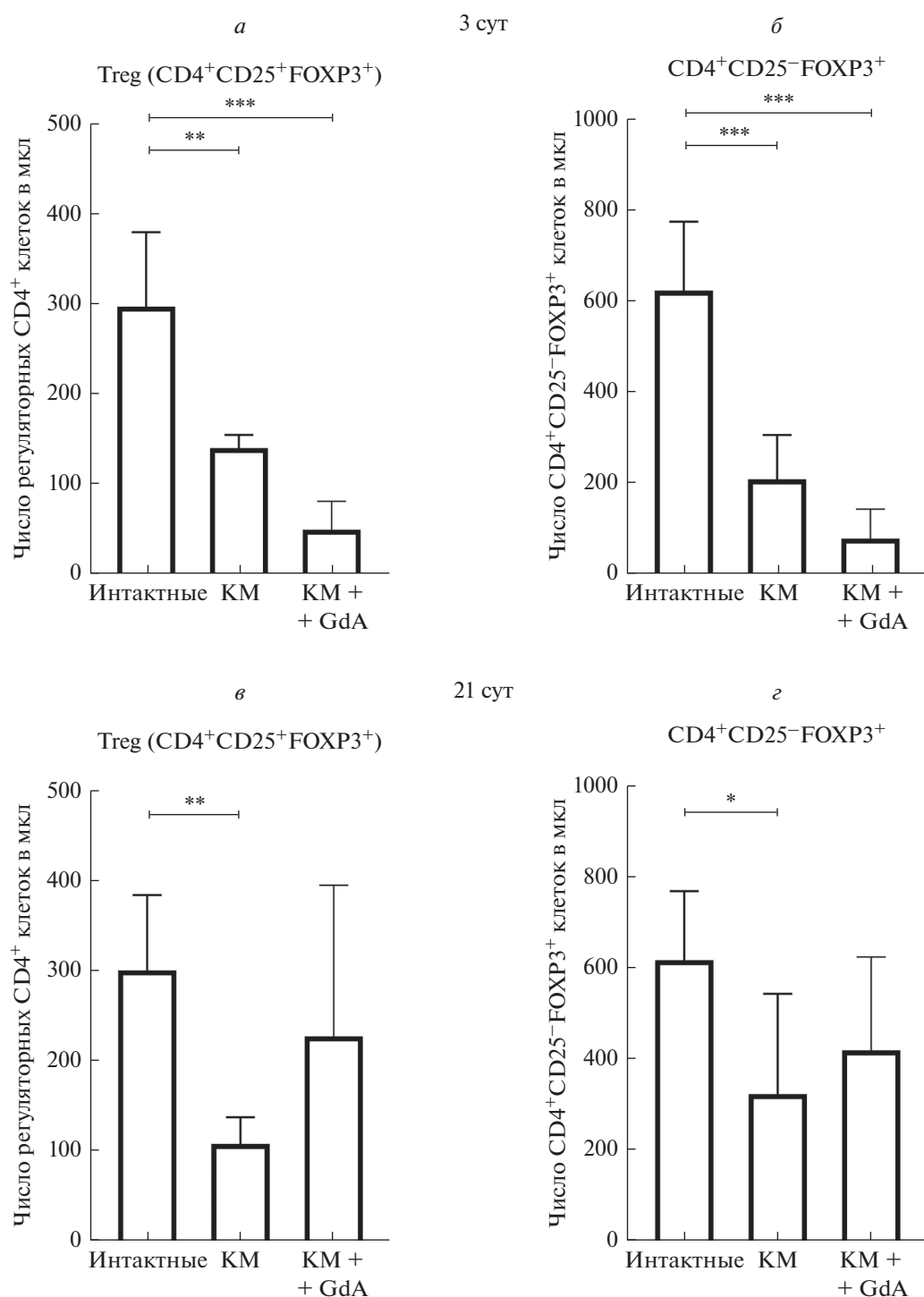


Рис. 2. Абсолютное число лимфоцитов Treg и CD25⁻FOXP3⁺CD4⁺ в периферической крови крыс на 3-и и 21-е сут после трансплантации КМ и введения на ее фоне GdA. Здесь и на рис. 3 представлены средние значения и их стандартные ошибки; $n = 4$. * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$ (two-way ANOVA).

