

© Коллектив авторов, 2020

УДК 612.017.11.062:577.112.386:57.089.23

Фефелова Е.В., Терешков П.П., Цыбиков Н.Н., Максименя М.В.

Изменение фенотипа лимфоцитов периферической крови здоровых и больных ишемической болезнью сердца при экзогенной гипергомоцистеинемии

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия»,
672000, г. Чита, Россия, ул. Горького 39а

Цель исследования – изучение изменения фенотипа лимфоцитов периферической крови под влиянием гомоцистеина и гомоцистеина-тиолактона в краткосрочной культуре клеток.

Методика. Исследована венозная кровь 15 относительно здоровых, некурящих добровольцев – мужчин в возрасте 30 – 40 лет и 16 больных ишемической болезнью сердца (стабильная стенокардия 2-го функционального класса), сопоставимых по возрасту с донорами. Кровь брали из локтевой вены в пробирки с добавлением антикоагулянта гепарина Li. В 3 стерильные пластиковые пробирки, содержащие по 1 мл крови, добавляли по 1 мл культуральной среды RPMI-1640 (Miltenyi Biotec GmbH, Германия) с 10% содержанием сыворотки, в 2 из них вносили растворы либо гомоцистеина (50 мкмоль/л), либо гомоцистеин-тиолактона (50 нмоль/л). 3-я и 4-я (контрольные) пробирки содержали эквивалентный объем физиологического раствора или культуральной среды. Фенотип лейкоцитов определяли после 4-часовой инкубации в 4,8% CO₂ при 37 °C.

Результаты. Общее количество лейкоцитов, моноцитов и нейтрофилов в исследуемых группах не имело значимых различий. Было зафиксировано лишь увеличение содержания лимфоцитов в образцах периферической крови больных ишемической болезнью сердца за счет увеличения числа всех субпопуляций лимфоцитов. При изучении фенотипа лимфоцитов в культуре под воздействием высоких доз гомоцистеина и гомоцистеин-тиолактона количественные сдвиги наблюдались только в субпопуляции Т-лимфоцитов: в образцах крови условно здоровых добровольцев наблюдалось снижение количества Т-лимфоцитов за счет фракции Т-хелперов. В пробах больных ишемической болезнью сердца под воздействием гипергомоцистеинемии число Т-лимфоцитов не имело значимых различий по сравнению с контролем, но при этом содержание Т-хелперов снижалось на 20%, так же как в образцах крови условно здоровых добровольцев. Уровень цитотоксических лимфоцитов при добавлении гомоцистеина в культуру клеток условно здоровых добровольцев увеличивался на 50%, а при добавлении гомоцистеин-тиолактона – практически в 2 раза, в то же время у больных ишемической болезнью сердца эта фракция лимфоцитов увеличивалась на 70% как под воздействием гомоцистеина, так и гомоцистеин-тиолактона.

Заключение. Высокие дозы гомоцистеина снижают количество Т-хелперов и увеличивают число цитотоксических лимфоцитов. Изменения более выражены в образцах крови лиц, страдающих атеросклерозом. Механизмы развития данного феномена требуют дальнейшего изучения.

Ключевые слова: гомоцистеин; гомоцистеин-тиолактон; фенотип лимфоцитов

Для цитирования: Фефелова Е.В., Терешков П.П., Цыбиков Н.Н., Максименя М.В. Изменение фенотипа лимфоцитов периферической крови здоровых и больных ишемической болезнью сердца при экзогенной гипергомоцистеинемии. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2020; 64(3): 87-92.

DOI: 10.25557/0031-2991.2020.03.87-92

Для корреспонденции: Фефелова Елена Викторовна, e-mail: fefelova.elena@mail.ru

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Фефелова Е.В., Терешков П.П., Цыбиков Н.Н., Максименя М.В.; сбор и обработка материала – Фефелова Е.В., Терешков П.П., Максименя М.В.; статистическая обработка материала – Фефелова Е.В.; написание текста статьи – Фефелова Е.В., Терешков П.П., Максименя М.В.; редактирование – Цыбиков Н.Н.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 05.03.2019

Принята к печати 24.06.2020

Опубликовано 21.08.2020

Fefelova E.V., Tereshkov P.P., Tsybikov N.N., Maximenya M.V.

