

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

Кононова Татьяна Евгеньевна

**ДИСБАЛАНС МАЛЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ Т-ЛИМФОЦИТОВ
В ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ**

3.3.3. Патологическая физиология

Диссертация

на соискание ученой степени доктора медицинских наук

Научный консультант:

доктор медицинских наук,
профессор, член-корреспондент
РАН
О.И. Уразова

ТОМСК–2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	7
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	21
1.1 Роль малых субпопуляций Т-лимфоцитов в формировании иммунного ответа на <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	21
1.2 Характеристика Th17-лимфоцитов и их роль в иммунопатогенезе туберкулеза легких.....	30
1.2.1 Внеклеточные и внутриклеточные факторы дифференцировки Th17-лимфоцитов.....	30
1.2.2 Значение Th17-лимфоцитов и продуцируемых ими цитокинов в реализации протективного антимикобактериального иммунитета	41
1.3 Взаимосвязь Th17- и Treg-лимфоцитов в иммунопатогенезе туберкулеза легких.....	45
1.3.1 Механизмы Treg-опосредованной иммуносупрессии.....	45
1.3.2 Общие пути дифференцировки Th17- и Treg-лимфоцитов.....	48
Заключение.....	52
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	54
2.1 Объект исследования.....	54
2.2 Материал исследования.....	57
2.3 Методы исследования.....	57
2.3.1 Выделение мононуклеарных лейкоцитов из крови.....	58
2.3.2 Подсчет абсолютного числа лимфоцитов в суспензии клеток и оценка их жизнеспособности	60
2.3.3 Выделение моноцитов из культуры мононуклеарных лейкоцитов	61
2.3.4 Получение дендритных клеток путем трансформации	

	моноцитов крови	62
2.3.5	Иммуноферментный анализ секретируемых цитокинов мононуклеарными лейкоцитами и дендритными клетками крови <i>in vitro</i>	63
2.3.6	Иммунофенотипирование малых субпопуляций Т-лимфоцитов крови методом проточной цитофлуориметрии.....	65
2.3.6.1	Определение количества $CD4^+CD161^+IL-17A^+$ (Th17) лимфоцитов в крови.....	66
2.3.6.2	Определение количества $CD4^+IL-17A^+IFN\gamma^+$ (Th17/Th1) лимфоцитов в крови	70
2.3.6.3	Определение количества $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ (Treg) лимфоцитов в крови.....	71
2.3.6.4	Определение количества $\gamma\delta TCR^+$ ($\gamma\delta T$) лимфоцитов в крови.....	73
2.3.7	Определение иммунофенотипа дендритных клеток методом проточной цитофлуориметрии.....	74
2.3.8	Определение экспрессии генов транскрипционных факторов RORC2 и FoxP3 в лимфоцитах методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.....	75
2.3.8.1	Выделение тотальной РНК из мононуклеарных лейкоцитов.....	76
2.3.8.2	Синтез комплементарной ДНК с использованием реакции обратной транскрипции.....	77
2.3.8.3	Количественное определение мРНК генов транскрипционных факторов RORC2 и FoxP3 в лимфоцитах.....	77
2.3.9	Статистическая обработка результатов исследования.....	81
ГЛАВА 3.	РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	82
3.1	Содержание Th17- и Th17/Th1-лимфоцитов в крови у больных	

	туберкулезом легких.....	82
3.1.1	Содержание Th17- и Th17/Th1-лимфоцитов в крови у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания.....	82
3.1.2	Содержание Th17- и Th17/Th1-лимфоцитов в крови у больных инфильтративным и диссеминированным туберкулезом легких в зависимости от чувствительности <i>Mycobacterium tuberculosis</i> к противотуберкулезным средствам.....	83
3.2	Содержание Treg- и $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в крови у больных туберкулезом легких.....	87
3.2.1	Содержание Treg- и $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в крови у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания.....	87
3.2.2	Содержание Treg- и $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в крови у больных инфильтративным и диссеминированным туберкулезом легких в зависимости от чувствительности <i>Mycobacterium tuberculosis</i> к противотуберкулезным средствам.....	88
3.3	Секреция цитокинов <i>in vitro</i> у больных туберкулезом легких.....	90
3.3.1	Секреция IL-1 β , IL-2, IL-6, TGF β мононуклеарными лейкоцитами крови <i>in vitro</i> у больных туберкулезом легких.....	90
3.3.1.1	Секреция IL-1 β , IL-2, IL-6, TGF β мононуклеарными лейкоцитами крови <i>in vitro</i> у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания.....	90
3.3.1.2	Секреция IL-1 β , IL-2, IL-6, TGF β мононуклеарными лейкоцитами крови <i>in vitro</i> у больных инфильтративным и диссеминированным туберкулезом легких в зависимости от чувствительности <i>Mycobacterium tuberculosis</i> к	

	противотуберкулезным средствам.....	93
3.3.2	Секреция IL-17A, IL-22 и IFN γ мононуклеарными лейкоцитами крови <i>in vitro</i> у больных туберкулезом легких.....	97
3.3.2.1	Секреция IL-17A, IL-22 и IFN γ мононуклеарными лейкоцитами крови <i>in vitro</i> у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания.....	97
3.3.2.2	Секреция IL-17A, IL-22 и IFN γ мононуклеарными лейкоцитами крови <i>in vitro</i> у больных инфильтративным и диссеминированным туберкулезом легких в зависимости от чувствительности <i>Mycobacterium tuberculosis</i> к противотуберкулезным средствам.....	100
3.3.3	Секреция IL-23 дендритными клетками <i>in vitro</i> у больных туберкулезом легких.....	104
3.4	Экспрессия генов транскрипционных факторов RORC2 и FoxP3 в лимфоцитах у больных туберкулезом легких.....	106
3.4.1	Экспрессия генов транскрипционных факторов RORC2 и FoxP3 в лимфоцитах у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания.....	106
3.4.2	Экспрессия генов транскрипционных факторов RORC2 и FoxP3 в лимфоцитах у больных инфильтративным и диссеминированным туберкулезом легких в зависимости от чувствительности <i>Mycobacterium tuberculosis</i> к противотуберкулезным средствам.....	107
3.5	Многомерный факторный анализ показателей субпопуляционного состава малых Т-лимфоцитов, внеклеточных и внутриклеточных факторов их дифференцировки у больных туберкулезом легких.....	110
	ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	116

ВЫВОДЫ.....	162
СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	164
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	168

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Несмотря на ключевую роль *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) в этиологии туберкулеза, важное значение в его развитии отводится механизмам иммунной дисрегуляции. На данный момент не вызывает сомнений, что комплементарное и взаимодополняющее функционирование систем врожденного и адаптивного антигенспецифического иммунитета сопровождается эффективной элиминацией инфекционного агента на уровне барьерных тканей, или может приводить к латентному течению инфекционного процесса без клинических проявлений заболевания [Cardona P., Cardona P.J., 2019; Santos J.H.A. et al., 2019; Abraham R. et al., 2020; Safar H.A. et al., 2020; Enriquez A.B. et al., 2021; Kathamuthu G.R. et al., 2022; Li H.M. et al., 2022; Kinsella R.L. et al., 2023; Cohen S.B., Urdahl K.B., 2024]. Вместе с тем остается открытым вопрос о том, нарушение каких механизмов иммунного ответа на возбудитель способствует развитию иммунорегуляторного дисбаланса и прогрессирующему течению инфекционного процесса. Особенно актуальными являются исследования молекулярных механизмов, контролирующих баланс различных малых субпопуляций Т-лимфоцитов-хелперов (T-helper, Th), с оценкой их взаимодействий при формировании иммунной девиации в патогенезе туберкулеза легких (ТЛ).

Клетки основных популяций лимфоцитов делятся на множество малых (минорных) субпопуляций. Одной из таких малых субпопуляций Т-лимфоцитов является клеточная линия, которая по способности к секреции интерлейкина (Interleukin, IL) 17, получила название «Th17-лимфоциты» [Жирков А.А., Алексеева Л.А. и соавт., 2021; Bunte K., Beikler T., 2019; Leisching G.R., 2019; Wu B., Wan Y., 2020; Bewket G. et al., 2022; Shi Y., Wei B., 2022; Wang X. et al., 2022; Jain R. et al., 2023]. Пристальное внимание исследователей данные клетки привлекли в первую очередь потому, что оказались главными претендентами на

роль ключевых клеток-эффекторов в регуляции воспалительного процесса в патогенезе ряда аутоиммунных и инфекционных заболеваний. Установлено участие Th17-лимфоцитов в реализации защитных реакций организма при инфицировании бактериями (вне- и внутриклеточными), вирусами и грибами [Nemes E. et al., 2020; Park H.S. et al., 2021; Tomioka H. et al., 2021; Wang W. et al., 2021; Parigi T.L. et al., 2022]. Недавними экспериментальными исследованиями показано вовлечение Th17-лимфоцитов в формирование протективного иммунного ответа против *M. tuberculosis* [Franco A.R, Peri F., 2021; Fan X. et al., 2023; Guo S. et al., 2024; Ogongo P. et al., 2024; Rungelrath V. et al., 2024; Stewart E.L. et al., 2024; Sun M. et al., 2024]. Установлено, что при развитии воспалительного процесса ткани бронхоальвеолярного тракта инфильтрированы активированными и высокодифференцированными Th17-лимфоцитами, способствующими активации его барьерных функций [Liu H. et al., 2020; Bernard-Raichon L. et al., 2021; Feng J.-Y. et al., 2021; Nathan A. et al., 2021; Ogongo P. et al., 2021; Ritter K. et al., 2022; Ogongo P. et al., 2024].

Обладая фенотипической пластичностью Th17-лимфоциты способны трансформироваться в гетерогенную минорную субпопуляцию клеток – Th17/Th1-лимфоциты (Th17.1-лимфоциты). Подобно Th17-лимфоцитам, Th17/Th1-клетки участвуют в регуляции воспалительных реакций в тканях и обладают уникальными особенностями – одновременно проявлять функциональную активность Th17- и Th1-клеток [Weihaan X. et al., 2019; Moser T., Akgün K., 2020; Madrid-Paulino E. et al., 2022; Álvarez G.I. et al., 2023; Kiflie A. et al., 2023]. Между тем роль Th17/Th1-лимфоцитов в иммунопатогенезе ТЛ пока не изучена. Однако, учитывая их биологическую активность, становится очевидным, что они могут являться важным компонентом контроля инфекционного процесса.

Развитие протективного иммунного ответа при инфицировании *M. tuberculosis* непосредственно связано с активацией факторов «первой линии защиты», к числу которых относится малая субпопуляция естественных регуляторных Т-лимфоцитов – $\gamma\delta$ Т-клетки. Известно, что $\gamma\delta$ Т-лимфоциты

являются важным фактором врожденного иммунитета и при попадании в организм патогена одними из первых вовлекаются в инициацию и последующую реализацию и регуляцию антибактериального иммунитета [Hayday A.C., 2019; Li Y. et al., 2019; Chai Q. et al., 2020; Ribot J.C. et al., 2021; Hu Y. et al., 2023; Ma L. et al., 2023; O'Hara J.M. et al., 2023; Sun L. et al., 2023].

Несомненно, в формировании устойчивости организма к туберкулезной инфекции различные субпопуляции Т-лимфоцитов играют разную роль. Учитывая рассматриваемую в последнее время концепцию ведущей роли иммуносупрессии в развитии ТЛ и определении его прогрессирующего течения, особую актуальность приобретают исследования специализированных регуляторных клеток – Treg-лимфоцитов (Regulatory T cells, Treg). Показано, что повышение количества Treg-клеток и их функциональной активности приводит к снижению противoinфекционной защиты организма и сопровождается формированием вторичной иммунологической недостаточности, что в последующем может провоцировать прогрессирование воспалительного процесса и развитие тяжелых клинических форм заболевания [Ahmed A., Vyakarnam A., 2020; Van Dis E. et al., 2022; Yu X. et al., 2022; Pahuja I. et al., 2023].

Вместе с тем на этапах дифференцировки Treg-клетки тесно взаимосвязаны с Th17-лимфоцитами. Показано, что критическую роль в развитии «наивных» $CD4^+$ Т-клеток в направлении Th17- или Treg-клеток играет цитокиновое микроокружение. Так, высокие концентрации трансформирующего фактора роста (Transforming Growth Factor, TGF) β способствуют дифференцировке регуляторных $CD4^+CD25^+$ Т-клеток, в то время как очень низкие концентрации цитокина в присутствии IL-6 благоприятствуют поляризации иммунного ответа в направлении Th17-клеток [Alamino V.A. et al., 2019; Yan J.-B. et al., 2020; Salminen A., 2021; Le Menn G. et al., 2022; Ogongo P. et al., 2024]. На молекулярном-генетическом уровне баланс между Th17- и Treg-лимфоцитами устанавливается за счет антагонистического взаимодействия их транскрипционных регуляторов дифференцировки – факторов транскрипции Retinoic acid receptor-related orphan receptor (ROR) C2 и Forkhead Box P3 (FoxP3)

соответственно. Таким образом, скоординированная активность цитокинов и экспрессия транскрипционных факторов определяют направление дифференцировки данных субпопуляций Т-лимфоцитов. Кроме того, имеются основания утверждать, что Treg- и Th17-лимфоциты, обладая антагонистическими эффектами, функционируют в тесной взаимосвязи между собой [David C.J., Massagué J., 2018; Ogawa C. et al., 2018; Yan J.B. et al., 2020; Lourenço J.D. et al., 2021; Zhang S. Et al., 2021; Zhang Y. et al., 2021; Thomas R. et al., 2023; Wang J. et al., 2023].

Особого внимания заслуживает тот факт, что Th17-лимфоциты, принимая участие в защите организма от инфекции, оказались практически нечувствительными к супрессорному действию Treg-клеток. Учитывая, что клеточно-опосредованный иммунный ответ, как указывалось ранее, является необходимой составляющей эффективного контроля над туберкулезной инфекцией, участие Th17-лимфоцитов в компенсации функциональной неполноценности Th1-лимфоцитов и развитии протективных иммунных реакций противотуберкулезной защиты не вызывает сомнений.

Между тем, принимая во внимание выраженные иммунобиологические эффекты описанных малых субпопуляций Т-лимфоцитов, сведения о механизмах, регулирующих их участие в формировании иммунного ответа при ТЛ, значение в развитии различных его клинических форм, а также факторах, определяющих их баланс при данном заболевании, имеют фрагментарный характер и остаются практически не исследованными.

Степень разработанности темы исследования. На сегодняшний день установлено, что нарушения в процессе формирования противотуберкулезного иммунитета возможны на разных его этапах. На этапе реализации механизмов врожденного иммунитета определены нарушения функций макрофагов и дендритных клеток – угнетение фагоцитарной и антигенпрезентирующей, микробицидной и цитокинсекреторной активности [Rodrigues T.S. et al., 2020; Esaulova E. et al., 2021; Herrera M.T. et al., 2022; Zha B.S. et al., 2022; Peng Y.F., 2023; Rambaran S. et al., 2023]; на этапе реализации Т-клеточного

антигенспецифического иммунного ответа установлены нарушения активации Т-лимфоцитов, угнетение их цитокинсекреторной и пролиферативной активности, активация программируемой гибели [Chai Q. et al., 2020; Safar H.A. et al., 2020; Bo H. et al., 2024; Cohen S.B., Urdahl K.B., 2024; Panda S. et al., 2024; Vats D. et al., 2024; Wen Z. et al., 2024].

Относительно роли Th17-лимфоцитов в иммунопатогенезе туберкулеза имеются сведения об их выраженном регуляторном влиянии в отношении иммунокомпетентных клеток и эпителиальных клеток дыхательных путей за счет секреции IL-17A, IL-22, IL-26, фактора некроза опухоли (Tumor Necrosis Factor, TNF) α , гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor, GM-CSF), а также хемокинов – CXCL (C-X-C motif Chemokine Ligand) 9, CXCL10 и CXCL11 [Feng J.-Y. et al., 2021; Li G. et al., 2021; Belpaire A. et al., 2022; Parigi T.L. et al., 2022; Xie Y. et al., 2022; Wang Y. et al., 2023]. Важным аспектом в изучении роли Th17-лимфоцитов в патогенезе ТЛ является их тесная взаимосвязь на этапах своего созревания и специализации с субпопуляцией Treg-лимфоцитов.

Результатами клинических и экспериментальных исследований установлены механизмы угнетения антигенспецифического иммунного ответа Treg-клетками за счет контактной супрессии (экспрессии молекулы CTLA-4), конкурентного связывания фактора роста – IL-2, секреции иммуносупрессорных цитокинов (TGF β , IL-10 и IL-35) и индукции апоптоза иммунокомпетентных клеток (экспрессии молекулы CD154 (FasL), секреции перфоринов и гранзимов) [Namdeo M. et al., 2020; Zhang J.A. et al., 2020; Jiang H. et al., 2021; Téllez-Navarrete N.A. et al., 2021; Sun L. et al., 2023; Thomas R. et al., 2023; Chia J.E. et al., 2024; Tang P. et al., 2024]. Вместе с тем до сих пор не определено, какие из вышеперечисленных молекулярных механизмов лежат в основе формирования иммуносупрессии при различных клинико-патогенетических вариантах ТЛ.

Необходимо отметить, что сведения о регуляции процессов дифференцировки Th17- и Treg-лимфоцитов пока – в подавляющем большинстве случаев – получены на клетках лабораторных животных. Th17-лимфоциты

человека остаются менее изученными, и факторы, приводящие к активации/ингибированию транскрипционных регуляторов Th17-ответа, также пока не исследованы.

В свете указанных выше данных, понимание роли, а также сложных и динамических взаимодействий между малыми субпопуляциями Т-лимфоцитов в развитии иммунопатологических реакций при инфицировании *M. tuberculosis* имеет значимый научный потенциал и позволит расшифровать новые механизмы реализации противотуберкулезной резистентности организма, что может послужить перспективой для практического использования результатов в том числе разработки новых методов диагностики иммунных нарушений, целенаправленной их коррекции и вакцинопрофилактики туберкулеза.

Цель исследования: оценить механизмы дисбаланса малых субпопуляций Т-лимфоцитов в иммунопатогенезе туберкулеза легких в зависимости от клинической формы заболевания.

Задачи исследования:

1. Определить соотношение Th17- и Treg-лимфоцитов, гетерогенной субпопуляции Th17/Th1-лимфоцитов и $\gamma\delta$ T-клеток в крови у больных с инфильтративным и диссеминированным лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких.
2. Определить внеклеточные факторы дифференцировки Th17- и Treg-лимфоцитов (по секреции цитокинов – IL-1 β , IL-2, IL-6, TGF β мононуклеарными лейкоцитами крови и IL-23 дендритными клетками *in vitro*) у больных инфильтративным и диссеминированным лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких.
3. Проанализировать экспрессию генов транскрипционных факторов RORC2 и FoxP3 – внутриклеточных регуляторов дифференцировки Th17- и Treg-лимфоцитов, и установить механизмы дисбаланса данных клеточных субпопуляций у больных инфильтративным и диссеминированным лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких.

4. Оценить функциональную активность Th17-, Th17/Th1-лимфоцитов и $\gamma\delta$ T-клеток по базальной и BCG-индуцированной секреции IL-17A, IL-22, интерферона (Interferon, IFN) γ *in vitro* у больных инфильтративным и диссеминированным лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких.
5. Провести сравнительную оценку нарушений баланса и иммунорегуляторных функций малых субпопуляций Т-лимфоцитов у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности *M. tuberculosis*.

Научная новизна исследования. Впервые проведено комплексное исследование молекулярно-генетических факторов дисбаланса малых субпопуляций Т-лимфоцитов крови (в том числе Th17/Treg-дисбаланса) в иммунопатогенезе туберкулеза легких с учетом клинической формы болезни (инфильтративный, диссеминированный) и в зависимости от лекарственной чувствительности возбудителя.

Установлено, что развитие инфильтративного лекарственно-чувствительного и лекарственно-устойчивого туберкулеза легких характеризуется Th17-поляризацией иммунного ответа с увеличением относительного и абсолютного количества $CD4^+CD161^+IL-17A^+$ клеток. При этом разгар клинической картины диссеминированного туберкулеза легких в случае лекарственной резистентности возбудителя заболевания сопровождается иммунным отклонением в направлении Treg-лимфоцитов и характеризуется повышением относительного и абсолютного числа $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ клеток *in vitro*. Показана взаимосвязь увеличения числа хелперных Т-клеток типа 17 с внеклеточными и внутриклеточными факторами – гипосекрецией $TGF\beta$ в сочетании с гиперсекрецией IL-6 и повышением экспрессии мРНК гена транскрипционного фактора RORC2 в лимфоцитах. При этом гиперсекреция $TGF\beta$ и увеличение экспрессии мРНК гена транскрипционного регулятора дифференцировки – фактора транскрипции FoxP3 – опосредует развитие Treg-клеток. Обосновано потенцирующее влияние на созревание Th17-клеток

цитокинов, секретируемых мононуклеарными лейкоцитами (IL-1 β) и дендритными клетками (IL-23).