ках человека было установлено, что данный белок практически не оказывал влияния на дифференцировку Treg (CD4⁺CD25^{high}CD127^{-/low}) (Шардина и др., 2022). Однако в ситуации *in vivo* GdA продемонстрировал стимулирующее действие на уровень Treg,

способствуя таким образом подавлению иммунного ответа на аллогенные клетки КМ.

Установлено, что уровень СРБ в сыворотке крови в группе контрольных животных на фоне введения клеток КМ не изменялся на протяжении всего экс-

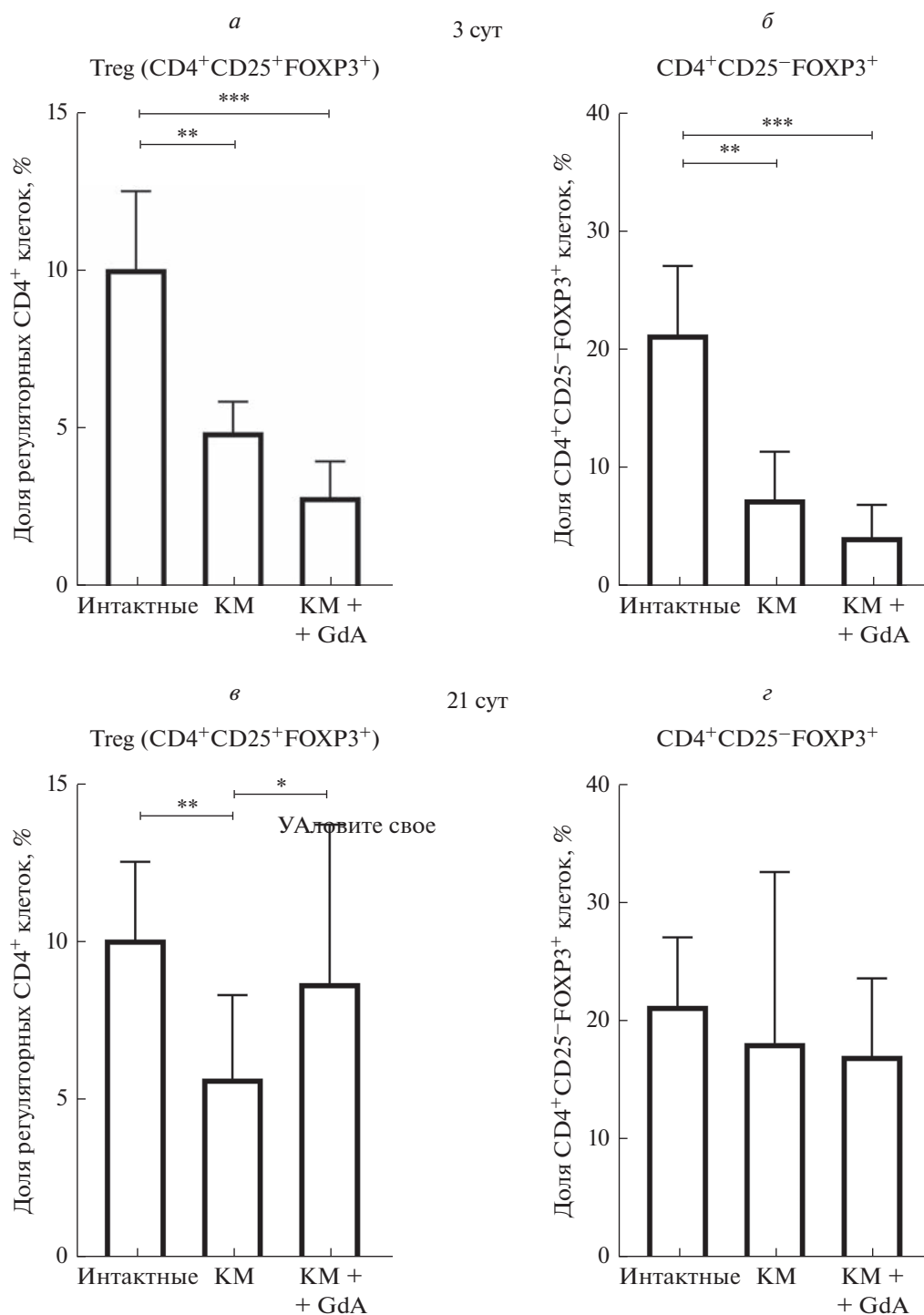


Рис. 3. Относительный уровень (доля в %) лимфоцитов Treg и CD25⁻FOXP3⁺CD4⁺ в периферической крови крыс на 3-и и 21-е сут после трансплантации клеток КМ и введения на ее фоне GdA.

перимента. (табл. 1). В то же время введение GdA на фоне КМ (группа 3) приводило к снижению уровня СРБ в сыворотке на 3-и сут эксперимента по сравнению с интактными животными, а к 21-м сут эксперимента наблюдали нормализацию концентрации этого белка. Таким образом, GdA способствует уменьшению

уровня СРБ, проявляя противовоспалительное действие на фоне введения аллогенного КМ.

Показано, что уровень α -2М контрольных животных в группе 2 после введения аллогенного КМ был повышен на 3-и сут от начала эксперимента в сравнении с группой интактных крыс (табл. 1). Со-

Таблица 1. Влияние GdA на белки острой фазы воспаления у крыс при аллогенной трансплантации в эксперименте *in vivo*