Changes in the phenotype of peripheral blood lymphocytes from healthy individuals and patients with ischemic heart disease in exogenous hyperhomocysteinemia

Chita State Medical Academy, Gorkogo Str. 39a, Chita 672000, Russia

Aim. To study changes in the phenotype of peripheral blood lymphocyte induced by homocysteine and homocysteine thiolactone in a short-term cell culture.

Methods. Venous blood was obtained from 15 conventionally healthy, non-smoking male volunteers aged 35.4 ± 4.7 years and 16 patients with ischemic heart disease (functional class II stable angina). Blood was collected from the ulnar vein into tubes containing heparin Li as an anticoagulant. Then 1 ml of RPMI-1640 culture medium (Miltenyi Biotec GmbH, Germany) with 10% of serum was added to each of 3 sterile plastic tubes containing 1 ml of blood each. A solution of either homocysteine (50 $\mu\text{mol/l}$) or homocysteine-thiolactone (50 nmol/l) was added to two of these tubes. The remaining two tubes (control) contained an equivalent volume of saline or the culture medium. The leukocyte phenotype was determined after 4 hours of incubation at 37°C in 4.8% CO_2 .

Results. Total counts of leukocytes, monocytes and neutrophils did not significantly differ between the study groups. Only an increase in lymphocyte count was observed in blood samples from IHD patients due to increases in all lymphocyte subpopulations. Quantitative changes in the phenotype of lymphocytes exposed to high doses of homocysteine and homocysteine thiolactone were found only for the T-lymphocyte subpopulation; in blood samples from conventionally healthy volunteers, the T-lymphocyte count was decreased due to a decrease in the T-helper fraction. In blood samples from IHD patients exposed to hyperhomocysteinemia, the number of T-lymphocytes did not differ from the control. However, the T-helper level was decreased by 20% similar to that in blood samples of healthy volunteers. The level of cytotoxic lymphocytes in the cell culture from conditionally healthy volunteers exposed to homocysteine was increased by 50% and in the culture exposed to homocysteine thiolactone, it practically doubled. In the blood from IHD patients exposed to homocysteine or homocysteine thiolactone, this lymphocyte fraction was increased by 70%.

Conclusion. High doses of homocysteine reduced the number of T-helpers and increased the number of cytotoxic lymphocytes. These changes were more pronounced in blood samples from patients with atherosclerosis. Mechanisms of this phenomenon require a further study.

Keywords: homocysteine; homocysteine-thiolactone; lymphocyte phenotype.

For citation: Fefelova E.V., Tereshkov P.P., Tsybikov N.N., Maximenya M.V. Changes in the phenotype of peripheral blood lymphocytes from healthy individuals and patients with ischemic heart disease in exogenous hyperhomocysteinemia. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2020; 64(3): 87-92. (In Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2020.03.87-92

For correspondence: Elena Fefelova, Department of Pathological physiology, Chita state medical academy of Russia, 672000, Russia, Chita, ul. Gorky 39a e-mail: fefelova.elena@mail.ru

Contribution: research concept and design – E.V. Fefelova, P.P. Tereshkov, N.N. Tsybikov, M.V. Maximenya; material collecting and processing – E.V. Fefelova, P.P. Tereshkov, M.V. Maximenya; statistical processing of results – E.V. Fefelova; writing text – E.V. Fefelova, P.P. Tereshkov, M.V. Maximenya; text editing – N.N. Tsybikov. Approval of the final version of the article – all co-authors.