Впервые у пациентов с различными клиническими формами лекарственно-чувствительного и лекарственно-устойчивого туберкулеза легких проведен сравнительный анализ адаптивной гетерогенной субпопуляции Th17/Th1-лимфоцитов (CD4⁺IL-17A⁺IFN γ ⁺ клеток). При инфильтративном туберкулезе легких (независимо от лекарственной чувствительности *M. tuberculosis*) выявлено повышение в крови относительного и абсолютного числа Th17/Th1-лимфоцитов при снижении количества Т-лимфоцитов, экспрессирующих $\gamma\delta$ Т-клеточный рецептор – $\gamma\delta$ TCR⁺ клеток, являющихся одним из ключевых факторов «первой линии защиты» организма. Доказано, что повышение количества Th17-лимфоцитов и Th17/Th1-лимфоцитов в крови у больных лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым инфильтративным туберкулезом легких сочетается с базальной гиперсекрецией *in vitro* их маркерных цитокинов – IL-17A, IL-22 и IFN γ , что характеризует активацию клеток и их вовлечении в механизмы реализации противотуберкулезного иммунитета наряду с основными субпопуляциями хелперных Т-лимфоцитов (Th1 и Th2). При этом гиперсекреция указанных цитокинов у пациентов с диссеминированным туберкулезом легких, с наибольшей выраженностью при лекарственно-резистентной форме заболевания в случае секреции IL-17A, как базальной, так и после индукции антигеном – вакцинным штаммом BCG (*Bacillus Calmette–Guérin*), свидетельствуют о вкладе других иммунокомпетентных клеток крови, в частности $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов, в реализацию протективных иммунных реакций.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные данные фундаментального характера расширяют имеющиеся на данный момент сведения об особенностях иммунопатогенеза туберкулеза легких и вносят дополнительный вклад в формирование целостного представления о молекулярно-генетических механизмах структурно-функциональной поляризации малых субпопуляций Т-лимфоцитов и иммунного Th17/Treg-дисбаланса в процессе реализации противoinфекционного иммунитета на

уровне факторов транскрипции и иммунорегуляторных цитокинов. Результаты оценки факторов, определяющих дифференцировку, баланс и функциональную активность Th17-лимфоцитов и Treg-клеток, а также Th17/Th1-лимфоцитов и $\gamma\delta$ T-клеток при различных клинических формах туберкулеза легких представляются значимыми как с позиции новых знаний о механизмах иммунного отклонения, так и послужат основой для разработки новых технологических приемов диагностики патологического течения иммунного ответа и поиска молекулярных мишеней фармакологического воздействия. Полученные новые данные имеют важное практическое значение, прежде всего, для пациентов с диссеминированным туберкулезом легких, выделяющих *M. tuberculosis*, резистентные к средствам противотуберкулезной терапии, и обосновывают целесообразность применения иммунокоррекции в комплексной терапии заболевания, обоснованной с позиций знаний о закономерностях его иммунопатогенеза.

Результаты настоящей работы используются в учебном процессе в подразделениях ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России – на кафедре патофизиологии в тематических разделах дисциплин «Патофизиология, клиническая патофизиология» (на врачебных факультетах для специальностей 31.05.01 Лечебное дело и 31.05.02 Педиатрия), «Патология (патологическая физиология)» (в ординатуре для укрупненной группы специальностей 31.00.00 Клиническая медицина) и на кафедре фтизиатрии и пульмонологии в тематических разделах дисциплины «Фтизиатрия» (на врачебных факультетах для специальностей 31.05.01 Лечебное дело и 31.05.02 Педиатрия).

Методология и методы исследования. Для реализации поставленных задач в работе использовались молекулярно-генетические методы для оценки экспрессии генов транскрипционных факторов, культуральные и иммунологические методы со стимуляцией лимфоцитов к внутриклеточной продукции цитокинов для типирования клеток и с индукцией моноклеарных лейкоцитов к внеклеточной (в культуральную среду) секреции цитокинов поляризации Т-клеточной дифференцировки, а также для трансформации

моноцитов крови в дендритные клетки. Исследования выполнялись на базе научно-образовательной лаборатории молекулярной медицины кафедры патофизиологии и Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России. В качестве материала для исследований использовали венозную кровь. Основные методы исследования:

1. Метод градиентного центрифугирования для выделения моноклеарных лейкоцитов из цельной крови и последующей экстракции моноцитов из взвеси моноклеарных лейкоцитов;
2. Культуральный метод: для инкубирования моноклеарных лейкоцитов крови в присутствии и без индуктора вакцинного штамма BCG; для стимуляции лимфоцитов к внутриклеточной продукции цитокинов в присутствии коктейля, содержащего 4-форбол-12-миристат-13-ацетат (ФМА) и иономицин; трансформации моноцитов крови в дендритные клетки с использованием рекомбинантных цитокинов – IL-4 и GM-CSF и липополисахарида;
3. Метод проточной цитофлуориметрии для иммунофенотипирования Th17-лимфоцитов (определение экспрессии поверхностных рецепторных молекул CD4, CD161 и внутриклеточного цитокина IL-17A), Th17/Th1-лимфоцитов (определение экспрессии поверхностного рецептора CD4 и внутриклеточных цитокинов IL-17A и IFN γ), Treg-клеток (определение экспрессии поверхностных рецепторов CD4, CD25 и внутриклеточного маркера фактора транскрипции FoxP3), $\gamma\delta$ T-лимфоцитов (определение экспрессии поверхностного $\gamma\delta$ T-клеточного рецептора) и дендритных клеток (определение экспрессии поверхностного рецептора CD209);
4. Иммуноферментный анализ базальной и антиген-индуцированной (после инкубации с вакцинным штаммом BCG) секреции цитокинов моноклеарными лейкоцитами крови (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-17A, IL-22, IFN γ , TGF β) и дендритными клетками (IL-23) *in vitro*;
5. Сорбентно-колоночный метод для выделения тотальной РНК из моноклеарных лейкоцитов;

6. Реакция обратной транскрипции для синтеза комплементарной ДНК на матрице РНК;
7. Метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для определения экспрессии генов транскрипционных факторов RORC2 и FoxP3 в лимфоцитах;
8. Статистический анализ результатов.

Положения, выносимые на защиту:

1. При туберкулезе легких дисбаланс малых субпопуляций Т-лимфоцитов (Th17, Treg, Th17/Th1, $\gamma\delta$ T) в крови связан с клинической формой заболевания. При инфильтративном туберкулезе легких поляризация иммунного ответа развивается по типу Th17, а при диссеминированном туберкулезе легких – в направлении Treg-лимфоцитов, что подтверждается данными корреляционного и многомерного факторного анализов.
2. Развитие Th17-фенотипа Т-клеток с повышением экспрессии мРНК гена фактора транскрипции RORC2 в лимфоцитах при инфильтративном туберкулезе легких опосредовано дефицитом секреции TGF β в сочетании гиперсекрецией IL-6.
3. Иммунное отклонение в направлении Treg-лимфоцитов с увеличением экспрессии мРНК гена фактора транскрипции FoxP3 в лимфоцитах при диссеминированном туберкулезе легких определяется при наличии лекарственной устойчивости возбудителя заболевания и связано с гиперсекрецией TGF β на фоне дефицита секреции IL-2.
4. Th17-поляризация иммунного ответа при инфильтративном туберкулезе легких формируется вследствие увеличения количества и активации цитокин-секреторной функции CD4⁺CD161⁺IL17A⁺ (Th17) и CD4⁺IL-17A⁺IFN γ ⁺ (Th17/Th1) лимфоцитов в условиях дефицита $\gamma\delta$ T-клеток в крови.
5. Отсутствие IL-17A/IL-22-секреторного *in vitro* ответа малых субпопуляций хелперных Т-лимфоцитов на индукцию антигеном у больных инфильтративным и диссеминированным туберкулезом легких

свидетельствует об истощении резерва Th17-механизмов противотуберкулезной защиты.

6. Активация провоспалительной функции $\gamma\delta$ T-клеток врожденного иммунитета у больных диссеминированным туберкулезом легких сопровождается гиперсекрецией цитокинов IL-17A и IFN γ .

Степень достоверности и апробация результатов. Полученные в ходе научного исследования результаты обладают высокой степенью достоверности, что подтверждается достаточным объемом клинико-лабораторного материала и количеством исследований, проведенных *in vitro* с использованием современных методических приемов и высокоинформативных молекулярно-генетических методов, включая проточную цитофлуориметрию, полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени, иммуноферментный анализ, а также высокотехнологичного оборудования и корректных критериев для статистической обработки результатов.

Основные положения диссертации докладывались и обсуждались: на XVIII Межгородской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии» (Санкт-Петербург, 2012); Научно-практической конференции с международным участием, посвященной памяти член-корр. РАМН, профессора А.К. Стрелиса «Достижения в лечении множественно лекарственно-устойчивого туберкулеза (10-летний опыт)» (Томск, 2012); XIX Межгородской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии» (Санкт-Петербург, 2013); Пятой международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине» (Санкт-Петербург, 2013); III Международной научно-практической конференции «Медицина: актуальные вопросы и тенденции развития» (Краснодар, 2013); Юбилейной XX всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы патофизиологии – 2014» (Санкт-Петербург, 2014); III Конгрессе Национальной ассоциации фтизиатров (Санкт-Петербург, 2014); XV Всероссийском научном Форуме с международным участием имени

академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2015); V Конгрессе Национальной ассоциации фтизиатров (Санкт-Петербург, 2016); IV Ежегодной научной конференции, посвященной Дню Российской науки (Новосибирск, 2016); Калининградском научном форуме (Калининград, 2016); XVI Всероссийском научном Форуме с международным участием имени академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2017); Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 130-летию кафедры патофизиологии Императорского (государственного) томского университета – Томского медицинского института – Сибирского государственного медицинского университета «Типовые патологические процессы: современные тренды в науке» (Томск, 2020); II Всероссийской заочной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 110-летию кафедры патологической физиологии имени академика А.А. Богомольца и памяти профессора Н.П. Чесноковой «Актуальные проблемы патологии: теоретические и клинические аспекты» (Саратов, 2021); Юбилейной всероссийской научно-практической конференции «Фтизиатрия в XXI веке: взгляд в будущее», посвященной 80-летию Новосибирского научно-исследовательского института туберкулеза (Новосибирск, 2023); I Евразийском конгрессе по патофизиологии (Москва, 2024), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Нейрогуморальные механизмы регуляции физиологических функций в норме и при патологии» (Томск, 2025).

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (государственный контракт №16.512.11.2046), Российского фонда фундаментальных исследований (проект №11-04-98057-р_сибирь_a), Совета по грантам Президента Российской Федерации для поддержки ведущих научных школ (гранты НШ-614.2012.7, НШ-4184.2014.7, НШ-2690.2018.7).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 28 работ, из них 18 – в научных журналах, включенных в перечень рекомендованных ВАК при

Минобрнауки России рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук и индексируемых в международных базах цитирования Scopus (9 статей) и WoS (4 статьи), 9 статей и тезисов в материалах конференций, форумов, конгрессов, съездов и 1 глава в монографии.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 213 страницах, состоит из введения, четырех глав, включающих обзор литературы, описание объекта, материала и методов исследований, собственных результатов и их обсуждение, выводов, списка сокращений и литературы. Работа иллюстрирована 26 рисунками и 20 таблицами. Библиографический список включает 442 источника, в том числе 48 отечественных и 394 зарубежных авторов.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации. Соискатель принимал непосредственное участие в разработке научной идеи, постановке цели и задач диссертации, отработке методических приемов, организации и проведении экспериментальных работ. Лабораторные исследования проводились соискателем лично или при его прямом участии. Результаты получены, статистически обработаны и обсуждены автором самостоятельно. На их основе соискателем подготовлены к публикации материалы по теме диссертации (тезисы, статьи) – полностью или их разделы в соавторстве. Оформление диссертации и автореферата выполнены автором лично.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Роль малых субпопуляций Т-лимфоцитов в формировании иммунного ответа на *Mycobacterium tuberculosis*

На данный момент не вызывает сомнений, что в основе развития туберкулеза легких (ТЛ) лежит комплекс этиологических и патогенетических факторов, приводящих к патологическому течению противоинфекционного иммунного ответа. При этом важное значение отводится как биологическим свойствам возбудителя заболевания, особенно лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) к средствам этиотропной терапии, увеличение которой регистрируют последние несколько лет, так и индивидуальным особенностям иммунологической реактивности самого организма, определяющейся функциональным состоянием иммунокомпетентных клеток [Есимова И.Е. и соавт., 2012; 2014; Чурина Е.Г. и соавт., 2016; Qin S. et al., 2021; Niu H. et al., 2022; Singh R. et al., 2022; Wang Y. et al., 2023; Paterson R.L. et al., 2024].

В соответствии с современными представлениями, развитие протективных иммунных реакций на внутриклеточные патогены, в частности *M. tuberculosis*, определяется состоятельностью врожденного и адаптивного антигенспецифического иммунного ответа, основная роль в осуществлении которого принадлежит антигенпрезентирующим клеткам (АПК) и Т-лимфоцитам-хелперам (T-helper, Th) типа 1 [Beutler B., Hoffmann J., 2009; Sai Priya V.H. et al., 2010; Kamath A.T. et al., 2012; Saini C. et al., 2018; Alamin V.A. et al., 2019; Bunte K., Beikler T., 2019; Lu Y.J. et al., 2021; Mpande C.A.M. et al., 2021; Wik J.A., Skålhegg B.S., 2022; Liu X. et al., 2023].

На сегодняшний день установлено, что в процессе реализации противотуберкулезного иммунитета возможны нарушения на различных его

этапах. Дефект активации АПК, прежде всего макрофагов и дендритных клеток, и их последующая дисфункция сопровождаются нарушением процессов связывания антигена этими клетками и его презентации «наивным» CD4⁺ Т-лимфоцитам – Th0 [Хаитова З.К. и соавт., 2013; Чурина Е.Г. и соавт., 2019; Enriquez A.V. et al., 2022; Lee Y.H. et al., 2022]. Нарушение внутриклеточной трансдукции цитокин- и рецепторопосредованных сигналов, генерируемых в процессе межклеточных взаимодействий, опосредует нарушение активации Т-лимфоцитов [Есимова И.Е. и соавт., 2012, 2017; Headley C.A. et al., 2024]. Таким образом, развивающееся при инфицировании *M. tuberculosis* патологическое течение Th1-зависимого антигенспецифического иммунного ответа способствует клинической манифестации и прогрессирующему течению ТЛ, а в некоторых случаях определяет риск неблагоприятного исхода заболевания.

Вместе с тем в формировании эффективной противотуберкулезной защиты следует учитывать и другие субпопуляции Т-клеток, которые могут являться активными участниками антигенспецифического иммунного ответа, реализующегося на уровне системных иммунологических реакций и «мукозального иммунитета» в ткани легких [Chen X. et al., 2010; Bunte K., Beikler T., 2019; Jiang J. et al., 2023].

В последние годы пристальное внимание уделяется различным субпопуляциям Т-лимфоцитов, особенно интенсивно развивается направление, связанное с изучением Th-лимфоцитов. Известно, что CD4⁺ Т-клетки в зависимости от экспрессии транскрипционного фактора, секреции цитокинов и выполняемой в организме функции классифицируются на следующие подтипы: Th0 (или «наивные», недифференцированные), Th1-, Th2-, Th9-, Th17-, Th22-лимфоциты, фолликулярные Th-клетки (T follicular helper, Tfh) и регуляторные Т-клетки (Regulatory T cells, Treg) [Таширева Л.А. и соавт., 2017; Li Q. et al., 2012; Walsh K.P., Mills K.H., 2013; Zheng S.G., 2013; Nanke Y. et al., 2016; Eizenberg-Magar I. et al., 2017; Knochelmann H.M. et al., 2018; Lee G.R., 2018; Alaminio V.A. et al., 2019; Bunte K., Beikler T., 2019; Wik J.A., Skålhegg B.S., 2022; Kajdaniuk D. et al., 2023; Yang S. et al., 2025]. При этом гомеостаз в структуре данных

субпопуляций играет важную роль в целостном и скоординированном процессе эрадикации возбудителя и предотвращении распространения инфекции.

В течение последних лет предметом активного изучения являются разнообразные малые (минорные) субпопуляции Т-лимфоцитов, к которым относятся Th17-лимфоциты. С момента открытия активно исследуется роль этих клеток в патогенезе различных заболеваний [Жирков А.А., Алексеева Л.А. и соавт., 2021; Alamino V.A. et al., 2019; Alexander M. et al., 2022; Hall J.A. et al., 2022; Wang J. et al., 2024]. Установлено, что Th17-лимфоциты участвуют в развитии протективных реакций организма при бактериальных и грибковых инфекциях [Huang W. et al., 2004; Korn T. et al., 2009; Bai H. et al., 2017; Bunte K., Beikler T., 2019; Li H.M. et al., 2022; Paroni M. et al., 2023]. Кроме того, показано, что эти клетки имеют важное значение в патогенезе аутоиммунных заболеваний, таких как ревматоидный артрит, рассеянный склероз, псориаз и аутоиммунные энтеропатии [Трошина Е.А., Сеньюшкина Е.С., 2019; Tesmer L.A. et al., 2008; Lee G.R., 2018; Zhang S., 2018; Bunte K., Beikler T., 2019; Tang M. et al., 2019; Fakhfakh R. et al., 2022; Li J. et al., 2023; Benezeder T. et al., 2024; Fan G. et al., 2024; Yan G. et al., 2024].

Активно изучается роль Th17-лимфоцитов в развитии инфекционных заболеваний дыхательных путей. Недавними исследованиями показано, что Th17-лимфоциты принимают участие в реализации иммунного ответа на *M. tuberculosis*, способствуя формированию противоинфекционного иммунитета [Coulter F. et al., 2017; Saini C. et al., 2018; Shen H., Chen Z.W., 2018; Li H.M. et al., 2022; Kumari A. et al., 2023].

Обладая способностью секретировать широкий спектр провоспалительных цитокинов, главным образом интерлейкин (Interleukin, IL) 17A, IL-22, IL-26, фактор некроза опухоли (Tumor Necrosis Factor, TNF) α , Th17-лимфоциты привлекают иммунокомпетентные клетки (нейтрофилы, макрофаги и Th1-клетки) в очаг воспаления и контролируют инфекционный процесс [Bystrom J. et al., 2015; Lyadova I.V., Panteleev A.V., 2015; Trentini M.M. et al., 2016; Coulter F. et al., 2017; Nikitina I.Yu. et al., 2018; Wik J.A., Skålhegg B.S., 2022; O'Hara J.M. et

al., 2023].

М. Umemura с коллегами [2007] установили, что при микобактериальной инфекции (в *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) модели) ключевой цитокин Th17-лимфоцитов – IL-17 имеет важное значение в процессах генерации, активации и миграции нейтрофилов в легкие, а также оказывает влияние на развитие IFN γ -продуцирующих Т-клеток [Umemura M. et al., 2007]. В свою очередь, S.A. Khader с коллегами [2007] продемонстрировали, что вакцинация BCG сопровождается активацией в легких вначале популяции IL-17-продуцирующих CD4⁺ Т-клеток, экспрессирующих хемокины CXCL (C-X-C motif Chemokine Ligand) 9, CXCL10 и CXCL11, а уже потом происходит рекрутирование интерферон (Interferon, IFN) γ -продуцирующих CD4⁺ Т-клеток с развитием противотуберкулезного иммунитета [Khader S.A. et al., 2007; Shen H., Chen Z.W., 2018; Wang H. et al., 2024]. В связи с этим, можно предположить, что при ТЛ Th17-ответ является важным механизмом, детерминирующим защиту бронхоальвеолярного тракта и обеспечивающим активацию его барьерных функций.