№ п. п.	Воздействие	Белки острой фазы воспаления		
		СРБ	α 2-М	орозомукоид
На 3-и сут				
1	Интактные крысы, $n = 4$	5.083 (4.143–5.875)	23.18 (21.48–25.43)	90.84 (88.36–93.71)
2	Введение КМ (контроль), $n = 4$	4.395 (4.074–4.996)	33.86 (21.71–37.58) $P < 0.005$ (2–1)	107.7 (85.71–120.2) $P < 0.01$ (2–1)
3	КМ + GdA, $n = 4$	3.563 (3.402–4.202) $P < 0.01$ (3–1)	27.55 (20.12–27.78) $P < 0.05$ (3–2)	116.3 (88.35–119.0) $P < 0.05$ (3–1)
На 21-е сут				
4	Интактные крысы, $n = 4$	5.083 (4.143–5.875)	21.87 (20.13–25.85)	87.26 (85.78–92.53)
5	Введение КМ (контроль), $n = 4$	4.424 (4.384–4.560)	28.96 (25.72–30.90)	80.68 (62.08–106.4)
6	КМ + GdA, $n = 4$	4.447 (4.278–5.253)	25.41 (21.72–25.67)	85.79 (61.24–103.8)

Примечание. Данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q1–Q3). Указаны только значения $p < 0.05$ (рядом в скобках группы сравнения; two-way ANOVA); КМ – костный мозг.

гласно динамике эксперимента, у этой группы животных к 21-м сут наблюдали нормализацию уровня этого белка. В то же время введение GdA на фоне введения КМ в группе 3 вызывало снижение уровня α -2М на 3-и сут по сравнению с контрольной группой 2 и нормализацию его значений к 21-м сут. Таким образом, GdA способен понижать уровень α -2М, оказывая противовоспалительный эффект.