Acknowledgments. The study did not have sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Information about authors:

Fefelova E.V., <http://orcid.org/0000-0002-0724-0352>

Tereshkov P.P., <http://orcid.org/0000-0002-8601-3499>

Tsybikov N.N., <http://orcid.org/0000-0002-0975-2351>

Maximenya M.V., <http://orcid.org/0000-0001-6308-3411>

Received 05.03.2019

Accepted 24.06.2020

Published 21.08.2020

Иммунокомпетентные клетки отвечают на протекающие в организме процессы, такие как воспаление, колебания гормонального фона, стресс и др., путем изменения степени экспрессии, появления или исчезновения как поверхностных, так и внутриклеточных функциональных молекул. Это позволяет клеткам иммунной системы адаптироваться к сложившимся ус-

ловиям и выполнять присущие ей регуляторные или эффекторные функции наиболее рационально [1].

Известно, что повышенный уровень гомоцистеина является триггером разнообразной патологии [2–5]. Гомоцистеин (ГЦ) — это аминокислота, образующийся в ходе взаимопревращений метионина и цистеина. Он обнаруживается в крови преимущественно в комплексе с ци-

стеином белков, а также в виде продуктов его спонтанного окисления. Содержание общего ГЦ в крови человека в норме не превышает 10 мкмоль/л [2]. Повышение концентрации гомоцистеина приводит к развитию эндотелиальной дисфункции, активации пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, модификации липопротеинов плазмы, ремоделированию экстрацеллюлярного матрикса, стимуляции вазоконстрикции, воспаления и гиперкоагуляции [3,4]. В предыдущих исследованиях было показано, что экспериментальная умеренная экзогенная гипергомоцистеинемия сопровождается увеличением количества лимфоцитов в основном за счет Т-цитотоксических клеток, снижением иммунорегуляторного индекса в 2 раза ($p=0,012$), а также повышением концентрации TNF α , INF γ и IL 17 α как в сыворотке крови, так и в цитоплазме мононуклеарных клеток. При этом концентрация самого гомоцистеина в мононуклеарах не изменяется [5].

Цель исследования – изучение изменения фенотипа лимфоцитов периферической крови под влиянием гомоцистеина и гомоцистеина-тиолактона в краткосрочной культуре клеток.

Методика

Материалом для исследования являлась венозная кровь, полученная у 15 относительно здоровых, некурящих добровольцев – мужчин в возраст 30–40 лет, и 16 больных ишемической болезнью сердца (стабильная стенокардия 2-го функционального класса). Кровь забирали из локтевой вены в пробирки с добавлением антикоагулянта гепарина Li. Затем по 1 мл крови помещали в стерильные пластиковые пробирки, добавляли в каждую из них по 1 мл культуральной среды (полная культуральная среда RPMI-1640 (Miltenyi Biotec GmbH, Германия) с 10% содержанием сыворотки. В 2 пробирки вносили растворы либо гомоцистеина (50 мкмоль/л), либо гомоцистеин-тиолактона (50 нмоль/л), в 3-ю (контрольную) добавляли эквивалентный объем физиологического раствора, в 4-ю (контрольную) пробирку добавляли эквивалентный объем культуральной среды. После 4 ч инкубации при 37 °C в 4,8% CO₂ определяли фенотип лейкоцитов. В дальнейшем не было найдено отличий в показателях 3-й и 4-й пробирок, что позволило объединить результаты контрольных проб.

Проточная цитофлюориметрия. Клетки крови обрабатывали «пятицветной» комбинацией моноклональных антител к CD4/CD19, конъюгированных с флуоресцентным красителем FITC (изогиоцианат флуоресцеина), CD162-PE (фикоэритрин), CD8/CD14-ECD (комплекс PE с тexasским красным), CD62L-PC5 (комплекс PE с цианином-5) и к CD3-PC7 (комплекс PE с цианином-7).

Клетки фиксировали 1% раствором формальдегида в фосфатном буфере pH 7,4 (Beckman Coulter, США). Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлюориметре Cytomics FC500 (Beckman Coulter, США).

Для корректного исключения из зоны анализа всех частиц, которые не соответствовали по размерам и гранулярности живым лимфоцитам и моноцитам, вводили необходимые логические ограничения в гистограммы распределения частиц по малоугловому и боковому светорассеянию, CD3 и CD14. В каждой пробе анализировали не менее 10⁴ клеток.