Относительно недавно была открыта еще одна малая субпопуляция гетерогенных клеток – Th17/Th1-лимфоциты, сочетающие характеристики как Th17-клеток, так и Th1-лимфоцитов и обладающие уникальной способностью секретировать не только IL-17, но и ключевой провоспалительный цитокин – IFN γ [Куклина Е.М., Глебездина Н.С., 2023; Nanke Y. et al., 2016; Uchiyama R. et al., 2017; Nikitina I.Yu. et al., 2018; Weihaan X. et al., 2019; Chen Y.H. et al., 2021; Куклина Е.М., Глебездина Н.С., 2023]. Номенклатура данных клеток не имеет единообразия и в ряде работ эти клетки обозначаются как Th1/Th17, Th1/17, Th17/1, Th17-1, Th17.1, а также IFN γ -секретирующие Th17 [Maggi L. et al., 2012; Duhon T. et al., 2014; Ramstein J. et al., 2016; Dhaeze T. et al., 2019; Quirant-Sanchez B. et al., 2019; Nishihara H. et al., 2020; Dankers W. et al., 2021].

Молекулярные механизмы, лежащие в основе дифференцировки Th17/Th1-лимфоцитов *in vivo*, остаются неясными. Предполагается, что высокая пластичность Th17-лимфоцитов при соответствующем цитокиновом микроокружении лежит в основе редифференцировки этих клеток с

приобретением фенотипа, подобного Th1-лимфоцитам с высокой продукцией IFN γ . Главным инициатором подобного сдига является ключевой цитокин дифференцировки Th1-лимфоцитов – IL-12. Показано, что высокая концентрация IL-12 способствует развитию субпопуляции Th1-подобных клеток Th17, экспрессирующих транскрипционные факторы, ассоциированные с Th1-лимфоцитами – T-bet (T-box expressed in T cells) и STAT (Signal Transduction and Activation of Transcription) 4 и хемокиновый рецептор CXCR3 (C-X-C chemokine receptor type 3). Таким образом, данная клеточная субпопуляция обладает фенотипическими особенностями, общими для линий Th17- и Th1-лимфоцитов, и характеризуется экспрессией на своей поверхности мембранных молекул CD4, CD161, CCR6 (C-C chemokine receptor type 6), CXCR3 и секрецией IL-17, IFN γ . Примечательно, что впоследствии эти клетки могут полностью утрачивать способность к секреции IL-17, сохраняя при этом Th17-ассоциированные маркеры – экспрессию транскрипционного фактора ROR (Retinoic acid receptor-related orphan receptor) C2 и молекул CD161, CCR6 и становиться ex-Th17 – «бывшими Th17-лимфоцитами» [Куклина Е.М., Глебездина Н.С., 2023; Куклина Е.М., 2025; Maggi L. et al., 2012; Ramesh R. et al., 2014; Ramstein J. et al., 2016; Weihan X. et al., 2019; Loos J. et al., 2020; Chen Y.H. et al., 2021; Dankers W. et al., 2021; Wood S. et al., 2024].

Необходимо отметить, что помимо IL-12 редифференцировку зрелых Th17-лимфоцитов в направлении Th1 способен индуцировать IL-23, являющийся одним из основных цитокинов, участвующих в развитии Th17-клеток. Показано, что при рестимуляции Th17-лимфоцитов IL-23 способствует обретению ими Th1-подобного фенотипа [Duhon R. et al., 2013; Millier M.J. et al., 2022; Paroni M. et al., 2023]. Также в процессе Th1-поляризации Th17-лимфоцитов обсуждается роль трансформирующего фактора роста (Transforming Growth Factor, TGF) β , являющегося классическим стимулятором первичной дифференцировки «наивных» CD4⁺ Т-лимфоцитов в направлении Th17. Ингибируя экспрессию транскрипционного фактора T-bet, TGF β препятствует переходу Th0 в Th1-подобные клетки и способствует стабилизации фенотипа

классических Th17-лимфоцитов [Куклина Е.М., Глебездина Н.С., 2023; Minns D. et al., 2021; Li H. et al., 2022].

В экспериментальных исследованиях зарубежных коллег показано, что при инфицировании мышей грибом *Candida albicans* [Jain R. et al., 2016] или внутриклеточной бактерией *Listeria monocytogenes* [Uchiyama R. et al., 2017] происходит индукция Th17/Th1-клеток под воздействием IL-1 β [Лазарева Н.М. и соавт., 2023; Nanke Y. et al., 2016; Uchiyama R. et al., 2017; Weihan X. et al., 2019; Chen Y.H. et al., 2021].

Вместе с тем в литературе рассматриваются альтернативные пути развития Th17/Th1-лимфоцитов, в частности одним из таких механизмов предполагается редифференцировка зрелых Th1-лимфоцитов или непосредственная дифференцировка «наивных» CD4⁺ Т-лимфоцитов в клетки с промежуточным фенотипом Th17/Th1 [Куклина Е.М., Глебездина Н.С., 2023; Mazzoni A. et al., 2019; Leipe J. et al., 2020]. Однако эти сведения носят фрагментарный теоретический характер и на данный момент не имеют доказательного экспериментального подтверждения.

За счет выраженного провоспалительного потенциала Th17/Th1-лимфоцитам в настоящее время отводится важная роль в патогенезе разнообразных воспалительных процессов. Несмотря на то, что в крови содержание этих клеток немногочисленно (не превышает 5%), Th17/Th1-лимфоциты широко представлены в инфильтратах воспаленных тканей, где их количество может достигать 50-60% от присутствующих там лимфоцитов ввиду способности преодолевать гистогематические барьеры. Показано существенное превалирование этих клеток в очаге воспалительного процесса при заболеваниях кишечника, ревматоидном артрите, рассеянном склерозе и саркоидозе [Куклина Е.М., Глебездина Н.С., 2023; Ramstein J. et al., 2016; Dhaeze T. et al., 2019; Quirant-Sanchez B. et al., 2019; Dankers W. et al., 2021].

Кроме того, Th17/Th1-лимфоциты оказались устойчивыми к супрессорному действию Treg, что свидетельствует о важном значении этих клеток в развитии инфекционных и аутоиммунных заболеваний [Gonzalez Y. et

al., 2015]. Вместе в тем, роль этой субпопуляции клеток в иммунопатогенезе ТЛ пока не изучена, однако, учитывая спектр продуцируемых ими цитокинов, становится очевидным, что они могут являться важным компонентом в развитии защитных реакций организма при инфицировании *M. tuberculosis*.

В аспекте обсуждения протективных иммунных реакций, формирующихся при инфицировании *M. tuberculosis*, необходимо учитывать еще одну малую субпопуляцию Т-лимфоцитов – $\gamma\delta$ Т-клетки. $\gamma\delta$ Т-лимфоциты относятся к естественным регуляторным Т-лимфоцитам, экспрессирующим на своей поверхности $\gamma\delta$ Т-клеточный рецептор ($\gamma\delta$ Т-Cell Receptor, $\gamma\delta$ TCR). $\gamma\delta$ Т-клетки преимущественно представлены в барьерных тканях, включая слизистые оболочки респираторного тракта, при этом в крови их количество не превышает 5% [Umemura M. et al., 2016; Coulter F. et al., 2017; Chen X.M. et al., 2018; Kathamuthu G.R. et al., 2021; O'Hara J.M. et al., 2023; Roy Chowdhury R. et al., 2023; Xia M. et al., 2023; Guo J. et al., 2024; Ji X. et al., 2024; Nanda N., Alphonse M.P., 2024].

Считается, что $\gamma\delta$ Т-лимфоциты соединяют врожденную и адаптивную иммунную систему. Однако приоритетная роль $\gamma\delta$ Т-клеток отводится их эффектам на уровне системы мукозального иммунного ответа (то есть иммунитета слизистых оболочек). Являясь, наряду с макрофагами и дендритными клетками, ключевым элементом врожденного иммунитета, $\gamma\delta$ Т-клетки также принимают участие в реализации адаптивного иммунного ответа. По мнению ряда авторов, $\gamma\delta$ Т-лимфоциты играют решающее значение в процессах распознавания *M. tuberculosis*, инициации, последующем развитии противоинфекционного иммунного ответа, а также эрадикации возбудителя [Чурина Е.Г. и соавт., 2013; Meraviglia S. et al., 2011; Hayday A.C., 2019; Muro R. et al., 2019; Kathamuthu G.R. et al., 2021; Saura-Esteller J. et al., 2022; Bhat S.A. et al., 2023; Wei J. et al., 2024].

Вклад $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов в реакции врожденного иммунитета при инфицировании *M. tuberculosis* осуществляется за счет цитотоксической эффекторной функции этих клеток. Секретируя цитолитические молекулы –

гранулизин, перфорин, гранзимы А и В, $\gamma\delta$ T-клетки осуществляют лизис *M. tuberculosis*, расположенных как вне-, так и внутри макрофагов [Нижегородова Д.Б., Зафранская М.М., 2009; Чурина Е.Г. и соавт., 2013; Авербах М.М. и соавт., 2018; Meraviglia S. et al., 2011; Zou S. et al., 2022]. Кроме того, $\gamma\delta$ T-лимфоциты, обладая высокой чувствительностью своего $\gamma\delta$ T-рецептора к фосфоантигенам микробного происхождения, способны распознавать и выявлять макрофаги, инфицированные всего одной *M. tuberculosis* [Чурина Е.Г. и соавт., 2013; Авербах М.М. и соавт., 2018; Morrison A.L. et al., 2023; Shekarkar Azgomi M. et al., 2024].

Участие $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в реакциях адаптивного иммунитета осуществляется за счет их иммунорегуляторной функции. Так, секретируя провоспалительные цитокины $IFN\gamma$, $TNF\alpha$ и хемокины, а также осуществляя контактное взаимодействие (за счет молекул CD28 – CD80/86, CD40L – CD40, CD2 – LFA (Lymphocyte Function-associated Antigen) 3, LFA-1 – ICAM (Intercellular Adhesion Molecule) 1), эти клетки способствуют вовлечению макрофагов и дендритных клеток в антигенспецифический иммунный ответ [Нижегородова Д.Б., Зафранская М.М., 2009; Чурина Е.Г. и соавт., 2013; Meraviglia S. et al., 2011; Hayday A.C., 2019; Parveen A. et al., 2024; Shekarkar Azgomi M. et al., 2024].

Вместе с тем, рядом зарубежных исследователей было установлено, что в ответ на стимуляцию антигеном $\gamma\delta$ T-клетки способны секретировать ключевой цитокин Th17-лимфоцитов – IL-17. Так, при инфицировании *M. tuberculosis* широко представленные в пораженных тканях легкого $\gamma\delta$ T-клетки обладали выраженной IL-17-секретирующей способностью [Khader S.A., Cooper A.M., 2008; Peng M.Y. et al., 2008; Khader S.A., Gopal R., 2010; Coulter F. et al., 2017; Chen X.M. et al., 2018; Morrison A.L. et al., 2023; O'Hara J.M. et al., 2023]. S.A. Khader и соавторы [2008] продемонстрировали, что при интратрахеальном введении мышам вакцины BCG $\gamma\delta$ T-клетки в значительной степени усиливали секрецию IL-17 в очаге инфекции, и эта секреция зависела от продуцируемого дендритными клетками IL-23 [Khader S.A., Cooper A.M., 2008]. В свою очередь

Yoshida Y. Okamoto с коллегами [2010] продемонстрировали важную роль IL-17A-секретирующих $\gamma\delta$ T-клеток в предотвращении развития микобактериальной инфекции за счет индукции формирования и созревания гранулемы. Было показано, что $\gamma\delta$ T-лимфоциты способствуют увеличению экспрессии на поверхности иммуннокомпетентных клеток интегринового рецептора LFA-1 и лиганда к нему – молекул межклеточной адгезии ICAM-1, а также повышению экспрессии макрофагами хемокина CCL2, необходимых для формирования гранулемы. По мнению авторов, опосредованное IL-17A-секретирующими $\gamma\delta$ T-клетками повышение межклеточных взаимодействий через молекулы LFA-1 – ICAM-1 и индукция хемотаксиса клеток в очаг воспаления способствуют образованию гранулемы в инфицированном легком [Okamoto Y.Y. et al., 2010; Shen H., Chen Z.W., 2018; Nanda N., Alphonse M.P., 2024].

В работах зарубежных исследователей было показано, что $\gamma\delta$ T-лимфоциты также способны модулировать активность нейтрофилов и привлекать их в поврежденные ткани легкого для удаления некротизированных эпителиальных клеток [Chen X.M. et al., 2018; Morrison A.L. et al., 2023; Nanda N., Alphonse M.P., 2024].

Кроме того, $\gamma\delta$ T-клетки оказывают влияние на течение регенеративных процессов в эпителии дыхательных путей. Синтезируя ростовые факторы (фактор роста фибробластов (Fibroblast Growth Factor, FGF) 9, фактор роста кератиноцитов (Keratinocyte Growth Factor, KGF)), действующие на эпителиальные клетки, $\gamma\delta$ T-лимфоциты участвуют в поддержании регенерации эпителия слизистых оболочек, что имеет важное значение в исходе воспалительного процесса [Нижегородова Д.Б., Зафранская М.М., 2009; Chen X.M. et al., 2018].

Учитывая, что проникновение в организм *M. tuberculosis* сопровождается активацией в первую очередь мукозального иммунитета в лимфоидной ткани бронхоальвеолярного тракта, где важнейшая роль принадлежит факторам «первой линии защиты», представленным преимущественно $\gamma\delta$ T-клетками, их

функциональная состоятельность имеет важное значение в регуляции воспаления в эпителиальных тканях легкого и вносит большой вклад в инициацию и развитие антимикобактериального иммунитета.

1.2 Характеристика Th17-лимфоцитов и их роль в иммунопатогенезе туберкулеза легких

Первое упоминание о Th17-лимфоцитах произошло в 2003 году, когда A.L. Gurney с коллегами установил, что при воздействии на «наивные» CD4⁺ Т-лимфоциты продукта дендритных клеток – IL-23 происходит развитие и последующая активация субпопуляции Т-клеток, обладающих способностью секретировать IL-17 [Gurney A.L. et al., 2003]. Позже, в 2005 году, L.E. Harrington и H. Park было показано, что Th0-лимфоциты способны дифференцироваться в нескольких направлениях и помимо классических типов хелперных клеток – Th1- и Th2-лимфоцитов может образовываться малая субпопуляция IL-17-секретирующих Т-лимфоцитов [Harrington L.E. et al., 2005; Park H. et al., 2005; Zhang S., 2018].

Данные открытия легли в основу дальнейшего активного исследования Th17-лимфоцитов. В результате были установлены молекулярные механизмы их дифференцировки, часть функциональных особенностей, а также роль в патогенезе различных заболеваний [Кетлинский С.А., 2009]. В настоящий момент доказано, что с фенотипом Th17-клеток ассоциированы такие специфические мембранные маркеры, как лектин-подобный рецептор киллерных клеток – CD161 и хемокиновый рецептор CCR6 [Куклина Е.М., Глебездина Н.С., 2023; Belpaire A. et al., 2022; Chen L. et al., 2023; Zhang T. et al., 2024].

1.2.1 Внеклеточные и внутриклеточные факторы дифференцировки Th17-лимфоцитов

Согласно данным современной литературы, дифференцировку «наивных» CD4⁺ Т-лимфоцитов человека в направлении Th17 опосредуют такие цитокины, как IL-1 β , IL-6 и TGF β , при этом роль последнего в указанном процессе долгое время носила противоречивый характер. В настоящий момент не вызывает сомнений, что TGF β оказывает важное влияние на развитие Th17-лимфоцитов [Эльгухари А.С. и соавт., 2024; Yang L. et al., 2008; Shah K. et al., 2010; Ganjalikhani Nakemi M. et al., 2011; Lee G.R., 2018; Zhang S., 2018; Yan J.-B. et al., 2020; Marques H.S. et al., 2021; Paroni M. et al., 2023; Fan G. et al., 2024; Wang J. et al., 2024].

В одной из работ [Korn T. et al., 2009] было установлено, что при отсутствии IL-6 дифференцировку Th0 в направлении Th17 способен инициировать IL-21. Совместно с TGF β данный цитокин способствует развитию Th17-ответа у человека. В других работах [Yang L. et al., 2008; Jiang P. et al., 2023] сообщается, что IL-21 запускает, альтернативный путь дифференцировки Th17-клеток и действует на более поздних этапах их развития. Предполагается, что IL-21, секретируемый Th17-лимфоцитами, является аутокринным регулятором дифференцировки и пролиферации этих клеток. Однако до сих пор остается много спорных вопросов, касающихся изучения цитокиновой регуляции дифференцировки Th17-лимфоцитов. Несомненно, важное значение в развитии Th17-лимфоцитов принадлежит IL-23. Ранее предполагали, что он является ключевым цитокином в инициации дифференцировки этих клеток у мышей. Однако результаты последних исследований показали, что, только активированные клетки способны экспрессировать на своей поверхности рецепторы к IL-23 (IL-23R). Это свидетельствует о том, что IL-23, скорее всего, опосредует поддержание функциональной активности уже прошедших дифференцировку Th17-лимфоцитов [Кологривова И.В. и соавт., 2011; Parigi T.L. et al., 2022]. В ряде работ сообщается, что IL-23 необходим для стабилизации

фенотипа Th17-лимфоцитов [Yang L. et al., 2008; Ярилин А.А., 2010; Bunte K., Beikler T., 2019; Yan J.-B. et al., 2020; Schinocca C. et al., 2021; Tahmasebi S. et al., 2021; Parigi T.L. et al., 2022; Wang J. et al., 2024].

Известно, что в основе дифференцировки различных субпопуляций клеток лежат процессы, связанные с регуляцией экспрессии генов. Главная роль в этом принадлежит транскрипционным факторам – конечным белковым продуктам процессов сигнальной трансдукции. Транскрипционные факторы, взаимодействуя с регуляторными участками генов, вызывают их экспрессию, что в последствии приводит к дифференцировке клеток [Ярилин А.А., 2010; Burgler S. et al., 2010; Eizenberg-Magar I. et al., 2017].

Основным транскрипционным фактором, ответственным за развитие Th17-клеток у человека, является ROR γ t/C2. Семейство ROR включает три гена – *RORA*, *RORB* и *RORC* и принадлежит к ядерным рецепторам, аналогичным ретиноидным. Поскольку на момент их открытия сведения о лигандах для них отсутствовали, они получили название «рецепторы-сироты, родственные ретиноидным». С иммунной системой связана одна из изоформ RORC – RORC2, которая впервые была обнаружена в тимусе, а позже и в периферических CD4⁺ Т-лимфоцитах. Предполагалось, что основной функцией RORC2 является участие в лимфопоэзе и формировании иммунной системы. Позже было установлено, что он играет роль ключевого регулятора дифференцировки Th17-лимфоцитов [Ярилин А.А., 2010; Трошина Е.А., Сенюшкина Е.С., 2019; Chen G., Shannon M., 2013; Yahia-Cherbal H. et al., 2019; Belpaire A. et al., 2022; Xie Y. et al., 2022; Zhao X. et al., 2023].

Помимо RORC2, Th17-клетки человека экспрессируют транскрипционные факторы STAT3, Smad (Small mother against decapentaplegic) и IRF4 (Interferon Regulatory Factor 4) [Romagnani S. et al., 2009; Maggi L. et al., 2010; Bai H. et al., 2017; Bunte K., Beikler T., 2019; Tang M. et al., 2019].

Кроме того, показано, что в дифференцировке Th17-лимфоцитов принимают участие сигнальные молекулы, участвующие в активационном каскаде реакций пути, опосредованного NF- κ B (Nuclear Factor kappa B) [Chen G.,

Shannon M., 2013]. В ряде работ сообщается, что с Th17-лимфоцитами ассоциированы еще несколько маркеров – IL4I1 (IL-4-induced gene 1) [Куклина Е.М., Глебездина Н.С., 2023; Annunziato F. et al., 2012; Santarlasci V. et al., 2012] и фактор транскрипции активирующий В-клетки – BATF (B-cell-activating transcription factor) [Bhaumik S., Basu R., 2017; Shetty A. et al., 2022; Huang T.Y. et al., 2023; Pham D. et al., 2023; Liu S. et al., 2024; Wang J. et al., 2024; Liu C. et al., 2025].