Концентрация орозомукоида в контрольной группе животных после введения аллогенного КМ была повышена на 3-и сут эксперимента, а к 21-м сут наблюдали нормализацию его уровня в сыворотке (табл. 1). Введение GdA на фоне аллотрансплантации КМ приводило к повышению уровня орозомукоида на 3-и сут по сравнению с группой интактных крыс и дальнейшей нормализацией его концентрации в сыворотке к 21-м сут эксперимента. Таким образом, аллотрансплантация КМ и введение GdA вызывало повышение уровня орозомукоида в эксперименте, но к концу эксперимента (21 сут) наблюдали нормализацию его значений в сыворотке экспериментальных животных. Орозомукоид является белком, подавляющим иммунную реактивность на уровне врожденного иммунитета (Schreiber et al., 1989), что в целом может приводить к ослаблению иммунного ответа на введение аллогенных клеток.

Резюмируя полученные данные, очевидно, что введение аллогенного КМ вызывало увеличение концентрации α -2М и орозомукоида в сыворотке крови, что подтверждает их диагностическую значимость в процессе иммунного ответа. GdA снижал концентрацию СРБ и α -2М в сыворотке экспери-

ментальных животных с начала эксперимента, однако уровень орозомукоида, наоборот, был повышен в начале эксперимента. К концу эксперимента (21 сут) у всех групп экспериментальных животных наблюдали нормализацию значений СРБ, α -2М и орозомукоида в сыворотке крови.

Поскольку в организме в ответ на воспаление молниеносно повышается уровень некоторых цитокинов (интерлейкинов IL-1, IL-6 и TNF- α), которые, в свою очередь, дают сигнал клеткам печени на синтез белков острой фазы воспаления, ранее нами был исследован и цитокиновый профиль у крыс в аналогичных экспериментальных группах (Бочкова и др., 2022). Аллотрансплантация КМ вызывала системную воспалительную реакцию, что подтверждалось повышением уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови (IL-1 α , IL-1 β , IL-18) на 21-е сут; введение GdA, напротив, нивелировало общую воспалительную реакцию на аллотрансплантацию КМ у крыс и приводило к статистически значимому снижению уровня IL-17A по сравнению с контролем (Бочкова и др., 2022). Обсуждая настоящие эксперименты, мы можем предположить, что повышение уровня провоспалительных цитокинов способствовало увеличению концентрации α -2М и орозомукоида в сыворотке крови животных на фоне введения суспензии КМ.

В 2018 г. было проведено исследование иммуносупрессивной активности рекомбинантного GdA для предотвращения реакции отторжения трансплантата (Dixit et al., 2018). Используя экспериментальную модель *in vitro*, основанную на совместном культи-

вировании моноклеарных клеток с таргетными клетками линии НерG2е, авторы продемонстрировали, что гликоделин подавляет генерацию цитотоксических лимфоцитов и их функциональную активность. Аналогичные результаты были получены *in vivo* на экспериментальной модели на мышах *nude*, которые стали реципиентами клеток НерG2е и индуцированных CD8⁺-клеток человека, прединкубированных с GdA. Было показано, что и в ситуации *in vivo*, GdA ингибировал активность цитотоксических лимфоцитов (Dixit et al., 2018). Применение иммунодепрессантов для лечения отторжения аллотрансплантата связано с серьезными побочными эффектами. GdA, естественный иммуномодулятор человека, был бы идеальным альтернативным кандидатом. Было сделано и аналогичное предположение о возможном применении GdA в случае трансплантации легкого (Schneider et al., 2015, 2016).

Таким образом, рекомбинантный GdA является с точки зрения биофармацевтики перспективным иммуносупрессивным белком, способным избирательно снижать развитие иммунного ответа на аллоантигены.