Математическую обработку цитометрических данных проводили при помощи программ CXP v. 2.2 и Kaluza™ v.1.2 (Beckman Coulter, США).

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью программы Statistica 6.1 (StatSoft). Описательная статистика представлена медианой и межквартильным интервалом (25-го; 75-го перцентиль); сравнение зависимых выборок проводили с помощью критерия Вилкоксона; сравнение независимых выборок – *U*-критерия Манна–Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали при $p < 0,05$.

Результаты

Общее количество лейкоцитов, моноцитов и нейтрофилов в исследуемых группах не имело значимых различий. Было зафиксировано лишь увеличение содержания лимфоцитов в образцах периферической крови больных ишемической болезнью сердца (ИБС), за счет увеличения числа всех субпопуляций лимфоцитов. Максимальный сдвиг зарегистрирован со стороны Т-НК (**табл. 1**).

При изучении фенотипа клеток периферической крови в культуре под воздействием высоких доз гомоцистеина и гомоцистеин-тиолактона количественные сдвиги наблюдались только в субпопуляции Т-лимфоцитов. Так, в образцах крови условно здоровых добровольцев под воздействием гипергомоцистеинемии наблюдалось снижение количества Т-лимфоцитов за счет фракции Т-хелперов. В пробах больных ИБС под воздействием гипергомоцистеинемии число Т-лимфоцитов не имело значимых различий по сравнению с контролем, но при этом содержание Т-хелперов снижалось так же, как в образцах крови условно здоровых добровольцев на 20% ($p=0,002$). Уровень цитотоксических лимфоцитов при добавлении гомоцистеина в культуру клеток условно здоровых добровольцев увеличивался на 50% ($p=0,002$), а при добавлении гомоцистеина-тиолактона – практически в 2 раза ($p=0,002$), в то время как у больных ИБС эта фракция лимфоцитов увеличивалась на 70% под воздей-

ствием как ГЦ, так и гомоцистеин-тиолактона ($p=0,04$ и $0,008$ соответственно). Уровень Т-НК возростал под влиянием изучаемых аминотиолов только в образцах крови условно здоровых добровольцев (табл. 2).

Обсуждение

В настоящее время атеросклеротический процесс все чаще рассматривают как воспалительный и репаративный ответ на повреждение интимы артериальных сосудов, в котором принимают участие клетки иммунной системы, тромбоциты, фибробласты [6, 7]. Роль Т-лимфоцитов в атерогенезе заключается в антигенном распознавании и инициации клеточно-опосредованного воспалительного ответа [7]. Показано, что у пациентов с различными формами атеросклероза наблюдается увеличение количества лимфоцитов, несущих маркеры активации, не только в зоне повреждения, но и в периферической крови [6]. А.С. Гольдерова и соавт. (2011 г.) убедительно продемонстрировали наличие существенных фенотипических различий лимфоцитов периферической крови у больных ИБС в зависимости от локализации и распространенности атеросклеротического процесса [8].

Полученные данные формируют закономерный вопрос: каким образом при неизменном количестве клеток в культуре возможны выявленные изменения?

Возможны следующие варианты ответов.

Во-первых, наличием дважды положительных Т-клеток (CD4+CD8+) – ДП Т-клетки, обнаруженных еще в конце прошлого столетия в периферической крови человека. В среднем от общей популяции Т-лимфоцитов их число составляет от 1 до 3% [9]. В то

же время в отдельных случаях у здоровых людей в периферической крови может содержаться значительная доля ДП Т-клеток [10]. Показано, что большинство из них имеет фенотип клеток памяти и способно продуцировать более высокие уровни цитокинов, чем клетки, экспрессирующие по отдельности маркеры CD4+ и CD8+ [11, 12].

Во-вторых, возможна модификация рецепторного аппарата клеток ГЦ и гомоцистеин-тиолактоном. Так, в предыдущих исследованиях было показано, что высокие концентрации ГЦ вызывают модификацию белковых структур организма [13]. Модификация возможна как за счет разрыва дисульфидных связей ГЦ [14], так и путем образования N-гомоцистеинилированных белков при взаимодействии с ними гомоцистеин-тиолактона. Тиолактон ГЦ является ацилирующим агентом и при нормальных условиях предпочтительнее реагирует с ϵ -аминогруппой бокового радикала лизина [14]. Кроме этого, доказано, что гипергомоцистеинемия активизирует процессы перекисного окисления липидов и образовавшиеся в большом количестве свободные радикалы также могут изменять химическую структуру белковых молекул.