Установлено, что взаимодействие IL-6 с распознающей α -цепью рецептора (IL-6R α , gp80) приводит к димеризации проводящих β -цепей рецептора (IL-6R β , gp130). Связывание α - и β -цепей IL-6R на мембране Th0-лимфоцита сопровождается активацией рецептор-ассоциированных тирозинкиназ семейства Janus (Jak (Janus kinases) 1, 2 и Тyk (Tyrosine kinase) 2). Активированные тирозинкиназы осуществляют фосфорилирование транскрипционного фактора STAT3, находящегося в цитоплазме в мономерной форме в неактивном состоянии. Далее фосфорилированный и димеризированный STAT3 перемещается в ядро клетки и активирует ключевой регулятор дифференцировки Th17-лимфоцитов – транскрипционный фактор RORC2. В свою очередь RORC2 инициирует экспрессию генов основных цитокинов Th17-лимфоцитов – *IL-17A*, *IL-17F*, *IL-22* и *IL-26* (Рисунок 1) [Korn T., Hiltensperger M., 2021; Qin Z. et al., 2024; Cho Y. et al., 2025; Schumertl T. et al., 2025].

Вместе с тем было показано, что транскрипционный регулятор дифференцировки RORC2 способствует экспрессии рецептора для IL-23, являющегося фактором стабилизации Th17-лимфоцитов, а также лектинового рецептора CD161 [Yang J. et. al., 2011; Miossec P., Kolls J.K., 2012; McAleer J.P., Kolls J.K., 2014; Bunte K., Beikler T., 2019; Zhang S., 2018; Harbour S.N. et al., 2020; Marques H.S. et al., 2021; Chen R. et al. 2023].

При этом дефицит IL-6 приводит к нарушению активации транскрипционного фактора RORC2, экспрессии рецептора к IL-23 и синтеза IL-17 [Vernal R., Garcia-Sanz J.A., 2008; Qin Z. et al., 2024; Cho Y. et al., 2025]. Кроме

того, на STAT3-зависимую активацию дифференцировки Th17-лимфоцитов указывает нарушение экспрессии ROR в клетках при недостатке STAT3 [Дьяченко П.А., Дьяченко А.Г., 2010; Yang X.O., 2007; Martinez G.J., 2008; Yang X.O., 2008; Lee G.R., 2018; Wang H. et al., 2024].

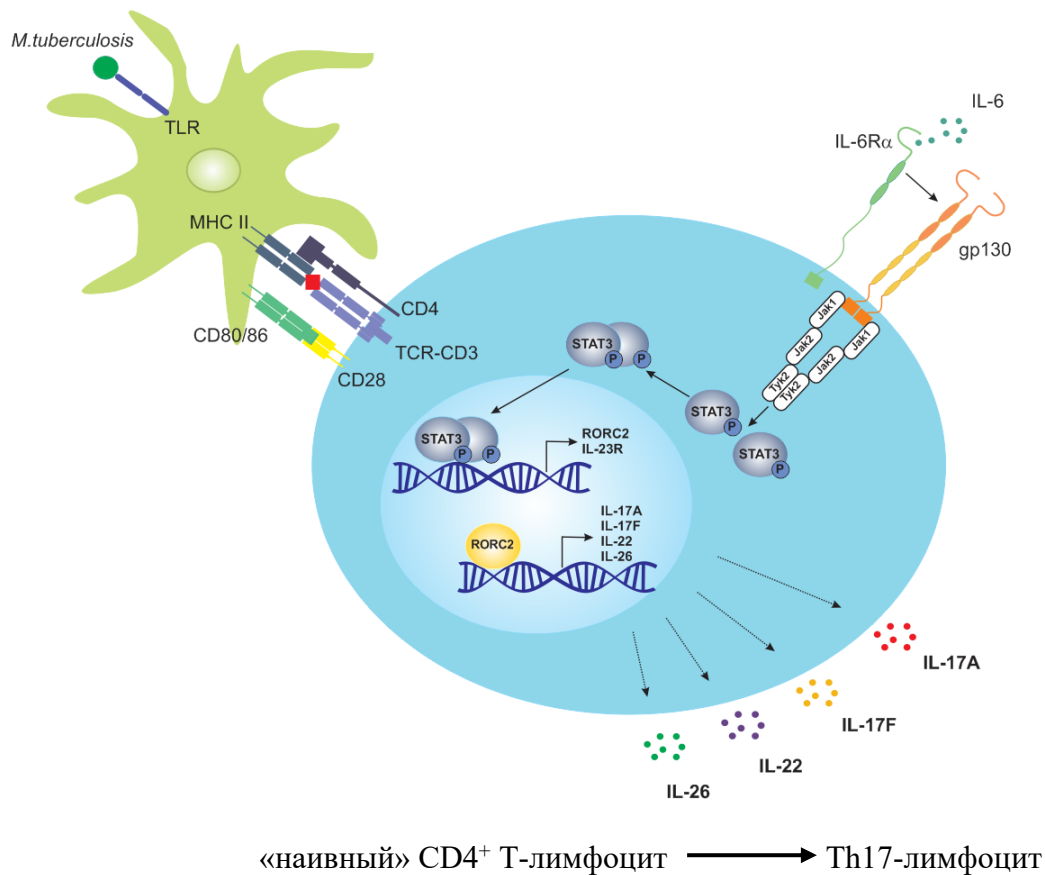


Рисунок 1 – Дифференцировка Th17-лимфоцитов, опосредованная IL-6 (оригинальная схема, составленная с использованием данных литературы)

Примечание. Здесь и далее в рисунках 2-5: CD – кластер дифференцировки; IL – интерлейкин; IL-6Rα – α-цепь рецептора для IL-6; gp 130 – β-цепь рецептора для IL-6; IL-23R – рецептор для IL-23; Jak – тирозинкиназа семейства Janus (Янус-киназа); MHC II – молекула главного комплекса гистосовместимости II класса; *M. tuberculosis* – микобактерия туберкулеза; ROR – рецепторы-сироты родственные ретиноидным, фактор транскрипции; STAT – трансдуктор сигнала и активатор транскрипции; STAT3p – фосфорилированная форма STAT3; TCR – T-клеточный рецептор для распознавания антигена; Th – Т-лимфоцит-хелпер; TLR – Toll-подобный рецептор; Tyk – тирозинкиназа семейства Janus.

До недавнего времени в литературе имелись разногласия относительно роли TGF β в процессе дифференцировки Th17-клеток. Приводились данные, как о позитивном влиянии [Yamashita T. et al., 2011], так и об ингибирующем эффекте данного цитокина [Acosta-Rodrigues E.V., 2007; Evans H.G. et al., 2007; Maruyama T., 2011]. Позже удалось установить, что концентрация TGF β в среде определяет его биологическую активность. Так, низкие дозы цитокина приводят к активации дифференцировки Th17-лимфоцитов, тогда как высокие концентрации TGF β , напротив, подавляют их развитие и способствуют дифференцировке Treg-лимфоцитов. Кроме того, предполагается, что происходящая при действии TGF β активация дифференцировки «наивных» CD4⁺ Т-лимфоцитов в направлении Th17 возможна при наличии в среде IL-6 [Дьяченко П.А., Дьяченко А.Г. 2010; Хайдуков С.В., Зурочка А.В. 2011; Tesmer L.A. et al., 2008; Volpe E. et al., 2008; Awasthi A., Kuchroo V. 2009.; Zheng S.G., 2013; Zhang Y.E., 2017; Zhang S., 2018; Marques H.S. et al., 2021; Moreau J.M. et al., 2022; Chen W., 2023].

Связываясь с двумя комплементарными серин-треонин-киназными рецепторами (TGF β -RI и TGF β -RII типа), TGF β приводит к их димеризации и запуску сигнального каскада, сопровождающегося фосфорилированием и активацией факторов транскрипции Smad2 и Smad3 с последующей их гетеромеризацией с участием Smad4. Далее происходит проникновение гетеромерного комплекса внутрь ядра клетки с последующей активацией RORC2 (Рисунок 2) [Chen G., Shannon M., 2013; David C.J., Massagué J., 2018; Hu H.H. et al., 2018; Zhang S., 2018; Derynck R. et al., 2021; Peng D. et al., 2022; Massagué J., Sheppard D., 2023; Deng Z. et al., 2024].

Необходимо отметить, что TGF β способствует формированию пула Th17-лимфоцитов путем ограничения дифференцировки Th1- и Th2-лимфоцитов за счет ингибирования синтеза ключевых цитокинов (IFN γ и IL-4) и экспрессии транскрипционных факторов (T-bet/STAT4 и GATA3/STAT6) этих клеток [Li M.O. et al., 2006; Zhang S., 2018; Li H. et al., 2022; Wang H. et al., 2024].

Вместе с тем, Th1- и Th2-лимфоциты, являясь функциональными

антагонистами по отношению друг к другу, способны ингибировать развитие Th17-клеток у человека за счет продукции $\text{IFN}\gamma$ и IL-4, тогда как ключевой цитокин Th17-лимфоцитов – IL-17 не подавляет дифференцировку Th1- и Th2-клеток [Shah K. et al., 2010; Nikitina I.Yu. et al., 2018].

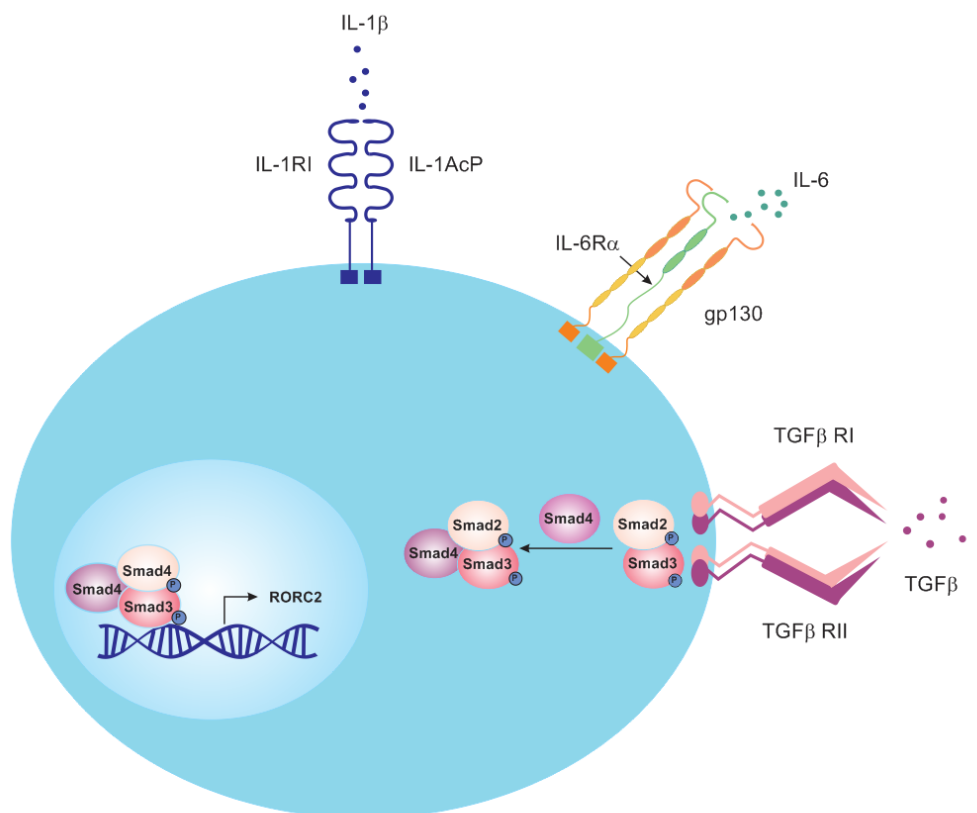


Рисунок 2 – Дифференцировка Th17-лимфоцитов, опосредованная TGFβ (оригинальная схема, составленная с использованием данных литературы)

Примечание. Здесь и далее в рисунке 5: Smad – фактор транскрипции канонического TGF-зависимого пути; TGF – трансформирующий фактор роста; TGF-R – рецептор для TGF.

Относительно IL-1β на сегодняшний день известно, что связывание этого цитокина с двумя компонентами рецепторного комплекса – IL-1RI (IL-1 Receptor I) и вспомогательным белком IL-1RAcP (IL-1 Receptor Accessory Protein) сопровождается конформационными изменениями внутриклеточных доменов этих рецепторных субъединиц и активацией внутриклеточного этапа передачи

сигнала. Так, в результате их димеризации происходит рекрутирование адаптерного белка MyD88 (Myeloid Differentiation primary response protein 88), необходимого для активации киназ семейства IRAK (IL-1 Receptor-Associated Kinase). Последовательное фосфорилирование и активация IRAK4 и IRAK1 сопровождается отделением их от рецептора и связыванием с адаптером TRAF6 (TNF Receptor-Associated Factor 6). Далее TRAF6 активирует два пути. Первый путь приводит к активации киназы NIK (NF- κ B-Inducing Kinase), что сопровождается индукцией комплекса киназ IKK (Inhibitor of κ B (I κ B) Kinase complex) с последующим фосфорилированием и деградацией ингибиторного I κ B-белка, освобождением фактора транскрипции NF- κ B и его транслокацией в ядро клетки. Другой путь сопровождается активацией факторов транскрипции группы AP-1 (Activating Protein-1) (Рисунок 3) [Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008; Левин С.Г., Годухин О.В., 2017].

Необходимо отметить, что семейство транскрипционных факторов NF- κ B принадлежат к «Rel-семейству» белков и состоит из 5 членов, одним из которых является полипептид c-Rel, играющий важную роль в развитии Th17-лимфоцитов. Так, Chen G. с коллегами [2011, 2013] в экспериментах на мышах удалось установить, что у c-Rel-дефицитных особей подавляется дифференцировка Th17-клеток, обусловленная нарушением связывания c-Rel с промоторным участком гена *RORC* и последующим нарушением регуляции транскрипции этого фактора [Chen G. et al., 2011; Chen G., Shannon M., 2013]. Кроме того, c-Rel способен оказывать влияние на развитие Th17-лимфоцитов за счет взаимодействия с промоторным участком гена *IL-21* и регуляции его экспрессии [Chen G et al., 2010].

Помимо этого, некоторые компоненты NF- κ B-сигнального пути также способны участвовать в дифференцировке Th17-лимфоцитов. В ряде работ [Lazarevic V. et al., 2011; Chen G., Shannon M., 2013] было показано, что одна из функциональных субъединиц комплекса IKK – IKK α способна связываться с промоторным участком гена *IL-17A* и регулировать его экспрессию.

Вместе с тем, необходимо отметить, что NF- κ B-сигнальный каскад

является вспомогательным в процессе дифференцировки Th17-лимфоцитов, поскольку нарушение его инициации или отсутствие отдельных сигнальных молекул этого пути сопровождается снижением, а не полным блокированием развития Th17-лимфоцитов [Okamoto K. et al., 2010; Chen G. et al., 2011; Ruan Q. et al., 2011].

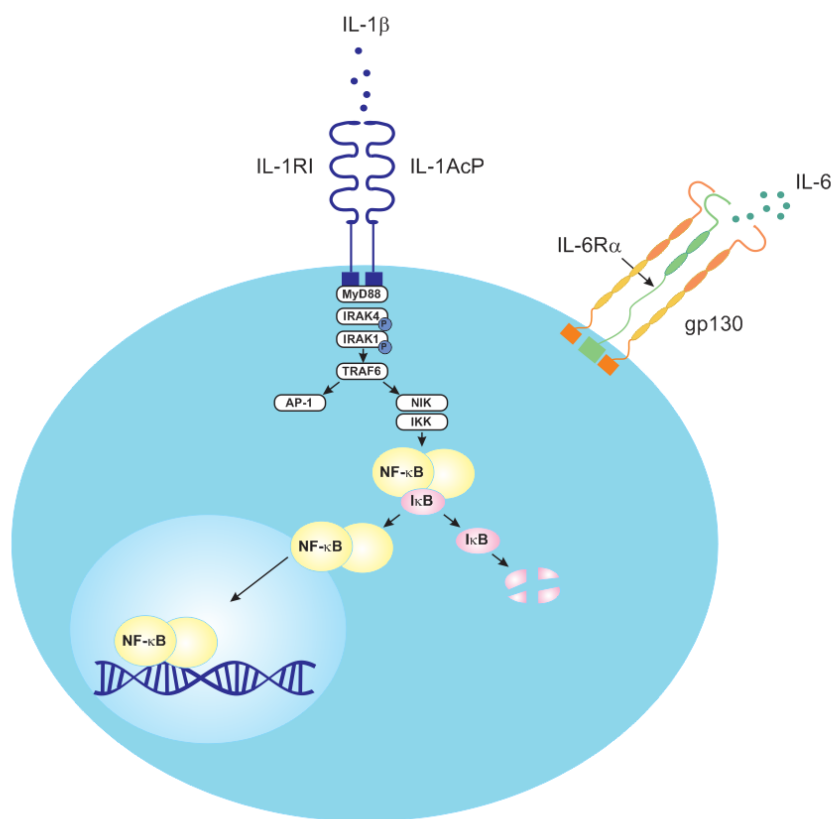


Рисунок 3 – Дифференцировка Th17-лимфоцитов, опосредованная IL-1β (оригинальная схема, составленная с использованием данных литературы)

Примечание. AP-1 – активирующий протеин 1, фактор транскрипции; IKK – комплекс киназ, расщепляющий IκB; IκB – ингибиторный белок фактора транскрипции NF-κB; IL-1RI – рецептор для IL-1β; IL-1RAcP – вспомогательный белок, для связывания IL-1β; IRAK – киназа, ассоциированная с рецептором для IL-1; MyD88 – адаптерный белок; NF-κB – ядерный фактор каппа Б, фактор транскрипции; NIK – киназа, индуцирующая NF-κB; TRAF – фактор, ассоциированный с рецептором для фактора некроза опухоли.

В результате последних исследований стало очевидно, что помимо

вышеописанных транскрипционных факторов в развитии Th17-клеток принимает участие транскрипционный фактор IRF4 [Bai H. et al., 2017; Tang M. et al., 2019]. IRF4 относится к семейству транскрипционных факторов, регулирующих продукцию IFN и участвует во внутриклеточном процессе сигнальной трансдукции от Т-клеточного рецептора (T-Cell Receptor, TCR). В ряде работ сообщается, что активация IRF4 может происходить при действии цитокинов, в частности IL-21 и IL-1 [Lohoff M., Mak T.W., 2005; Tamura T. et al., 2008; Кетлинский С.А., 2009; Chen G., Shannon M., 2013; Bai H. et al., 2017; Bunte K., Beikler T., 2019; Tang M. et al., 2019].

Важная роль IRF4 в дифференцировке Th17-лимфоцитов подтверждается тем, что при отсутствии гена *IRF4* развитие Th17-клеток не происходит. При этом у гомозиготных мышей, дефицитных по гену *IRF4*^{-/-}, наблюдается низкий уровень экспрессии ROR γ t, а у гетерозиготных особей (*IRF4*^{+/-}) дифференцировка Th0 в направлении Th17 происходит, но только в присутствии IL-6 [Кетлинский С.А., 2009; Bunte K., Beikler T., 2019; Guo K., Zhang X., 2021].

Относительно роли IL-23 в развитии Th17-лимфоцитов известно, что связывание цитокина с гетеродимерным рецептором, состоящим из двух субъединиц – IL-12R β 1, общей с рецептором для IL-12 (IL-12R) и IL-23R α , специфичной для сигнализации IL-23, приводит к активации рецептор-ассоциированных тирозинкиназ Jak2 и Tyk2, которые способствуют фосфорилированию фактора транскрипции STAT3, с последующей его димеризацией и транслокацией в ядро клетки, что в дальнейшем сопровождается возрастанием экспрессии гена транскрипционного регулятора дифференцировки Th17-лимфоцитов – *RORC2* и гена *IL-17* ключевого цитокина этих клеток (Рисунок 4) [Liu T. et al., 2020; Li H., Tsokos G.C., 2021; Schinocca C. et al., 2021; Vecellio M. et al., 2021; Parigi T.L. et al., 2022; Fanizza J. et al., 2023; Korta A. et al., 2023].

Поскольку «наивные» CD4⁺ Т-лимфоциты не несут на своей поверхности рецептор к IL-23, выраженный иммунорегуляторный эффект данный цитокин оказывает на клетки, вступившие в дифференцировку в направлении Th17,

индуцируя их к секреции провоспалительных цитокинов – IL-17A, IL-17F, IL-22 и способствуя стабилизации и расширению пула этих клеток. При этом также сообщается, что основное влияние IL-23 способен реализовывать преимущественно на Т-клетки-памяти [Neurath M.F., 2019; Mease P., van den Bosch F., 2021; Whitley S.K. et al., 2022; Verstockt B. et al., 2023; Krueger J.G. et al., 2024].