БЛАГОДАРНОСТИ

В работе использовано оборудование ЦКП “Исследования материалов и вещества” Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-29-04055 мк) и в рамках государственного задания ИЭГМ УрО РАН (номер госрегистрации темы: 121112500044-9).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Содержание крыс и манипуляции с ними проведены в соответствии с “Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных”, с соблюдением требований Совета Европейского сообщества об использовании лабораторных животных (86/609/ЕЕС).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бочкова М.С., Тимганова В.П., Шардина К.Ю., Ужвиюк С.В., Логинова Н.П., Тройнич Я.Н., Заморина С.А. 2022. Влияние гликоделина на цитокиновый профиль крыс при аллогенной трансплантации клеток костного мозга. Бюллетень эксп. биол. мед. Т. 173. № 5. С. 606. (Bochkova M.S., Timganova V.P., Shardina K.Yu., Uzhviyuk S.V., Loginova N.P., Troinich Ya.N., Zamorina S.A. 2022. Effect

of Glycodelin on the Cytokine Profile of Rats during Allo-genic Bone Marrow Cell Transplantation. Bull. Exp. Biol. Med. V. 173. P. 636.)

<https://doi.org/10.1007/s10517-022-05603-2>

Корсунский И.А., Румянцев А.Г., Быковская С.Н. 2008. Роль регуляторных Т-клеток CD4⁺CD25⁺ и мезенхимальных стволовых клеток костного мозга в подавлении реакции трансплантат против хозяина. Онкогематология. Т. 3. С. 45. (Korsunsky I.A., Rumyantsev A.G., Bykovskaya S.N. 2008. Role of the regulatory T cells CD4⁺CD25⁺ and mesenchymal marrow stem cells in suppressing a graft versus host reaction. Oncohematology. V. 3. P. 45.)

<https://doi.org/10.17650/1818-8346-2008-0-3-45-51>

Татаринов Ю.С., Кривоносов С.К., Петрунин Д.Д., Шевченко О.П. 1976. Сравнительный иммунохимический анализ специфических βt-глобулинов “зоны беременности” человека и млекопитающих животных. Бюлл. эксп. биол. и мед., Т. 10. С. 1223. (Tatarinov Yu.S., Krivonosov S.K., Petrunin D.D., Shevchenko O.P. 1976. Comparative immunochemical analysis of specific beta globulins of the “pregnancy zone” of the humans and other mammals. Bull. Exper. Biol. Med. V. 82. № 10. P. 1223.)

<https://doi.org/10.1007/BF00799800>

Шардина К.Ю., Тимганова В.П., Бочкова М.С., Храмов П.В., Раев М.Б., Заморина С.А. 2022. Роль рекомбинантного гликоделина в дифференцировке регуляторных Т-лимфоцитов. Доклады российской академии наук. Науки о жизни. Т. 506. № 1. С. 417. (Shardina K.Y., Timganova V.P., Bochkova M.S., Khramtsov P.V., Rayev M.B., Zamorina S.A. 2022. The Role of Recombinant Glycodelin in the Differentiation of Regulatory T-Lymphocytes. Dokl. Biol. Sci. V. 506. P. 137.)

<https://doi.org/10.1134/S0012496622050131>

Alok A., Karande A.A. 2009. The role of glycodelin as an immune-modulating agent at the feto-maternal interface. J. Reprod. Immunol. V. 83. P. 124.

<https://doi.org/10.1016/j.jri.2009.06.261>

Dixit A., Balakrishnan B., Karande A.A. 2018. Immunomodulatory activity of glycodelin: implications in allograft rejection. Clin. Exp. Immunol. V. 192. P. 213.

<https://doi.org/10.1111/cei.13096>

Sakaguchi S., Yamaguchi T., Nomura T., Ono M. 2008. Regulatory T cells and immune tolerance. Cell. V. 133. P. 775.

<https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.05.009>

Martin-Moreno P.L., Tripathi S., Chandraker A. 2018. Regulatory T Cells and Kidney Transplantation. Clin. J. Am. Soc. Nephrol. V. 13. P. 1760.

<https://doi.org/10.2215/CJN.01750218>

Romano M., Tung S.L., Smyth L.A., Lombardi G. 2017. Treg therapy in transplantation: a general overview. Transplant Int. V. 30. P. 745.