CD4-рецептор представляет собой одноцепочечную молекулу, состоящую из четырех иммуноглобулиноподобных доменов. Домены D1 и D2, а также D3 и D4 образуют между собой парные, плотно упакованные жесткие структуры. Эти пары соединены гибким шарнирным участком, в составе которого присутствует аминокислота лизин [15]. CD8 структурно отличается от маркера Т-хелперов. Он представляет собой ге-

Таблица 1

Общее содержание лейкоцитов и их подвидов в исследуемых краткосрочных культурах (Me [25%; 75%])

Показатель	Образцы крови условно здоровых добровольцев			Образцы крови больных ИБС		
	контроль	с добавлением НСУ	с добавлением НСУ-Т	контроль	с добавлением НСУ	с добавлением НСУ-Т
Лейкоциты, абс.	1742,5 [1450,0; 2035,0]	1996,5 [1306,0; 2687,0]	2007,0 [1222,0; 2792,0]	2296,0 [2200,0; 2392,0]	2250,5 [2088,0; 2413,0]	2313,0 [2164,0; 2462,0]
Лимфоциты, абс.	473,5 [467,0; 480,0]	477,0 [432,0; 522,0]	486,0 [451,0; 521,0]	963,5 [894,0; 1033,0] $p_4=0,001$	984,0 [910,0; 1058,0] $p_4=0,001$	972,0 [863,0; 1081,0] $p_4=0,001$
Моноциты, абс.	15,5 [14,0; 17,0]	21,5 [15,0; 28,0] $p_1=0,01$	21,5 [12,0; 31,0] $p_1=0,01$	19,0 [11,0; 27,0]	23,0 [21,0; 25,0]	23,5 [23,0; 24,0]
Нейтрофилы, абс.	1151,5 [835,0; 1468,0]	1379,5 [777,0; 1982,0]	1374,5 [657,0; 2092,0]	1135,5 [1066,0; 1205,0]	1078,0 [958,0; 1198,0]	1159,0 [1108,0; 1210,0]

Примечание. p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению с контрольной группой, p_2 – уровень статистической значимости различий образцов с добавлением гомоцистеина по сравнению с образцами с добавлением гомоцистеин-тиолактона, p_3 – уровень статистической значимости различий по сравнению с условно здоровыми добровольцами и больными ИБС.

Субпопуляции лимфоцитов в исследуемых краткосрочных культурах (Ме [25%; 75%])