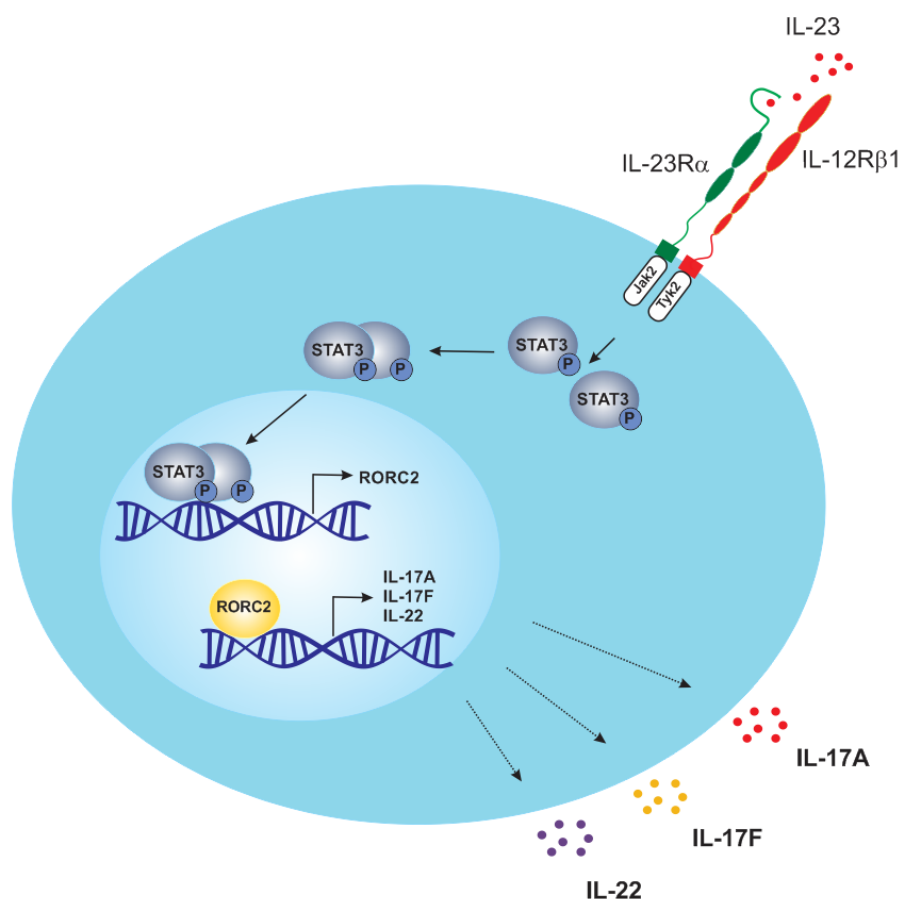


Рисунок 4 – Дифференцировка Th17-лимфоцитов, опосредованная IL-23 (оригинальная схема, составленная с использованием данных литературы)

Примечание. IL-23Rα – специфичная субъединица рецептора IL-23; IL-12Rβ1 – субъединица рецептора IL-12 (необходима для связывания IL-23).

Необходимо отметить, что имеющиеся в настоящий момент данные о регуляции процесса дифференцировки Th17-лимфоцитов в подавляющем большинстве касаются исследований, проведенных на клетках лабораторных животных, тогда как Th17-лимфоциты человека остаются менее изученными, и

молекулярные механизмы, приводящие к активации или ингибированию Th17-ответа, пока мало исследованы.

1.2.2 Значение Th17-лимфоцитов и продуцируемых ими цитокинов в реализации протективного антимикобактериального иммунитета

На данный момент известно, что осуществление Th17-лимфоцитами иммунорегуляторной функции происходит за счет продукции уникального спектра цитокинов. При этом из всех цитокинов наиболее выраженным действием обладает IL-17A, поскольку рецепторы к нему представлены на большинстве клеток организма: макрофагах, дендритных клетках, лимфоцитах, эпителиальных клетках, эндотелиальных клетках и др. Секретируемый Th17-лимфоцитами IL-17A обладает выраженной провоспалительной и гемопоэтической активностью за счет способности стимулировать продукцию цитокинов и хемокинов различными клетками. Так, IL-17A индуцирует выработку макрофагами провоспалительных цитокинов – IL-1 β , IL-6, TNF α , гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Granulocyte Colony Stimulating Factor, G-CSF), а также экспрессию CC- и CXС-хемокиновых рецепторов [Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. 2008; Shah K. et al., 2010; Lombard R. et al., 2016; Eyerich K. et al., 2017; Shen H., Chen Z.W., 2018; Singh S. et al., 2018; Bunte K., Beikler T., 2019; Marques H.S. et al., 2021; Kathamuthu G.R. et al., 2022].

Под воздействием IL-17A происходит секреция хемокинов CXCL1, CXCL2, CXCL5, CXCL8 (IL-8) эпителиальными клетками в очаге воспаления, что сопровождается привлечением нейтрофилов из периферической крови в ткань легкого и их активацией [Khader S.A., Gopal R., 2010; Eyerich K. et al., 2017; Shen H., Chen Z.W., 2018; Singh S. et al., 2018]. Кроме того, установлено, что IL-17A способствует усилению антибактериальной активности нейтрофилов. Среди большинства цитокинов IL-17A обладает наиболее выраженным

стимулирующим эффектом в отношении продукции антимикробного белка β -дефензина-2 (β -defensin-2, Bd2) и макрофагального белка воспаления-3 α (Macrophage Inflammatory Protein-3 α , MIP-3 α) эпителиальными клетками бронхов, что сопровождается хемотаксисом лимфоцитов и дендритных клеток. Bd2 и MIP-3 α являются гуморальными компонентами врожденного иммунитета дыхательных путей, одновременная индукция которых сопровождается формированием эффективных защитных реакций на *M. tuberculosis* [Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008; Torrado E., Cooper A.M., 2010; Lombard R. et al., 2016; Hu S. et al., 2017; Knochelmann H.M. et al., 2018; Shen H., Chen Z.W., 2018; Herrera M.T. et al., 2022].

Кроме того, показано влияние IL-17A на процессы созревания дендритных клеток за счет повышения экспрессии ими поверхностных рецепторных молекул CD11c, CD40, CD80, CD86 и HLA (Human Leukocyte Antigens) класса II [Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008]. Предполагается, что IL-17, действуя в синергизме с IL-23, участвует в поддержании структуры гранулемы. При этом отсутствие IL-17A в очаге воспаления сопровождается уменьшением инфильтрации легочной ткани мононуклеарными и полиморфноядерными лейкоцитами [Кетлинский С.А., 2009; Awasthi A., Kuchroo V., 2009].

Таким образом, происходящая при действии IL-17A инициация секреции Bd2 и MIP-3 α , а также экспансия и рекрутирование клеток врожденного иммунитета позволяют сделать предположение о важном вкладе IL-17A в иммунные реакции, развивающиеся при ТЛ. Вместе с тем, чрезмерная продукция IL-17A может приводить к избыточной инфильтрации слизистой дыхательных путей нейтрофилами, что, в свою очередь, сопровождается повреждением альвеолярного эпителия и прогрессированием воспалительного процесса.

Помимо IL-17, Th17-лимфоциты секретируют IL-22 и IL-26. Являясь представителями семейства IL-10 и обладая очевидной общностью в строении, данные цитокины имеют существенно отличающуюся биологическую активность в сравнении с IL-10. Установлено, что IL-22 и IL-26 участвуют в поддержании тканевых реакций врожденного иммунитета. IL-22 реализует свои

эффекты, воздействуя, главным образом, на эпителиальные клетки и гепатоциты, что сопровождается активацией их микробицидных свойств, повышением скорости регенеративных процессов и защитой от повреждений [Wolk K. et al., 2010; Eyerich K. et al., 2017; Tripathi D. et al., 2019; Perez L.G. et al., 2020]. Так, IL-22 способствует секреции антимикробных пептидов, таких как β -дефензин-2 и -3, калгранулин А, пептиды семейства S100, Reg3A и Reg3 γ , липокалин-2, калпротектин, а также белков острой фазы, таких как сывороточный амилоид А, α 1-антихимотрипсин и гаптоглобин. Подобно IL-17A, IL-22 индуцирует экспрессию CXCL1 и CXCL5 клетками бронхиального эпителия [Eyerich K. et al., 2017; Ronacher K. et al., 2018; Perez L.G. et al., 2020].

Известно, что рецептор к IL-22 представляет собой гетеродимерный комплекс, состоящий из двух субъединиц – IL-10R2, экспрессирующейся на большинстве клеток, и IL-22R1, представленной лишь на эпителиальных клетках легких, кишечника, кожи и на гепатоцитах. Предполагается, что активация IL-22-опосредованного сигнального пути в эпителиальных клетках сопровождается запуском процессов пролиферации и регенерации, что имеет важное значение в формировании защитных реакций при инфекциях, вызывающих повреждение слизистых оболочек [Ronacher K. et al., 2018; Tripathi D. et al., 2019].

Рядом исследований показана способность *M. tuberculosis* индуцировать экспрессию IL-22R1 на мембране инфицированных макрофагов. Так, в работах Р. Treerat и коллег [2017] установлено, что при заражении мышей штаммом HN878 в гранулемах обнаруживаются IL-22R1-положительные макрофаги. По мнению авторов, появление на поверхности макрофагов рецептора к IL-22 является одним из механизмов борьбы организма с инфекцией [Treerat P. et al., 2017]. Антимикобактериальная активность IL-22 реализуется за счет повышения продукции антимикробных пептидов макрофагами и, таким образом, подавления внутриклеточного роста *M. tuberculosis* [Ronacher K. et al., 2018]. В исследовании R. Dhiman и соавторов [2014] также показана способность IL-22 подавлять размножение *M. tuberculosis* внутри макрофагов за счет стимулирования процессов фаголизосомального слияния [Dhiman R. et al., 2014]. Учитывая, что

патогенность возбудителя туберкулеза легких определяется, в частности, его способностью персистировать и размножаться внутри фагоцитирующих клеток посредством предотвращения образования фаголизосом, не вызывает сомнений важное значение IL-22 в формировании протективных реакций дыхательных путей и восстановлении тканей.

Следует отметить, что данные литературы о влиянии IL-26 на развитие противотуберкулезного иммунитета весьма немногочисленны. Как указывалось ранее, биологическая активность IL-26 заключается в стимуляции эпителиальных клеток, участвующих в реализации локальных механизмов иммунитета слизистых оболочек [Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008]. Вместе с тем, установлена способность IL-26 активировать мононуклеарные лейкоциты. Так, показано, что под воздействием IL-26 происходит секреция моноцитами таких провоспалительных цитокинов, как IL-1 β , IL-6 и TNF α , а также экспрессия хемокинов, главным образом CCL20. При этом активация макрофагов сопровождается продукцией TNF α , CXCL2, CXCL8, индукцией TLR2-сигнального пути и активацией фагоцитирующей функции этих клеток [Corvaisier M. et al. 2012; Hawerkamp H.C. et al., 2020; Gowhari Shabgah A. et al., 2021].

Интересные данные относительно функций IL-26 при туберкулезе были получены Н.С. Hawerkamp с коллегами [2020]. Обладая уникальной физико-химической структурой, IL-26, подобно антимикробным пептидам, способен напрямую связываться с липоарабиноманнаном на поверхности клеточной стенки *M. tuberculosis*, что сопровождается ее повреждением и последующей гибелью патогена [Hawerkamp H.C. et al., 2020].

Таким образом, принимая во внимание информацию последних лет об участии Th17-лимфоцитов и секретируемых ими цитокинов в патогенезе инфекционного процесса, становится очевидной немаловажная роль этих клеток в развитии иммунного ответа на *M. tuberculosis*.

1.3 Взаимосвязь Th17- и Treg-лимфоцитов в иммунопатогенезе туберкулеза легких

На сегодняшний день известно, что процессы дифференцировки и пролиферации Th17-лимфоцитов происходят в тесной взаимосвязи с другой субпопуляцией CD4⁺ Т-лимфоцитов – Treg-клетками. Treg-лимфоциты (или CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ клетки) относятся к специализированным регуляторным клеткам и играют решающее значение в поддержании иммунного гомеостаза. Являясь центральными регуляторами иммунного ответа, эти клетки способны контролировать его силу и продолжительность, а также предотвращать развитие реакций на аутоантигены [Lee D.C. et al., 2010; Churina E.G. et al., 2012; Alamino V.A. et al., 2019; Ogawa C. et al., 2018; Saini C. et al., 2018; Buszko M., Shevach E.M., 2020; Yan J.-B. et al., 2020; Zhang Y. et al., 2021; Liu X. et al., 2023; Arellano G. et al., 2024; Wertheimer T. et al., 2024].

Вместе с тем, избыточная активность Treg-клеток сопровождается ослаблением противоопухолевой и противоинойфекционной защиты организма с формированием вторичной иммунологической недостаточности (ВИН) [Churina E.G. et al., 2012; Chen Y. et al., 2023; Liu X. et al., 2024].

1.3.1 Механизмы Treg-опосредованной иммуносупрессии

Реализация Treg-лимфоцитами иммуносупрессорной функции осуществляется за счет прямого (клеточно-контактная супрессия, т.е. непосредственный контакт с иммунокомпетентными клетками) и дистантного (секреция ингибирующих цитокинов) механизмов. Установлено, что межклеточные взаимодействия Treg-клеток обусловлены присутствием на их поверхности ингибитора костимуляции – молекулы CTLA-4 (Cytotoxic T-

Lymphocyte-Associated protein 4, CD152). Обладая высокой аффинностью к молекулам дендритных клеток – CD80 (B7.1) и CD86 (B7.2), CTLA-4 связывает их, препятствуя взаимодействию этих молекул с корцептором Т-лимфоцитов – CD28. Таким образом, происходит ингибирование одного из сигналов, необходимого для активации иммунного ответа [Schmidt A. et al., 2012; Knochelmann H.M. et al., 2018; Yan J.-B. et al., 2020; Zhang Y. et al., 2021].

К механизмам, зависящим от клеточного контакта, относится также опосредованный Treg-лимфоцитами цитолиз и апоптоз клеток-мишеней за счет секреции гранзима А (преимущественно у человека) и В. Так, Treg-клетки вызывают апоптоз аутологичных $CD4^{+}$ и $CD8^{+}$ Т-лимфоцитов, моноцитов, дендритных клеток и естественных киллеров (Natural Killer, NK-клеток). Реализация перфорин-зависимой цитотоксичности используется Treg-лимфоцитами для регуляции развития тимоцитов, формирования репертуара Т-клеток, их селекции и координации иммунного ответа [Зурочка А.В., Хайдуков С.В., 2011; Zhang Y. et al., 2021].

Предполагается, что Treg-лимфоциты способны вызывать апоптоз Т-лимфоцитов секретируя галектин-1. Галектин-1 является представителем семейства лектинов и выполняет разнообразные иммунорегуляторные функции в организме. Связываясь со специфическими гликопротеинами на поверхности Т-лимфоцитов, галектин-1 приводит к остановке клеточного цикла и их апоптозу [Якушина В.Д. и соавт., 2012; Novak J. et al., 2014].

Осуществление дистантного механизма супрессии иммунного ответа происходит за счет секреции Treg-клетками противовоспалительных цитокинов, главным образом $TGF\beta$, IL-10 и IL-35 [Ogawa C. et al., 2018; Zhang Y. et al., 2021]. Являясь негативным регулятором функций иммунной системы, $TGF\beta$ вносит существенный вклад в ограничение иммунного ответа. Иммуносупрессорный эффект этого цитокина реализуется прежде всего в отношении лимфоидных клеток. Так, $TGF\beta$ способен подавлять пролиферацию $CD4^{+}$ Т-лимфоцитов, угнетая аутокринную продукцию IL-2. Показано, что $TGF\beta$ снижает активацию и цитотоксическую функцию $CD8^{+}$ Т-клеток. Взаимодействуя со своим

рецептором, TGF β приводит к активации транскрипционных факторов Smad и ATF1, что сопровождается подавлением секреции IFN γ , цитолитических факторов – перфорина и гранзима, а также экспрессии Fas-лиганда [David C.J., Massagué J., 2018]. Кроме того, TGF β ограничивает пролиферацию, дифференцировку и эффекторные функции В-лимфоцитов, нейтрофилов и NK-клеток. Установлено влияние этого цитокина на миелоидные клетки. TGF β способствует переключению фенотипа макрофагов с провоспалительного (M1-макрофаги) на противовоспалительный (иммуносупрессорный) (M2-макрофаги), а также снижению презентации антигена АПК. Необходимо отметить, что TGF β имеет важное значение в формировании антимикобактериальной защиты организма, играя принципиальную роль в переходе острого воспалительного процесса в хронический [Flavell R.A. et al., 2010; Schmidt A. et al., 2012; Sanjabi S. et al., 2017; David C.J., Massagué J., 2018; Salminen A., 2021].

Основными мишенями для действия другого ключевого регулятора иммунного ответа – IL-10 являются АПК и лимфоциты. Известно, что IL-10 подавляет продукцию IFN γ дендритными клетками и макрофагами, ингибируя экспрессию на их поверхности B7, препятствует реализации антигенпрезентирующей функции. Снижая секрецию IL-2 и IFN γ Т-лимфоцитами, IL-10 угнетает клеточный иммунный ответ и способствует развитию иммунных реакций в направлении гуморального типа реагирования [Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008; Schmidt A. et al., 2012; Mittal S.K., Roche P.A., 2015; Salminen A., 2021].

Необходимо отметить еще один важный механизм, посредством которого Treg-лимфоциты осуществляют супрессорную функцию. Экспрессируя на своей поверхности высокий уровень рецептора к IL-2 – IL-2R α (CD25), Treg-клетки способны захватывать данный цитокин и, тем самым, ингибировать иммунный ответ. Учитывая, что IL-2 является ключевым аутокринным фактором, стимулирующим процессы антигензависимой пролиферации и дифференцировки Т-клеток, снижение его концентрации сопровождается

угнетением активации и последующим апоптозом Т-лимфоцитов [Зурочка, С.В. Хайдуков, 2011; Schmidt A. et al., 2012; Knochelmann H.M. et al., 2018].

Рядом исследователей предполагается, что Treg-лимфоциты опосредуют иммуносупрессию через образование внеклеточного аденозина с последующей индукцией сигнального пути аденозинового рецептора A_{2A} ($A_{2A}R$). Известно, что на клеточной поверхности Treg-лимфоцитов присутствуют молекулы CD39 и CD73, являющиеся эктонуклеотидазами (гидролазами). Они последовательно превращают внеклеточный аденозинтрифосфат (АТФ) в аденозинмонофосфат (АМФ) и затем в аденозин. В настоящее время аденозин рассматривают как один из факторов, ответственных за подавление иммунитета при воспалении. Взаимодействуя с $A_{2A}R$, аденозин запускает сигнальный каскад, приводящий к накоплению цАМФ в клетке, что в свою очередь сопровождается подавлением созревания дендритных клеток и снижением активации Т-лимфоцитов [Schuler P.J. et al., 2014; Maj T. et al., 2017].

Таким образом, принимая во внимание рассматриваемую в последнее время концепцию ведущей роли иммуносупрессии в развитии и прогрессирующем течении туберкулеза легких, особую актуальность приобретает установление механизмов, регулирующих баланс Th17- и Treg-лимфоцитов в процессе реализации иммунного ответа при инфицировании *M. tuberculosis*.

1.3.2 Общие пути дифференцировки Th17- и Treg-лимфоцитов

На данный момент установлено, что ключевую роль в дифференцировке «наивных» $CD4^+$ Т-лимфоцитов в направлении Th17- или Treg-лимфоцитов играет цитокиновое микроокружение, а также баланс транскрипционных факторов. При этом критическое значение в этом процессе отводится $TGF\beta$. Как указывалось ранее, эффекты $TGF\beta$ определяются его концентрацией в среде.

Высокое содержание $TGF\beta$ (в присутствии IL-2) определяет развитие иммуносупрессорных Treg-лимфоцитов, тогда как низкая концентрация цитокина (в присутствии IL-6 и IL-1 β) приводит к развитию провоспалительных Th17-лимфоцитов [Хайдуков С.В., Зурочка А.В. 2011; Tesmer L.A. et al., 2008; Volpe E. et al., 2008; Awasthi A., Kuchroo V. 2009.; Saini C. et al., 2018; Shen H., Chen Z.W., 2018; Alaminio V.A. et al., 2019; Yan J.-B. et al., 2020; Salminen A., 2021].