<https://doi.org/10.1111/tri.12909>

Ochanuna Z., Geiger-Maor A., Dembinsky-Vaknin A., Karussis D., Tykocinski M.L., Rachmilewitz J. 2010. Inhibition of effector function but not T cell activation and increase in FoxP3 expression in T cells differentiated in the presence of PP14. PLoS One. V. 5. P. e12868.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012868>

Schreiber G., Tsykin A., Aldred A.R., Thomas T., Fung W.P., Dickson P.W., Cole T., Birch H., De Jong F.A., Milland J. 1989. The acute phase response in the rodent. Ann. N. Y.

- Acad. Sci. V. 557. P. 61.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1989.tb24000.x>
- Hardt F., Claesson M.H. 1971. Graft-versus-host reactions mediated by spleen cells from amyloidotic and nonamyloidotic mice. *Transplantation*. V. 12. P. 36.
<https://doi.org/10.1097/00007890-197107000-00005>
- Zohouri M., Mehdipour F., Razmkhah M., Faghih Z., Ghaderi A. 2021. CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ T cells: a distinct subset or a heterogeneous population? *Int. Rev. Immunol.* V. 40. P. 307.
<https://doi.org/10.1080/08830185.2020.1797005>
- Zhou Y., Yang X., Zhang H., Jiang J. 2015. The roles of T helper type 17/regulatory T cells in acute rejection after liver transplantation in rats. *Transplantation*. V. 99. P. 1126.
<https://doi.org/10.1097/TP.0000000000000666>
- Schneider M.A., Granzow M., Warth A., Schnabel P.A., Thomas M., Herth F.J.F., Dienemann H., Muley T., Meister M. 2015. Glycodelin A new Biomarker with Immunomodulatory Functions in Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin. Cancer Res.* V. 21. P. 3529.
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-2464>
- Schneider M.A., Muley T., Kahn N.C. Warth A., Thomas M., Herth F.J.F., Dienemann H., Meister M. 2016. Glycodelin is a potential novel follow-up biomarker for malignant pleural mesothelioma. *Oncotarget*. V. 7. P. 71285.
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.12474>

Effect of Glycodelin on the Level of T-Regulatory Lymphocytes and Acute Phase Proteins in Wistar Rats after Introduction of Allogeneous Bone Marrow Cells

S. A. Zamorina^{a, b, *}, M. S. Bochkova^{a, b}, V. P. Timganova^a, S. V. Uzhviyuk^a, K. Yu. Shardina^a, V. V. Vlasova^a, and M. B. Rayev^{a, b}

^a*Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences ("IEGM UB RAS") – a branch of the Federal State Budgetary Institution of the Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, 614081 Russian Federation*

^b*Perm State University, Biology Faculty, Perm, 614068 Russian Federation*

*e-mail: zamorina.sa@gmail.com

Amniotic variant of glycodelin (GdA) has pronounced immunomodulatory properties, participating in the formation of immune tolerance during pregnancy. We investigated the effect of glycodelin on the level of T regulatory lymphocytes (Treg) and the level of acute phase proteins (α -2-macroglobulin (α -2M), orosomucoid, C-reactive protein (CRP)) upon administration of allogeneic red bone marrow (BM) cells to Wistar rats in a dynamic experiment *in vivo*. It was found that the introduction of GdA in animal with allogeneic BM led to an increase in the proportion of peripheral Treg among CD4⁺ lymphocytes at the end of the experiment (on the 21st day) in comparison with the group that was injected with BM. It was shown that glycodelin reduced the level of CRP and α -2M, but increased the level of orosomucoid in the serum of experimental animals at the beginning of the experiment (day 3), however, by the end of the experiment (day 21), normalization of protein values was observed in all groups of experimental animals acute phase to the level of intact animals. Thus, glycodelin is able to realize an immunosuppressive effect on allogeneic cells through an increase in the level of Treg and orosomucoid, as well as a decrease in the concentration of CRP and α -2M.

Keywords: bone marrow, transplantation, rats, glycodelin, regulatory T lymphocytes, acute inflammation phase proteins