Показатель	Образцы крови условно здоровых добровольцев			Образцы крови больных ИБС		
	контроль	с добавлением НСУ	с добавлением НСУ -Т	контроль	с добавлением НСУ	с добавлением НСУ -Т
Т-лимфоциты (CD3+), абс. в 1 мкл крови	366,5 [357,0; 375,0]	292,5 [217,0; 367,0] $p_1=0,001$	426,0 [422,0; 431,0] $p_2=0,005$	827,5 [614,0; 1041,0] $p_3=0,0001$	776,5 [594,0; 959,0] $p_3=0,0001$	784,0 [627,0; 941,0] $p_3=0,0001$
Т-хелперы (CD3+, CD4+), абс. в 1 мкл крови	210,0 [185,0; 229,0]	164,0 [123,0; 227,0] $p_1=0,002$	230,0 [211,0; 246,0] $p_1=0,002$ $p_2=0,008$	563,0 [465,0; 606,0] $p_3=0,001$	430,0 [346,0; 509,0] $p_1=0,002$ $p_3=0,001$	443,0 [372,0; 512,0] $p_1=0,002$ $p_2=0,008$ $p_3=0,001$
Т-цитотоксические (CD3+, CD8+), абс. в 1 мкл крови	79,0 [67,0; 91,0]	118,0 [106,0; 126,0] $p_1=0,002$	148,0 [138,0; 169,0] $p_1=0,002$ $p_2=0,008$	250,0 [214,0; 332,0] $p_3=0,001$	428,0 [320,0; 450,0] $p_2=0,04$ $p_3=0,001$	403,5 [309,0; 450,0] $p_2=0,008$ $p_3=0,001$
Т-хелперы/Т-цитотоксические	2,76 [2,31; 2,89]	1,38 [1,16; 1,8] $p_1=0,002$	1,66 [1,25; 1,68] $p_1=0,002$	2,17 [1,83; 2,25] $p_3=0,048$	1,08 [0,96; 1,19] $p_1=0,002$ $p_3=0,048$	1,21 [0,98; 1,27] $p_1=0,002$ $p_3=0,048$
В-лимфоциты, (CD3-, CD45RA+), абс. в 1 мкл крови	68,5 [47,0; 89,0]	67,5 [48,0; 87,0]	79,0 [51,0; 107,0]	110,5 [100,0; 120,0] $p_3=0,001$	104,0 [96,0; 112,0] $p_3=0,001$	102,5 [79,0; 126,0] $p_3=0,001$
НК, (CD3-, CD56+, CD16+), абс. в 1 мкл крови	7,5 [4,0; 11,0]	7,5 [7,0; 8,0]	8,5 [5,0; 12,0]	13,0 [4,0; 22,0] $p_3=0,01$	24,5 [8,0; 41,0] $p_3=0,01$	24,5 [11,0; 38,0] $p_3=0,01$
Т- NK, (CD3+ , CD56+, CD16+), абс. в 1 мкл крови	1,5 [1,0; 2,0]	2,5 [2,0; 3,0] $p_1=0,05$	2,5 [1,0; 4,0] $p_1=0,03$ $p_2=0,04$	34,0 [4,0; 64,0] $p_3=0,001$	37,5 [3,0; 72,0] $p_3=0,001$	25,5 [0,0; 51,0] $p_3=0,001$

Примечание. p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению с контрольной группой, p_2 – уровень статистической значимости различий образцов с добавлением гомоцистеина по сравнению с образцами с добавлением гомоцистеин-тиолактона, p_3 – уровень статистической значимости различий по сравнению с условно здоровыми добровольцами и больными ИБС.

теродимер, каждая цепь которого включает один иммуноглобулиноподобный домен [15]. Исходя из выше сказанного, можно предположить, что в первую очередь происходит модификация протеинов CD4-рецептора.

В-третьих, стимуляция протеолитического шеддинга, являющегося в свою очередь следствием активации моноцитов и цитотоксических Т-лимфоцитов на фоне атеросклеротического процесса у больных ИБС [16]. Протеолитическое отщепление внеклеточной части мембранных белков с поверхности клеток, или кливдж (расщепление) – процесс достаточно распространенный, в его реализации участвуют различные типы ферментов, как внеклеточные (цинкзависимые, сериновые и аспартилзависимые протеиназы), так и внутриклеточные протеолитические ферменты клеток, что приводит к образованию растворимых форм рецепторов и как следствие – уменьшению количества поверхностных структур.

Заключение

Общее содержание лейкоцитов, моноцитов, нейтрофилов и лимфоцитов в культуре клеток периферической крови под влиянием высоких концентраций гомоцистеина и гомоцистеин-тиолактона не изменилось, но при этом под влиянием высокой дозы гомоцистеина наблюдалось снижение количества фракции Т-хелперов и увеличение числа цитотоксических лимфоцитов, более выраженное в образцах крови лиц, страдающих атеросклеротическим процессом. Механизмов развития данного феномена возможно несколько, что требует дальнейшего изучения.

Литература

1. Кузник Б.И., Цыбиков Н.Н., Витковский Ю.А. Единая гуморальная система защиты организма. *Забайкальский медицинский вестник*. 2004; 4: 13-9.
2. Цыбиков Н.Н., Цыбикова Н.М. Роль гомоцистеина в патологии человека. *Успехи современной биологии*. 2007; 127(5): 471-82.