Происходящая под действием $TGF\beta$, дифференцировка Treg-лимфоцитов сопровождается индукцией сигнального каскада с активацией факторов транскрипции Smad2/3, Smad4, их перемещением в ядро клетки с последующим связыванием с энхансерным элементом гена *FOXP3*. Необходимо отметить, что данное связывание происходит в кооперации с еще двумя транскрипционными факторами – кальцинейрин-активируемым NFAT (Nuclear factor of activated T cells) и IL-2-активируемым STAT5 [Sanjabi S. et al., 2017; David C.J., Massagué J., 2018]. Результатом этих взаимодействий является образование конечного продукта – белка скурфина – FoxP3 (Forkhead Box P3) – транскрипционного регулятора дифференцировки Treg-лимфоцитов. В свою очередь, FoxP3 индуцируя экспрессию генов, ответственных за продукцию IL-10 и $TGF\beta$, направляет развитие «наивных» $CD4^+$ Th0-лимфоцитов в направлении Treg-клеток (Рисунок 5) [Coskun M. et al., 2013; David C.J., Massagué J., 2018; Ogawa C. et al., 2018; Zhang Y. et al., 2021].

Интересно, что Smad3, непосредственно взаимодействуя с фактором транскрипции ROR γ t, приводит к подавлению его активности, однако действуя совместно с STAT3, опосредует экспрессию ROR γ t и дифференцировку Th17-лимфоцитов [Yang X.O. et al., 2008; Maitra U. et al., 2009].

В работах, посвященных изучению различных аспектов функционирования Th17- и Treg-лимфоцитов, сообщается, что баланс между этими субпопуляциями клеток определяется антагонистическим взаимодействием их транскрипционных регуляторов дифференцировки – ROR γ t (RORC2 – у человека) и FoxP3 соответственно [Xu L. et al., 2007; Radhakrishnan

S. et al., 2008; Yang X.O. et al., 2008; Bunte K., Beikler T., 2019].

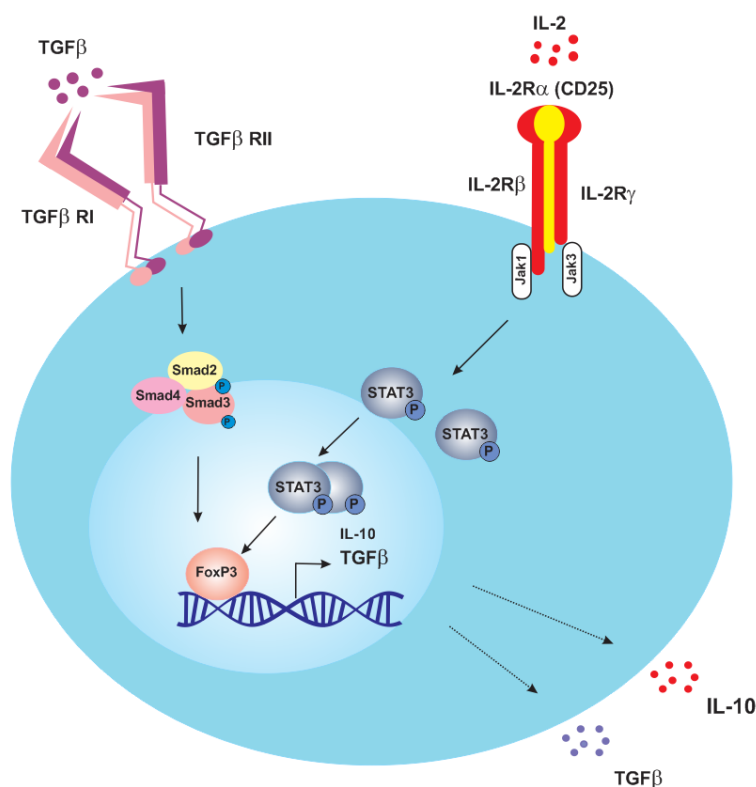


Рисунок 5 – Дифференцировка Treg-лимфоцитов, опосредованная IL-2 и TGFβ (оригинальная схема, составленная с использованием данных литературы)

Примечание. FoxP3 – белок скурфин, фактор транскрипции; IL-2Rα – высокоаффинная α-цепь рецептора для IL-2 (CD25); IL-2Rβ – β-цепь рецептора для IL-2; IL-2Rγ – γ-цепь рецептора для IL-2.

Зарубежными коллегами установлена способность RORC2 подавлять экспрессию FoxP3 за счет конкурентного связывания с транскрипционным фактором NFAT, необходимым для TCR-индуцированной активации гена *FOXP3*. Взаимодействуя с NFAT-связывающими сайтами, RORC2 ингибирует его транскрипционную активность [Mantel P.-Y. et al., 2006; Burgler S. et al., 2010; Li Y. et al., 2018].

Вместе с тем антагонистическое отношение между факторами транскрипции RORC2 и FoxP3 не исключает возможности их одновременной экспрессии в клетках, что и регистрируется в некоторых субпопуляциях CD4⁺ T-

лимфоцитов [Ярилин А.А. 2010; Ayyoub M. et al., 2009; Ohnmacht C. et al., 2015; Sefik E. et al., 2015; Ogawa C. et al., 2018].

Так, Н.Н. Коепен с коллегами [2008] показали, что Treg-лимфоциты человека, идентифицированные как $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+CD127^-CD27^+$ клетки, способны дифференцироваться до IL-17-продуцирующих Т-лимфоцитов и этот процесс сопровождается экспрессией транскрипционного фактора RORC2 и одного из маркеров Th17-лимфоцитов – CCR6 [Koenen H.J. et al., 2008]. По мнению М. Аyyoub и соавторов [2009] способность Treg-лимфоцитов секретировать IL-17 и экспрессировать ROR γ t (RORC2) *ex vivo* свидетельствует об их возможности реализовывать не только супрессорную, но и дополнительную, до настоящего времени для них еще неисследованную, провоспалительную функцию [Ayyoub M. et al., 2009; Хайдуков С.В., Зурочка А.В., 2011].

Отмечается, что на выбор пути дифференцировки «наивных» $CD4^+$ Т-лимфоцитов в направлении Th17- или Treg-клеток важное влияние оказывает транскрипционный фактор IRF4 и киназы семейства IRAK, которые независимо друг от друга направляют развитие в сторону Th17-лимфоцитов [Brustle A. et al., 2007; Yang X.O. et al., 2008; Maitra U. et al., 2009; Lech M. et al., 2011; Bai H. et al., 2017; Bunte K., Beikler T., 2019; Tang M. et al., 2019].

В эксперименте на мышах установлено, что при IL-21-опосредованной поляризации IRF4-дефицитных Т-клеток в направлении Th17, экспрессия транскрипционного фактора ROR γ t снижается, при этом активация STAT3 не нарушается и в значительной степени повышается экспрессия транскрипционного регулятора дифференцировки Treg-лимфоцитов – FoxP3. Предполагается, что транскрипционный фактор IRF4 играет критическую роль в IL-21-опосредованной дифференцировке Th17-лимфоцитов, главным образом, за счет регулирования баланса ROR γ t и FoxP3 [Chen G., Shannon M., 2013; Bai H. et al., 2017; Bunte K., Beikler T., 2019].

Вместе с тем имеются данные о том, что транскрипционный фактор IRF4 оказывает влияние на проявление функциональной активности Treg-

лимфоцитов. Так, у пациентов с аутоиммунными заболеваниями Treg-клетки оказались дефицитными по IRF4, что приводило к нарушению их иммуносупрессорной функции [Zheng Y. et al., 2009; Tang M. et al., 2019].

Таким образом, сложный контроль и скоординированная активность цитокинов и транскрипционных факторов определяют баланс между дифференцировкой Th17- и Treg-лимфоцитов. Вместе с тем, молекулярные механизмы, регулирующие эти процессы в целом остаются неясными, а в случае развития инфекционных заболеваний человека сохраняются практически неисследованными. Имея общую клетку-предшественницу, схожие механизмы развития и регуляцию, Th17- и Treg-лимфоциты выполняют совершенно разные функции в организме. Смещение дифференцировки «наивных» CD4⁺ Т-лимфоцитов в направлении Th17 способствует формированию протективного иммунного ответа на *M. tuberculosis*. Учитывая, что клеточно-опосредованный иммунный ответ, как указывалось выше, является главным компонентом эффективного контроля над туберкулезной инфекцией, роль Th17-лимфоцитов в компенсации функциональной неполноценности Th1-лимфоцитов и развитии противоинфекционного иммунного ответа, в данном случае, не вызывает сомнений. При этом смещение баланса между субпопуляциями Th-лимфоцитов в направлении Treg-клеток может являться одним из факторов прогрессирующего течения, а иногда и неблагоприятного исхода заболевания.

Заключение

Подводя итог, необходимо отметить, что гомеостаз в структуре малых субпопуляций Th17- и Treg-лимфоцитов имеет важное значение в целостном и скоординированном процессе ограничения распространения и эрадикации *M. tuberculosis* в организме. Вместе с тем остается открытым вопрос о том, нарушение каких этапов и механизмов иммунного ответа на возбудитель лежит

в основе формирования иммунорегуляторного дисбаланса и прогрессирующего течения инфекционного процесса.

В свете указанных выше данных, понимание роли Th17- и Treg-лимфоцитов в развитии иммунопатологических реакций при туберкулезной инфекции, а также исследование молекулярно-генетических факторов, контролирующих их баланс, представляет бесспорный научный интерес и в дальнейшем позволит расшифровать новые механизмы реагирования иммунной системы на инфицирование *M. tuberculosis*, а также рассматривать данные субпопуляции лимфоцитов и секретируемый ими широкий спектр цитокинов, как диагностические маркеры развивающегося иммунодефицитного состояния, сопровождающего течение инфекционного процесса, и перспективные мишени для разработки методов целенаправленной иммунокоррекции и создания вакцин нового поколения для иммунопрофилактики туберкулеза легких.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объект исследования

В настоящее исследование включены результаты обследования 179 пациентов, имеющих распространенные (более 4-х сегментов) деструктивные формы впервые выявленного туберкулеза легких (ТЛ) (123 мужчин и 56 женщин в возрасте от 20 до 55 лет, средний возраст $41,57 \pm 10,21$ лет). Пациенты на момент включения в исследование находились в состоянии, соответствующем активной фазе (разгар клинической картины) заболевания, и были госпитализированы для прохождения стационарного лечения в ОГАУЗ «Томский фтизиопульмонологический медицинский центр» (главный врач – Е.А. Крук) во фтизиатерапевтическое отделение № 1, были проинформированы о ходе и целях исследования и дали согласие на участие в нем. Исследования у больных ТЛ проводились однократно, до начала проведения противотуберкулезной терапии, по разрешению локального этического комитета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (№ 2844 от 28.11.2011 г.)

Все пациенты были разделены на группы в зависимости от клинической формы инфекционно-воспалительного процесса – с инфильтративным (98 (54,75%) больных) и диссеминированным (81 (45,25%) больной) ТЛ. Внутри данных групп были сформированы две подгруппы в зависимости от чувствительности/резистентности *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) к средствам противотуберкулезной терапии – с лекарственно-чувствительным (ЛЧ) (61 (34,08%) пациент с ЛЧ инфильтративным и 52 (29,05%) пациента с ЛЧ диссеминированным ТЛ) и лекарственно-устойчивым (ЛУ) (37 (20,67%) пациентов с ЛУ инфильтративным и 29 (16,20%) пациентов с ЛУ диссеминированным ТЛ) ТЛ (Таблица 1).

Сбор анамнеза, клинический осмотр, физикальные методы обследования,

постановка диагноза и назначение стандартных схем лечения производились врачами-фтизиатрами медицинского центра (канд. мед. наук Л.Е. Петровой, канд. мед. наук О.В. Анастасовым, А.А. Платоненковой, О.И. Новосельцевой, Е.П. Степановой).

Таблица 1 – Распределение больных туберкулезом легких по группам исследования

Группы обследованных лиц			
В зависимости от клинической формы заболевания	В зависимости от устойчивости <i>M. tuberculosis</i>	Число обследованных лиц	
		Абс.	%
Пациенты с инфильтративным туберкулезом легких (n=98)	Лекарственно-чувствительный	61	34,08
	Лекарственно-устойчивый	37	20,67
Пациенты с диссеминированным туберкулезом легких (n=81)	Лекарственно-чувствительный	52	29,05
	Лекарственно-устойчивый	29	16,20
Всего пациентов		179	100

Постановка диагноза ТЛ осуществлялась при наличии: выраженной клинической картины заболевания, которая характеризовалась такими признаками интоксикационного синдрома, как слабость, повышенная утомляемость, субфебрильная температура тела, профузная ночная потливость, снижение или отсутствие аппетита, потеря массы тела, тахикардия; бронхолегочного синдрома, характеризующегося продолжительным кашлем (более 2-х – 3-х недель), выделением мокроты, кровохарканьем, одышкой и

болью в грудной клетке, связанной с дыханием и усиливающейся при кашле; а также данных, полученных в ходе рентгенологического исследования легких, микроскопического и бактериологического исследования мокроты.

Бактериовыделение регистрировалось у всех пациентов, включенных в исследование. Для идентификации *M. tuberculosis* в мокроте обследуемых пациентов применяли метод прямой световой микроскопии с окрашиванием мазка мокроты по Цилю-Нильсену, а также метод люминесцентной микроскопии с использованием флуоресцентного красителя аурамина. Чувствительность *M. tuberculosis* к противотуберкулезным средствам (ПТС) определяли методом абсолютных концентраций путем посева мокроты на плотные питательные среды Левенштейна-Йенсена и Финн-2. Данные исследования проводились в бактериологических лабораториях ОГАУЗ «Томский фтизиопульмонологический медицинский центр».

Критериями исключения пациентов с ТЛ из исследования являлись: возраст менее 20 или более 55 лет; проведение вакцинации/ревакцинации вакцинным штаммом BCG (*Bacillus Calmette–Guérin*) и другими вакцинами в течение 3-х лет, предшествующих исследованию; инфицирование вирусами гепатита и ВИЧ; перенесенная инфекция (менее 3-х месяцев назад); наличие острых и хронических (в стадии обострения) сопутствующих инфекционных и соматических заболеваний, аллергических и аутоиммунных болезней; применение иммуномодулирующих препаратов и глюкокортикоидов; отказ от исследования.

Группу сравнения составили 55 здоровых добровольцев с аналогичным группой исследования распределением по полу и возрасту. Критериями включения в группу контроля служили: отсутствие патологических изменений в легких при флюорографическом исследовании; отсутствие в анамнезе легочной, аллергической и аутоиммунной патологии, острых (в течение 3-х месяцев, предшествующих исследованию) и хронических инфекционных заболеваний; заболеваемость острыми респираторными вирусными и бактериальными инфекциями не чаще 3-х раз в год.

2.2 Материал исследования

Материалом для исследования являлась венозная кровь пациентов с ТЛ и здоровых добровольцев. Взятие крови осуществляли утром натощак из локтевой вены в количестве 10 мл в вакуумные системы «BD Vacutainer» («Becton Dickinson», США), содержащие антикоагулянт гепарин. Для генетических методов исследования кровь собирали в вакуумные системы, содержащие антикоагулянт К₂-ЭДТА (этилендиаминтетраацетат). Исследование проводилось на базе научно-образовательной лаборатории молекулярной медицины кафедры патофизиологии, Научно-образовательном центре «Клиническая и экспериментальная иммуногенетика» Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

2.3 Методы исследования

Реализацию поставленных в настоящем исследовании задач осуществляли с использованием современных молекулярно-генетических методов (сорбентно-колоночный метод, реакция обратной транскрипции, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени) для оценки экспрессии генов факторов транскрипции Th17- и Treg-лимфоцитов – RORC2 и FoxP3 соответственно; метода проточной цитофлуориметрии для определения иммунофенотипа клеток (Th17-, Th17/Th1-, Treg-лимфоцитов, $\gamma\delta$ T-клеток и дендритных клеток); культуральных методов с индукцией *in vitro* лимфоцитов (для последующего типирования клеток с определением внутриклеточных маркеров – IL-17A и IFN γ), мононуклеарных лейкоцитов (для последующего определения секреции цитокинов без и в присутствии вакцинного штамма BCG (*Bacillus Calmette–Guérin*), моноцитов крови (для их трансформации в дендритные клетки);

иммунноферментного анализа для оценки цитокинсекреторной (в отношении секреции IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-17A, IL-22, IL-23, интерферона (IFN) γ и трансформирующего фактора роста (TGF) β) активности клеток. На рисунке 6 представлен дизайн настоящего исследования.

2.3.1 Выделение мононуклеарных лейкоцитов из крови

Мононуклеарные лейкоциты выделяли из крови используя метод центрифугирования, принцип которого заключается в осаждении клеток крови в процессе центрифугирования на градиенте плотности фикола ($\rho=1077$ кг/м³) (ООО «БиолоТ», Россия). Для этого венозную кровь предварительно выдерживали 30-40 мин для осаждения эритроцитов и их отделения от лейкоцитов, тромбоцитов и плазмы. Слой, содержащий лейкоциты, аккуратно собирали и наслаивали на градиент плотности фикола в соотношении 1:2 и центрифугировали при 300 g в течение 20 мин. В результате центрифугирования образовывалось интерфазное кольцо, состоящее из взвеси клеток. Данное кольцо осторожно собирали пипеткой с раздела фаз, переносили в пробирку и дважды отмывали средой RPMI-1640 (ЗАО «Вектор», Россия), ресуспендируя и центрифугируя каждый раз при 300 g в течение 10 мин. Клеточный состав взвеси после центрифугирования составляли лимфоциты (85-90%), моноциты (10-15%) и единичные сегментоядерные нейтрофилы (Рисунок 7).

Далее клеточные суспензии мононуклеарных лейкоцитов ресуспендировали в полной питательной среде, состоящей из 90% RPMI-1640 (ЗАО «Вектор», Россия), 10% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки (ООО «БиолоТ», Россия), 0,3 мг/мл L-глутамина и 50 мкг/мл гентамицина.

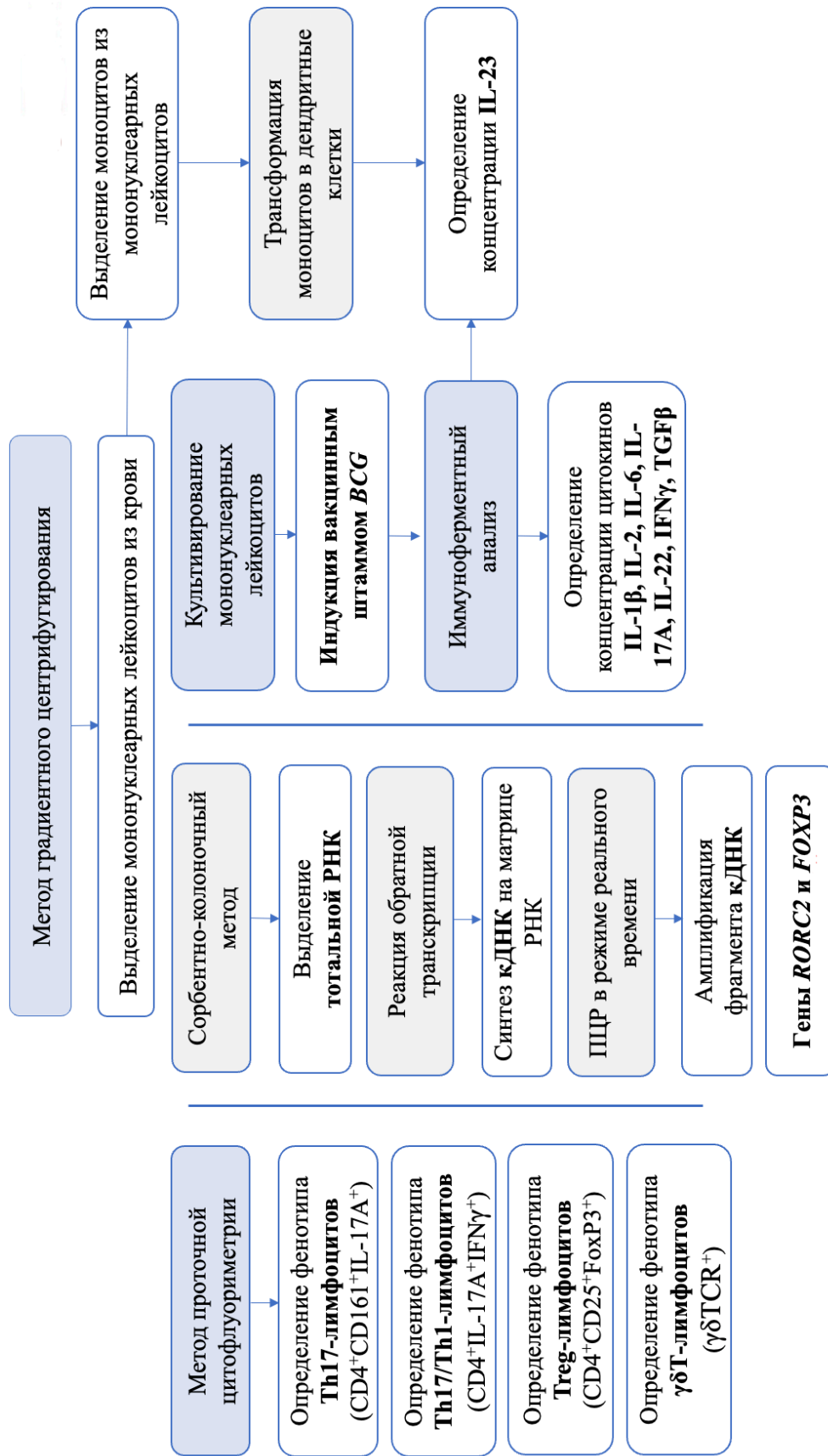


Рисунок 6 – Дизайн исследования

Примечание. кДНК – комплиментарная ДНК; ПЦР – полимеразная цепная реакция; FoxP3 – белок скурфин, фактор транскрипции; IFN – интерферон; IL – интерлейкин; ROR – рецепторы-сироты родственные ретиноидным, фактор транскрипции; TGF – трансформирующий фактор роста.