3. Мирошниченко И.И., Птицына С.Н., Кузнецова Н.Н., Калмыков Ю.М. Гомоцистеин — предиктор патологических изменений в организме человека *Российский медицинский журнал*. 2009; 17(4): 224-7.
4. Авдонин П.В., Кириенко А.П., Кожевникова Л.М., Шостак И.А., Бабалаева Н.М., Леонтьев С.Г. и др. Корреляция наличия мутации С677Т в гене метилентетрагидрофолатредуктазы и повышенный риск тромбоэмболии легочных артерий у больных из центрального региона России с венозными тромбозами. *Терапевтический архив*. 2006; 78(6): 70-6.
5. Boldyrev A. Molecular mechanisms of homocysteine toxicity. *Biochemistry* (Moscow). 2009; 74: 725-36.
6. Фефелова Е.В., Терешков П.П., Дутов А.А., Цыбиков Н.Н. Субпопуляции лимфоцитов и уровень цитокинов при экспериментальной гипергомоцистеинемии. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2015, 159(3): 336-8.
7. Пигаревский П.В. Морфометрическое исследование клеток иммунорегуляторного и эффекторного звеньев иммунитета в аорте и парааортальных лимфатических узлов при атерогенезе у человека. *Цитокины и воспаление*. 2002, (4): 21-6.
8. Czyz A., Kołacz E., Angerer D. et al. Expression of activation antigens on lymphocyte surface and circulating platelet-leukocyte aggregates in ischaemic heart disease. *Kardiol. Pol.* 2005; 62: 189-200.
9. Гольдерова А.С., Николаева И.Н., Романова А.Н., Козлов В.А. Фенотипическая характеристика лимфоцитов периферической крови при коронарном и мультифокальном атеросклерозе. *Бюллетень СО РАМН*. 2011, 31(3): 27-32.
10. Blue M.L., Daley J.F., Levine H., Schlossman S.F. Coexpression of T4 and T8 on peripheral blood T cells demonstrated by two-color fluorescence flow cytometry. *J. Immunol.* 1985; 134: 2281-6.
11. Хайдук С.В. Малые субпопуляции Т-хелперов (Th наивные тимические, Th наивные центральные, TH9, TH22 и CD4+CD8+ дважды положительные т-клетки). *Медицинская иммунология*. 2013; 15(6): 503-12.
12. Pahar B., Lackner A.A., Veazey R.S. Intestinal double-positive CD4+CD8+ T cells are highly activated memory cells with an increased capacity to produce cytokines. *Eur. J. Immunol.* 2006, 36: 583-92.
13. Фефелова Е.В., Измest'ев С.В., Цыбиков Н.Н., Терешков П.П. Ответ иммунной системы на модификацию аминокислотами белковых структур организма [Электронный ресурс]. *Забайкальский медицинский вестник*. 2017; 2: 101-11.
14. Jakubowski H. Homocysteine-thiolactone and S-nitroso-homocysteine mediate incorporation of homocysteine into protein in humans. *Clin Chem Lab Med.* 2003; 41: 1462-6.
15. Janeway C.A. Jr. The T cell receptor as a multicomponent signalling machine: CD4/CD8 coreceptors and CD45 in T cell activation. *Annu Rev Immunol.* 1992; 10: 645-74.
16. Samodova A.V., Dobrodeeva L.K. The role of shedding in the activity of immunocompetent cells with the reagin protective mechanism. *Human Physiology*. 2012; 38(4): 438-43.
2. Tsybikov N.N., Tsybikova N.M. The role of homocysteine in human pathology. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2007; 127(5): 471-82. (in Russian)
3. Miroshnichenko I.I., Ptitsyna S.N., Kuznetsova N.N., Yu.M. Kalmykov Homocysteine — a predictor of pathological changes in the human body. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal*. 2009; 17(4): 224-7. (in Russian)
4. Avdonin P.V., Kirienko A.I., Kozhevnikova L.M., Shostak N.A., Babadaeva N.M., Leontyev S.G. et al. C677T mutation in methyl-tetrahydrofolatereductase gene in patients with venous thromboses from the central region of Russia correlates with a high risk of pulmonary artery thromboembolism. *Therapevticheskiy arkhiv*. 2006; 78 (6): 70-6. (in Russian)