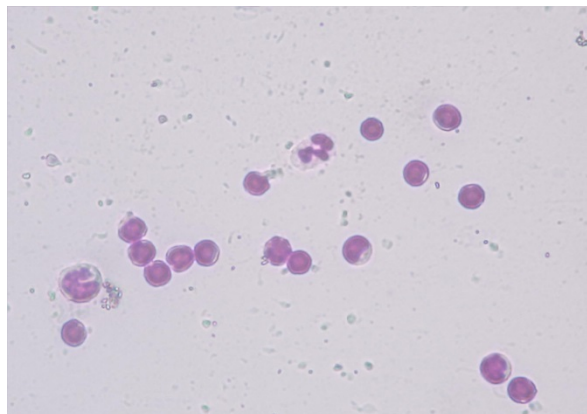


Рисунок 7 – Микрофотография клеточного состава взвеси после центрифугирования на градиенте плотности фикола. Световая микроскопия. Окраска азур II – эозином, увеличение 400

2.3.2 Подсчет абсолютного числа лимфоцитов в суспензии клеток и оценка их жизнеспособности

Подсчет числа лимфоцитов в полученной клеточной суспензии (см п. 2.3.1) осуществляли стандартным гематологическим методом, используя счетную камеру Горяева. Принцип метода заключается в подсчете лимфоцитов в квадратах счетной сетки камеры Горяева с последующим перерасчетом на 1 мл, учитывая объем квадрата ($1/250$ мкл) и разведение крови (в 20 раз). Для подсчета числа лимфоцитов в пробирку вносили 0,4 мл 3-5% раствора уксусной кислоты и 0,02 мл клеточной суспензии. Полученной смесью заполняли камеру Горяева и выдерживали ее в горизонтальном положении в течение 1 мин для оседания клеток. Далее проводили световую микроскопию с подсчетом клеток в 100 больших квадратах по всей площади счетной сетки. Расчет числа лимфоцитов осуществляли по формуле:

$$X = \frac{a \times 20 \times 250}{100} \times 10^3 / \text{л} = \frac{a}{20} \times 10^6 / \text{мл},$$

где X – количество лимфоцитов в 1 мл клеточной суспензии;

a – сумма лимфоцитов, подсчитанных в 100 больших квадратах.

Результаты подсчета представляли в абсолютных числах ($\times 10^6 / \text{мл}$). Количество клеток в суспензии стандартизировали до $2,5 \times 10^6 / \text{мл}$.

Определение жизнеспособности клеток проводили в счетной камере Горяева, используя тест с трипановым синим. Для этого смешивали 0,1 мл суспензии мононуклеарных лейкоцитов с 0,1 мл 0,5% раствора трипанового синего («Serva», США). Полученную смесь переносили в камеру Горяева и осуществляли подсчет числа жизнеспособных (неокрашенных) и погибших (окрашенных в синий цвет) клеток. Результаты выражали в процентах. Жизнеспособность клеток составляла не менее 95%.

2.3.3 Выделение моноцитов из культуры мононуклеарных лейкоцитов

Экстракцию моноцитов из культуры мононуклеарных лейкоцитов проводили методом центрифугирования на градиенте плотности перколла ($\rho = 1,131 \text{ г/см}^3$) («Sigma», США). Для этого в клеточную суспензию (см. п. 2.3.1) вносили стандартный изотонический раствор перколла (Standart Isotone Percoll (SIP)), доводя объем до 2,5 мл. Далее последовательно наслаивали 5 мл 45 % раствора SIP и 2 мл 25 % раствора SIP, и центрифугировали в течение 45 мин при 800 g и температуре 4 °C. По окончании центрифугирования осторожно собирали верхнее интерфазное кольцо, содержащее фракцию моноцитов, и однократно отмывали средой RPMI 1640 (ЗАО «Вектор», Россия), ресуспендируя и центрифугируя при 300 g в течение 10 мин. Далее в клеточную суспензию вносили полную питательную среду (состав см. в п. 2.3.1), доводя

объем до 1 мл, и производили подсчет количества клеток и оценку их жизнеспособности (см. п. 2.3.2). Жизнеспособность выделенных моноцитов составляла не менее 95%.

2.3.4 Получение дендритных клеток путем трансформации моноцитов крови

Для трансформации моноцитов крови в дендритные клетки (ДК) в ячейки 24-луночного планшета вносили 250 мкл клеточной суспензии (клеточность составляла 1×10^6) (см. п. 2.3.3) и полную питательную среду (см. п. 2.3.1), доводя объем до 1 мл. Далее клеточные суспензии инкубировали в течение 1 ч при температуре 37 °C и 5% CO₂. Спустя 1 час инкубации в ячейках планшета образовался монослой клеток. После этого производили замену полной питательной среды с внесением неспецифических стимуляторов – рекомбинантного колониестимулирующего фактора гранулоцитов и макрофагов (GM-CSF) («Sigma», США) (для выживания клеток и индукции превращения моноцитов в ДК) и рекомбинантного интерлейкина (IL) 4 («Sigma», США) (для предотвращения развития моноцитов в макрофаги) в концентрации 20 нг/мл соответственно (сроки культивирования и дозы стимуляторов определяли экспериментально). Первые незрелые ДК обнаруживались в культуральной среде в течение 2-3 дней. Замену среды с внесением 750 мкл полной питательной среды, содержащей GM-CSF и IL-4 осуществляли на 3-й день культивирования. На 5-й день культивирования клеток осуществляли повторную замену полной питательной среды с внесением специфического стимулятора – бактериального антигена – липополисахарида (ЛПС) («Sigma», США) (для созревания и активации ДК) в концентрации 5 мг/мл. Зрелые ДК образовывались на 6-е сутки культивирования. Для оценки IL-23-секреторной активности ДК супернатанты клеточных культур собирали на 7-е сутки культивирования (Рисунок 8).

Для верификации дифференцировки моноцитов в дендритные клетки осуществляли определение поверхностного рецептора CD209, являющегося общим маркером зрелых дендритных клеток.

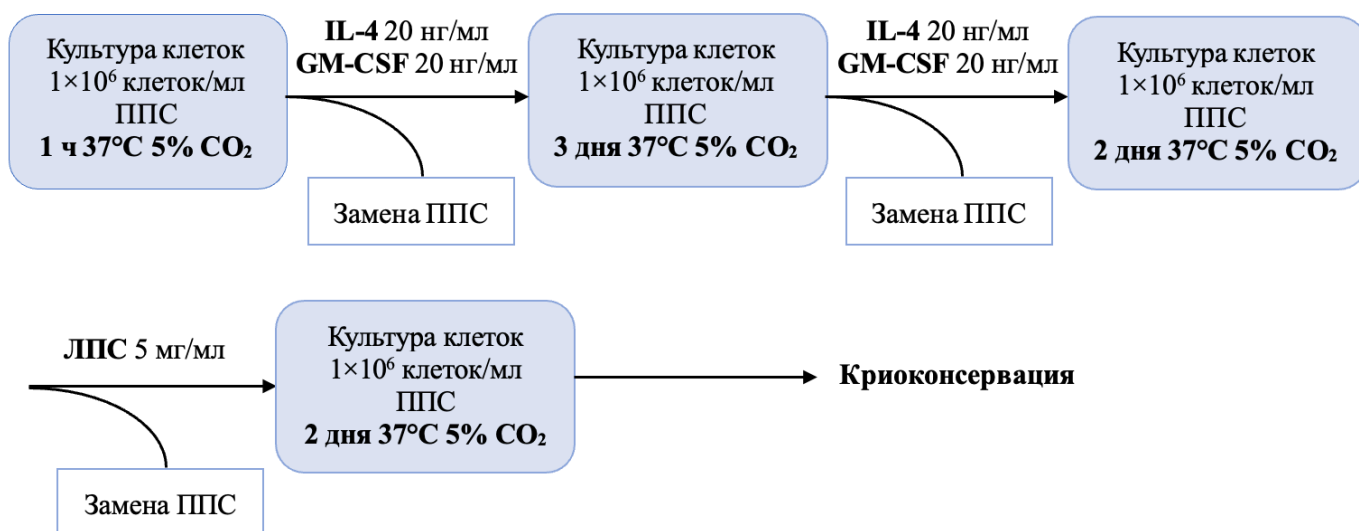


Рисунок 8 – Схема трансформации моноцитов в дендритные клетки *in vitro*

Примечание. ЛПС – липополисахарид, ППС – полная питательная среда, GM-CSF – колониестимулирующий фактор гранулоцитов и макрофагов, IL – интерлейкин.

2.3.5 Иммуноферментный анализ секретиции цитокинов мононуклеарными лейкоцитами и дендритными клетками крови *in vitro*

Определение концентрации IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-17A, IL-22, IL-23, IFN γ и TGF β в супернатантах клеточных культур проводили твердофазным иммуноферментным «сэндвич»-методом (ELISA). Принцип метода основан на взаимодействии моноклональных антител, сорбированных на пористой твердой фазе культурального микропланшета, с одним из эпитопов исследуемой молекулы с образованием комплекса «антиген-антитело» в процессе инкубации. Внесение специфичных поликлональных антител, меченных ферментом,

сопровождается их соединением с независимым эпитопом исследуемой молекулы с образованием комплекса «антитело-антиген-антитело». Удаление избытка поликлональных антител и последующее внесение окрашивающего раствора сопровождается ферментативной реакцией и развитием окрашивания, интенсивность которого пропорциональна концентрации исследуемой молекулы. Регистрация результата осуществляется спектрофотометрически.

Для проведения иммуноферментного анализа суспензии клеточных культур (см. п. 2.3.1) инкубировали без и в присутствии индуктора цитокинсекреторной активности – вакцинного штамма BCG (ФГУП «НПО Микроген», Россия) в дозе 50 мкг/мл в течение 48 ч при температуре 37 °C и 5% CO₂ (Рисунок 9). По окончании инкубации пробирки с клеточными культурами аккуратно встряхивали и осуществляли центрифугирование при 300 g в течение 10 мин. Образовавшийся после центрифугирования супернатант использовали для оценки секреции цитокинов мононуклеарными лейкоцитами крови.



Рисунок 9 – Схема антигенной индукции культуры мононуклеарных лейкоцитов *in vitro* для оценки их цитокинсекреторной способности

Примечание. BCG – вакцинный штамм BCG (*Bacillus Calmette–Guérin*).

Иммуноферментный анализ (ИФА) осуществляли, руководствуясь инструкциями к наборам диагностических тест-систем («R&D Systems», США; «Вектор-Бест», Россия). Регистрацию оптической плотности содержимого ячеек планшета проводили при помощи микропланшетного фотометра «Multiskan EX» («Thermo», Финляндия) при длине волны 450 нм. Полученные данные анализировали, используя программное приложение «Multiskan Magic» («Thermo», Финляндия). Используя результаты измерения стандартных

растворов цитокинов, осуществляли построение калибровочной кривой, по которой определяли концентрацию цитокинов в исследуемых образцах. Результаты выражали в пг/мл.

2.3.6 Иммунофенотипирование малых субпопуляций Т-лимфоцитов крови методом проточной цитофлуориметрии

Экспрессию поверхностных рецепторных молекул CD4, CD161, CD25, $\gamma\delta$ TCR, продукцию внутриклеточных цитокинов IL-17A, IFN γ и транскрипционного фактора FoxP3 в лимфоцитах крови и поверхностной рецепторной молекулы CD209 на дендритных клетках определяли методом проточной лазерной трехцветной цитофлуориметрии, используя моноклональные антитела (МКАТ), меченные флуоресцентными метками (PerCP, FITC, PE-Cy5, PE, PerCP-Cy5.5; «Becton Dickinson», США). Принцип метода основан на регистрации прямого и бокового светорассеяния и трем показателям флуоресценции света луча лазера в процессе прохождения через него клетки в струе жидкости. Процедуры окрашивания суспензии клеток осуществляли, руководствуясь протоколами предлагаемыми производителями МКАТ («Becton Dickinson», США) (Таблица 2, 3).

Таблица 2 – Флуоресцентные метки используемых моноклональных антител, время и условия инкубации клеток при проведении окрашивания

Определяемый параметр	Флуоресцентная метка	Время инкубации клеток с МКАТ	Условия инкубации клеток
1	2	3	4
CD4	PerCP/FITC	30 мин/ 20 мин	20-22 °C
CD25	PE-Cy5	20 мин	20-22 °C

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4
CD161	FITC	30 мин	20-22 °C
$\gamma\delta$ TCR	PE	30 мин	2-8 °C
IL-17A	PE	30 мин	20-22 °C
IFN γ	FITC	30 мин	20-22 °C
FoxP3	PE	30 мин	20-22 °C
CD209	PerCP-Cy5.5	30 мин	4 °C

Примечание – МКАТ – моноклональные антитела.

Таблица 3 – Время и условия инкубации клеток при проведении процедуры
внутриклеточного окрашивания

Определяемый параметр	Время и условия инкубации клеток		
	ФМА и иономицин	Моненсин	Фиксирующий и пермеабилзирующий раствор
IL-17A	4 ч 37 °C и 5% CO ₂	4 ч 37 °C и 5% CO ₂	20 мин 4 °C
IFN γ	4 ч 37 °C и 5% CO ₂	4 ч 37 °C и 5% CO ₂	20 мин 4 °C
FoxP3	—	—	30 мин 20-22 °C

Примечание – ФМА – 4-форбол-12-миристат-13-ацетат.

2.3.6.1 Определение количества CD4⁺CD161⁺IL-17A⁺ (Th17) лимфоцитов в крови

Для подсчета CD4⁺CD161⁺IL-17A⁺ (Т-лимфоцитов-хелперов (Th) типа 17)

лимфоцитов клеточную суспензию (полученную см. п. 2.3.1) предварительно стимулировали 2 мкл (на 1 мл клеточной суспензии) коктейля, содержащего 4-форбол-12-миристан-13-ацетат (ФМА) и иономицин («Cell stimulation cocktail», «eBioscience», США) (Таблица 3).

Для предотвращения выхода цитокина из клеток в пробы вносили 0,6 мкл (на 1 мл клеточной суспензии) блокатора внутриклеточного транспорта протеинов, содержащего моненсин («BD GolgiStop», «Becton Dickinson», США). Далее клеточные суспензии инкубировали в течение 4 ч при температуре 37 °C и 5% CO₂ (Таблица 3, Рисунок 10).



Рисунок 10 – Схема индукции культуры моноклеарных лейкоцитов *in vitro* для определения внутриклеточных цитокинов

Примечание. ФМА – 4-форбол-12-миристан-13-ацетат.

После этого пробы центрифугировали в течение 10 мин при 250 g и отмывали 5 мл раствора для промывки клеток («BD CellWASH solution», «Becton Dickinson», США). Из полученного образца отбирали 1×10^6 клеток в пробирку для проточной цитофлуориметрии.

Для окрашивания поверхностной рецепторной молекулы CD161 к 100 мкл клеточных суспензий вносили 20 мкл специфических МКАТ, меченных флуоресцеин изотиоцианатом (FITC) («Becton Dickinson», США) и инкубировали в течение 30 мин при температуре 20-22 °C в защищенном от света месте (Таблица 2). В связи с тем, что стимулятор ФМА может приводить к снижению экспрессии CD4 на поверхности клеток, осуществляли окрашивание внутриклеточного домена CD4 совместно с внутриклеточным цитокином IL-17A. Для этого проводили предварительную фиксацию и пермеабелизацию

клеток, добавляя 250 мкл холодного раствора для фиксации и пермеабилзации («Fixation/Permeabilization solution», «Becton Dickinson», США) с последующим инкубированием клеток в течение 20 мин при температуре 4 °С в защищенном от света месте. Далее клетки дважды отмывали 1 мл буфера для пермеабилзации и отмывки («BD Perm/Wash™ Buffer», «Becton Dickinson», США), центрифугируя каждый раз в течение 10 мин при 250 g.

Полученный осадок клеток осторожно ресуспендировали, вносили 20 мкл антител к CD4, меченных перидинин-хлорофилл протеином (PerCP) («Becton Dickinson», США), и 20 мкл антител к внутриклеточному цитокину IL-17A, меченных фикоэритрином (PE) («Becton Dickinson», США), и инкубировали в течение 30 мин при температуре 20-22 °С в защищенном от света месте (Таблица 2). После этого дважды отмывали буфером для пермеабилзации и отмывки («BD Perm/Wash™ Buffer», «Becton Dickinson», США), центрифугируя каждый раз при 250 g в течение 5 мин. Полученный осадок осторожно ресуспендировали и вносили 300 мкл окрашивающего буфера («Stain Buffer», «Becton Dickinson», США).

Анализ образцов клеточных суспензий проводили при помощи проточного цитофлуориметра «FACS Calibur Flow cytometer BD» («Becton Dickinson», США), используя программное приложение «BD CellQuest for Mac OS® X» («Becton Dickinson», США). Квадранты гейтирования устанавливали согласно окраске клеток изотипическими контролями к каждому МКАТ (IgG₁, меченные FITC, PE и PerCP («Becton Dickinson», США)).

Клеточные суспензии анализировали по сигналам прямого светорассеяния (FSC) (характеризующему размер клетки), бокового светорассеяния (SSC) (характеризующему цитоплазматические и мембранные особенности клетки) (Рисунок 11) и трем показателям флуоресценции – FITC, PE и PerCP, выявляемых на FL1-, FL2-, FL3-каналах (Рисунки 12, 13).

Результаты выражали в процентах от общего числа клеток.