5. Boldyrev A. Molecular mechanisms of homocysteine toxicity. *Biochemistry* (Moscow). 2009; 74: 725-736.
6. Fefelova E.V., Tereshkov P.P., Dutov A.A., Tsybikov N.N. Lymphocytes subpopulations and cytokine levels in experimental hyperhomocysteinemia *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2015; 159(3): 336-8. (in Russian)
7. Pigarevsky P.V. Morphometric research of cells of immunoregulatory and effector components of immune system in aorta and paraortic lymph nodes at human atherogenesis. *Tsitokiny i vospalenie*. 2002; (4): 21-6. (in Russian)
8. Czyz A., Kołacz E., Angerer D. et al. Expression of activation antigens on lymphocyte surface and circulating platelet-leukocyte aggregates in ischaemic heart disease. *Kardiol. Pol.* 2005; 62: 189-200.
9. Gol'derova A.S., Nikolaeva I.N., Romanova A.N., Kozlov V.A. The phenotypic characteristic of peripheral blood lymphocytes at the coronary and multifocal atherosclerosis. *Bulleten SO RAMS*. 2011; 31(3): 27-32. (in Russian)
10. Blue M.L., Daley J.F., Levine H., Schlossman S.F. Coexpression of T4 and T8 on peripheral blood T cells demonstrated by two-color fluorescence flow cytometry. *J. Immunol.* 1985; 134: 2281-6.
11. Khaidukov S.V. Minor subsets of t-helper cells (Th thymic naive, Th central naive, Th9, Th22 and CD4+CD8+ double positive T-cells). *Meditsinskaya immunologiya*. 2013; 15(6): 503-12. (in Russian)
12. Pahar B., Lackner A.A., Veazey R.S. Intestinal double-positive CD4+CD8+ T cells are highly activated memory cells with an increased capacity to produce cytokines. *Eur. J. Immunol.* 2006; 36: 583-92.
13. Fefelova E.V., Izmest'ev S.V., Tsybikov N.N., Tereshkov P.P. Response of the immune system to aminothiols modification by the body's protein structures [Electronic resource]. *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik*. 2017; 2: 101-11. (in Russian)
14. Jakubowski H. Homocysteine-thiolactone and S-nitroso-homocysteine mediate incorporation of homocysteine into protein in humans. *Clin Chem Lab Med.* 2003; 41: 1462-6.
15. Janeway C.A. Jr. The T cell receptor as a multicomponent signalling machine: CD4/CD8 coreceptors and CD45 in T cell activation. *Annu Rev Immunol.* 1992; 10: 645-74.
16. Samodova A.V., Dobrodeeva L.K. The role of shedding in the activity of immunocompetent cells with the reagin protective mechanism. *Human Physiology*. 2012; 38(4): 438-43.

References

1. Kuznik B.I., Tsybikov N.N., Vitkovskiy Yu.A. A single humoral system for protecting the body. *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik*. 2004; 4: 13-9. (in Russian)

Сведения об авторах:

Фефелова Елена Викторовна, канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии ФГБОУ ВО ЧГМА, e-mail: fefelova.elena@mail.ru;

Терешков Павел Петрович, канд. мед. наук, зав. лаб. экспериментальной и клинической биохимии и иммунологии НИИ молекулярной медицины ФГБОУ ВО ЧГМА, e-mail: trp6915@mail.ru;

Цыбиков Намжил Нанзатович, доктор мед. наук, проф., зав. каф. патологической физиологии ФГБОУ ВО ЧГМА; e-mail: thybikov@mail.ru;

Максименя Мария Владимировна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. экспериментальной и клинической биохимии и иммунологии НИИ молекулярной медицины ФГБОУ ВО ЧГМА, e-mail: mmmv4510@mail.ru