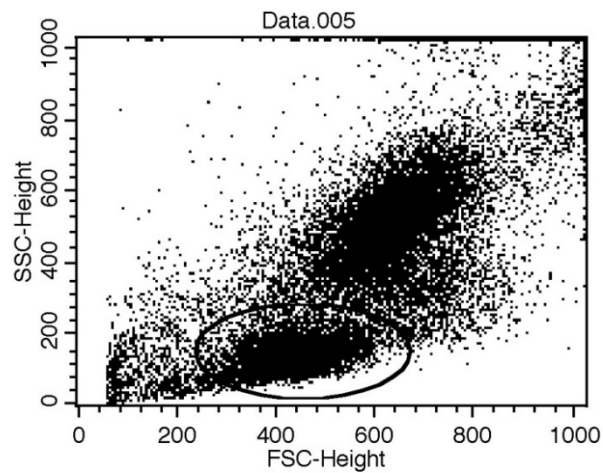


Рисунок 11 – Общее содержание лимфоцитов в смешанной суспензии мононуклеарных лейкоцитов (определяется по сигналам прямого (FSC) и бокового (SSC) светорассеяния)

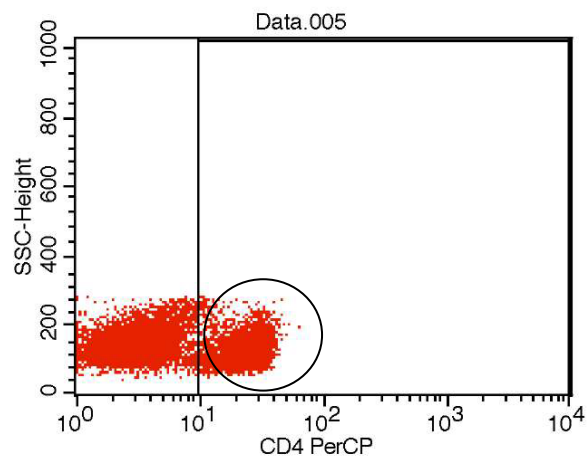


Рисунок 12 – Содержание $CD4^+$ лимфоцитов, имеющих излучение PerCP (определяется по сигналам бокового светорассеяния (SSC) и интенсивности флуоресценции в FL3-канале)

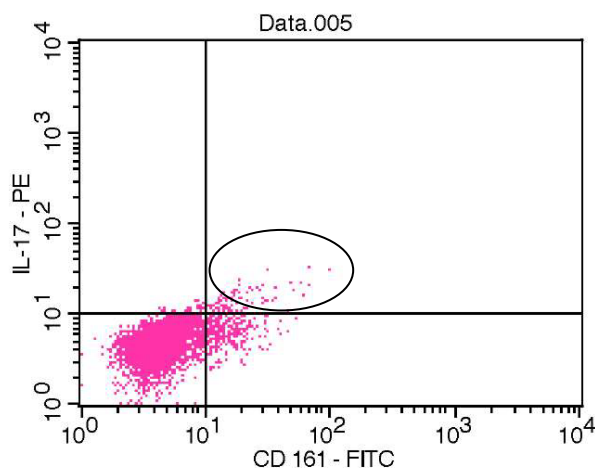


Рисунок 13 – Содержание $CD4^+CD161^+IL-17A^+$ клеток (распределение $CD161^+IL-17A^+$ Т-лимфоцитов, имеющих излучение FITC и PE, в популяции $CD4$ -положительных лимфоцитов крови, определяется по интенсивности флуоресценции в FL1, FL2-каналах)

2.3.6.2 Определение количества $CD4^+IL-17A^+IFN\gamma^+$ (Th17/Th1) лимфоцитов в крови

Для подсчета $CD4^+IL-17A^+IFN\gamma^+$ (Th17/Th1) лимфоцитов предварительно проводили процедуры стимуляции, фиксации и пермеабиллизации клеток аналогично таковым в п. 2.3.6.1.

Для окрашивания клеток к 100 мкл клеточных суспензий вносили 20 мкл специфических МКАТ к $CD4$, меченных PerCP («Becton Dickinson», США), 20 мкл антител к внутриклеточному $IL-17A$, меченных PE («Becton Dickinson», США), 20 мкл антител к внутриклеточному $IFN\gamma$, меченных FITC («Becton Dickinson», США) и инкубировали в течение 30 мин при температуре 20-22 °C в защищенном от света месте (Таблица 2). После этого дважды отмывали буфером для пермеабиллизации и отмывки («BD Perm/Wash™ Buffer», «Becton Dickinson», США), центрифугируя каждый раз при 250 g в течение 5 мин. Полученный осадок осторожно ресуспендировали и вносили 300 мкл окрашивающего буфера

(«Stain Buffer», «Becton Dickinson», США).

Процедуру измерения проводили аналогично таковой в п. 2.3.6.1. Квадранты гейтирования устанавливали согласно окраске клеток изотипическими контролями к каждому МКАТ (IgG₁, меченные PE, FITC и PerCP («Becton Dickinson», США)).

Клеточные суспензии анализировали по сигналам прямого светорассеяния (FSC), бокового светорассеяния (SSC) и трем показателям флуоресценции – PE, FITC и PerCP, выявляемых на FL1-, FL2-, FL3-каналах (Рисунок 14). Результаты выражали в процентах от общего числа клеток.

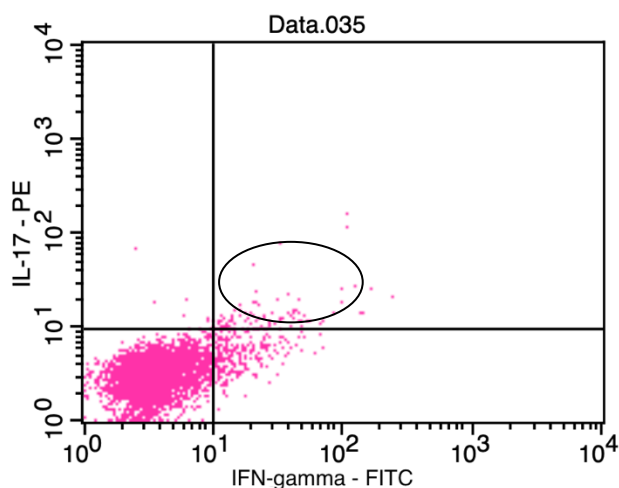


Рисунок 14 – Содержание CD4⁺IL-17A⁺IFN γ ⁺ клеток (распределение IL-17A⁺IFN γ ⁺ Т-лимфоцитов, имеющих излучение PE и FITC, в популяции CD4-положительных лимфоцитов крови, определяется по интенсивности флуоресценции в FL1, FL2-каналах)

2.3.6.3 Определение количества CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ (Treg) лимфоцитов в крови

Для подсчета CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ регуляторных Т-лимфоцитов (Treg) полученную в п. 2.3.1 клеточную суспензию стандартизировали до 1×10⁶ /мл.

Для окрашивания поверхностных рецепторных молекул CD4, CD25 к 100 мкл клеточных суспензий вносили по 20 мкл специфических МКАТ, меченных FITC и PE-Cy5 соответственно («Becton Dickinson», США) и инкубировали в течение 20 мин при температуре 20-22 °С в защищенном от света месте (Таблица 2).

Окрашивание внутриклеточного транскрипционного фактора FoxP3 проводили с предварительной пермеабиллизацией мембраны лимфоцитов. Для этого в пробирки поочередно вносили по 500 мкл рабочих растворов фиксирующих и пермеабилизирующих буферов («Human FoxP3 Buffer Set», «Becton Dickinson», США) и инкубировали в течение 30 мин при температуре 20-22 °С в защищенном от света месте (Таблица 3). Далее клетки дважды отмывали 2 мл 0,01 М фосфатно-солевого буфера (PBS) (pH=7,4), центрифугируя каждый раз в течение 10 мин при 250 g.

Осадок клеток осторожно ресуспендировали, вносили 20 мкл антител к FoxP3, меченных PE («Becton Dickinson», США) и инкубировали в течение 30 мин при температуре 20-22 °С в защищенном от света месте (Таблица 2). Затем клетки дважды отмывали 2 мл фосфатно-солевого буфера (0,01 М PBS, pH=7,4), центрифугируя каждый раз при 250 g в течение 5 мин. После этого к осадку добавляли 400 мкл фосфатно-солевого буфера (0,01 М PBS, pH=7,4).

Процедуру измерения проводили аналогично таковой в п. 2.3.6.1. Квадранты гейтирования устанавливали согласно окраске клеток изотипическими контролями к каждому МКАТ (IgG₁, меченные FITC, PE и PE-Cy5 («Becton Dickinson», США)).

Клеточные суспензии анализировали по сигналам прямого светорассеяния (FSC), бокового светорассеяния (SSC) и трем показателям флуоресценции – FITC, PE и PE-Cy5, выявляемых на FL1-, FL2-, FL3-каналах (Рисунок 15). Результаты выражали в процентах от общего числа клеток.

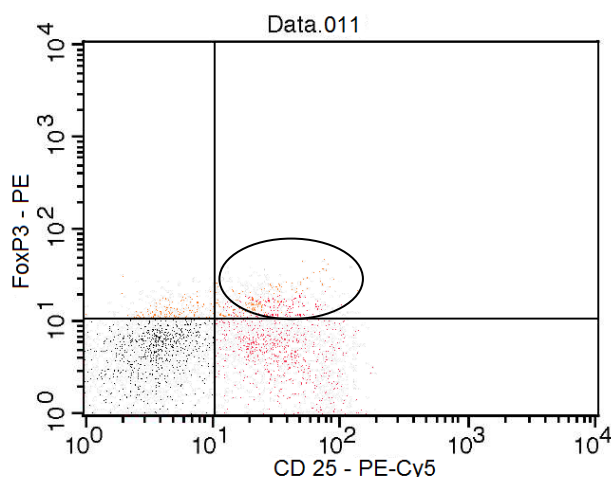


Рисунок 15 – Содержание $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ клеток (распределение $CD25^+FoxP3^+$ Т-лимфоцитов, имеющих излучение PE и PE-Cy5, в популяции $CD4$ -положительных лимфоцитов крови, определяется по интенсивности флуоресценции в FL2, FL3-каналах)

2.3.6.4 Определение количества $\gamma\delta TR^+$ ($\gamma\delta T$) лимфоцитов в крови

Для подсчета лимфоцитов, экспрессирующих на своей поверхности $\gamma\delta T$ -клеточный рецептор ($\gamma\delta T$ -лимфоциты), к 100 мкл клеточных суспензий вносили 20 мкл специфических МКАТ, меченных PE («Becton Dickinson», США), с последующим инкубированием в течение 30 мин при температуре 2-8 °C в защищенном от света месте (Таблица 2).

Процедуры окрашивания и измерения проводили аналогично таковым в п. 2.3.6.1. Квадранты гейтирования устанавливали согласно окраске клеток изотипическим контролем к МКАТ (IgG₁, меченные PE («Becton Dickinson», США)).

Клеточные суспензии анализировали по сигналам прямого (FSC), бокового светорассеяния (SSC) и показателю флуоресценции PE, выявляемому на FL2-канале (Рисунок 16). Результаты выражали в процентах от общего числа клеток.

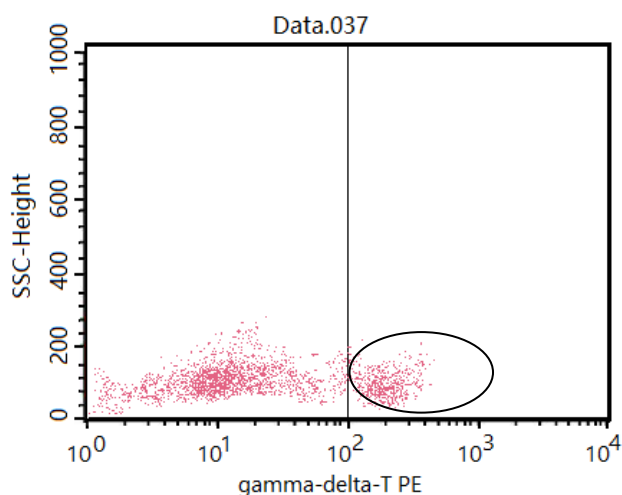


Рисунок 16 – Содержание лимфоцитов, экспрессирующих $\gamma\delta\text{TR}$ (распределение $\gamma\delta\text{TR}^+$ лимфоцитов, имеющих излучение PE, определяется по сигналам бокового светорассеяния (SSC) и интенсивности флуоресценции в FL2-канале)

2.3.7 Определение иммунофенотипа дендритных клеток методом проточной цитофлуориметрии

Экспрессию поверхностной рецепторной молекулы CD209 на дендритных клетках определяли методом проточной лазерной цитофлуориметрии, используя МКАТ, меченные флуоресцентной меткой (PerCP-Cy5.5; «Becton Dickinson», США). Процедуру окрашивания суспензии клеток осуществляли согласно протоколу фирмы производителя МКАТ («Becton Dickinson», США).

Для подсчета CD209^+ дендритных клеток клеточную суспензию (полученную см. п. 2.3.4) переносили в пробирку для проточной цитофлуориметрии и центрифугировали в течение 5 мин при 250 g с последующей отмывкой фосфатно-солевым буфером (0,01 M PBS, pH=7,4). Для окрашивания поверхностной рецепторной молекулы CD209 к 100 мкл клеточных суспензий вносили 20 мкл специфических МКАТ, меченных PerCP-

Cy5.5 («Becton Dickinson», США), и инкубировали в течение 30 мин при температуре 4 °C в защищенном от света месте (Таблица 2). Далее осуществляли отмывку путем центрифугирования, добавляя фосфатно-солевой буфер (0,01 М PBS, pH=7,4), в течение 5 мин при 250 g. Полученный осадок осторожно ресуспендировали и вносили 400 мкл фосфатно-солевого буфера (0,01 М PBS, pH=7,4).

Клеточные суспензии анализировали по сигналам прямого (FSC), бокового светорассеяния (SSC) и показателю флуоресценции PerCP-Cy5.5, выявляемому на FL1-канале. Результаты выражали в процентах от общего числа клеток. Количество CD209⁺-экспрессирующих клеток составляло 35% и более.

2.3.8 Определение экспрессии генов транскрипционных факторов RORC2 и FoxP3 в лимфоцитах методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени

Для определения экспрессии генов главных регуляторов дифференцировки Th17-лимфоцитов и Treg-клеток – транскрипционных факторов RORC2 и FoxP3 предварительно осуществляли выделение тотальной РНК (совокупность рибосомной РНК, транспортной РНК и матричной РНК (мРНК)) из культуры мононуклеарных лейкоцитов сорбентно-колоночным методом, далее на матрице РНК проводили синтез комплементарной ДНК (кДНК), используя реакцию обратной транскрипции, с последующим проведением полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени для количественного определения мРНК генов *RORC2*, *FOXP3* (Рисунок 17).

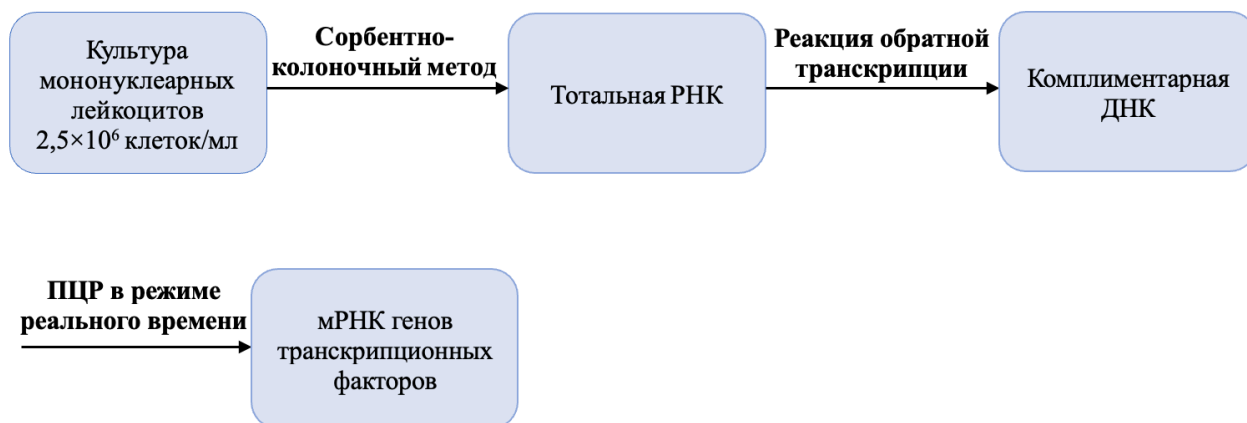


Рисунок 17 – Схема последовательности этапов определения экспрессии генов транскрипционных факторов

Примечание. ПЦР – полимеразная цепная реакция.

2.3.8.1 Выделение тотальной РНК из мононуклеарных лейкоцитов

Выделение тотальной РНК из мононуклеарных лейкоцитов проводили сорбентно-колоночным методом, используя набор реагентов «RNeasy Plus Mini Kit» («QIAGEN», Германия). Принцип метода основан на связывающем свойстве мембран на силико-гелевой основе и микроспиновой технологии очистки РНК.

Для выделения тотальной РНК в клеточную суспензию (полученную см. п. 2.3.1) вносили 350 мкл лизирующего буфера («Buffer RLT Plus», «QIAGEN», Германия) и аккуратно перемешивали на вортексе. Образовавшийся лизат клеток пропускали через колонки, центрифугируя при 10000 g в течение 30 с. Далее к полученному элюату добавляли 350 мкл 70% этанола, тщательно перемешивали, переносили в новую колонку и центрифугировали при 10000 g в течение 15 с. Центрифугат удаляли, в колонку вносили 700 мкл высокосолевого буфера («Buffer RW1», «QIAGEN», Германия) и центрифугировали при 10000 g в течение 15 с. Далее дважды отмывали 500 мкл буфера для удаления солей («Buffer RPE», «QIAGEN», Германия), центрифугируя каждый раз при 10000 g в

течение 15 с и 2 мин соответственно.

Для элюирования тотальной РНК добавляли 30-50 мкл воды, свободной от РНКаз («RNase free water», «QIAGEN», Германия), и центрифугировали при 10000 g в течение 1 мин. Полученные образцы подвергали заморозке для дальнейшего проведения реакции обратной транскрипции.

2.3.8.2 Синтез комплементарной ДНК с использованием реакции обратной транскрипции

Для синтеза кДНК на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции, используя набор реагентов для проведения обратной транскрипции («Синтол», Россия). Принцип метода основан на превращении одноцепочечной молекулы РНК в кДНК с использованием рекомбинантной обратной транскриптазы.

Для проведения реакции обратной транскрипции к 2 мкл тотальной РНК (см. п. 2.3.7.1) добавляли 1 мкл праймера Random-6 (15 ОЕ/мл) («Синтол», Россия), 10 мкл воды свободной от нуклеаз («Синтол», Россия) и инкубировали в амплификаторе «Терцик МС2» («ДНК-технология», Россия) в течение 10 мин при температуре 70 °С, после чего немедленно охлаждали на льду. Затем в пробирки вносили 10 мкл реакционной смеси, 1 мкл ингибитора РНКаз (5 ед/мкл), 1 мкл MMLV ревертазы (50 ед/мкл) («Синтол», Россия) и инкубировали в амплификаторе в течение 1 ч при температуре 37 °С. Далее осуществляли инактивацию ревертазы, нагревая пробирки до 92 °С в течение 3 мин. Полученную кДНК использовали для проведения метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

2.3.8.3 Количественное определение мРНК генов транскрипционных

факторов RORC2 и FoxP3 в лимфоцитах

Определение содержания мРНК генов транскрипционных факторов RORC2 и FoxP3 в лимфоцитах проводили методом ПЦР в режиме реального времени, используя интеркалирующий краситель SYBR Green I («Синтол», Россия). Принцип метода основан на амплификации кДНК за счет повторяющихся циклов: температурной денатурации ДНК с образованием однонитевой формы, последующего отжига праймеров с комплементарными последовательностями и достройкой второй цепи ДНК с этих праймеров Taq-полимеразой.

Для проведения ПЦР в режиме реального времени в лунки планшета вносили по 10 мкл реакционной смеси, содержащей краситель SYBR Green I, Taq ДНК-полимеразу, дезоксинуклеозиттрифосфаты, 2,5×ПЦР буфер Б (KCl; трисHCl (pH=8,8); 6,25 mM MgCl₂), глицерол и Tween 20; 10 мкл раствора праймеров, позволяющих специфично амплифицировать фрагменты кДНК (Таблица 2) и 5 мкл образца с искомой ДНК (см. п. 2.3.7.2).

В Таблице 4 представлены последовательности нуклеотидов в праймерах, которые использовали для оценки экспрессии генов факторов транскрипции.

Далее в каждую лунку вносили по 1 капле минерального масла и помещали планшет в амплификатор «DTprime (ДТ-96)» («ДНК-технология», Россия), задавая следующие условия:

1. Денатурация при 94 °C в течение 3 мин.
2. Амплификация (45 циклов) в следующем температурно-временном режиме:
 - 1) плавление при 94 °C в течение 6 с;
 - 2) отжиг при 60 °C в течение 6 с;
 - 3) элонгация при 72 °C в течение 6 с.
3. Постройка кривых плавления с шагом 0,5 °C.

Таблица 4 – Последовательность нуклеотидов в праймерах, применяемых для оценки экспрессии генов *RORC2*, *FOXP3* и β -*ACTIN* в лимфоцитах

Ген	Последовательность нуклеотидов прямого (F) и обратного (R) праймеров
<i>RORC2</i>	F: 5' TTCCAGGTCTCAGTGTAAGTCC 3' R: 5' AGTGCTTTGTCTTAGTGCTGTG 3'
<i>FOXP3</i>	F: 5' GCACATTCCCAGAGTTCCTC 3' R: 5' CAGTGGTAGATCTCATTGAGTGTC 3'
β - <i>ACTIN</i>	F: 5' CATTTCCGAAGCGAGTGTCT 3' R: 5' GAGCGATTCCGGACTACCTT 3'

Примечание – праймеры разработаны на основе последовательностей, представленных в GenBank, с использованием программного обеспечения Primer Express

Определение относительного количества кДНК в образцах проводили, используя сравнительный метод $\Delta\Delta C_t$ по формуле:

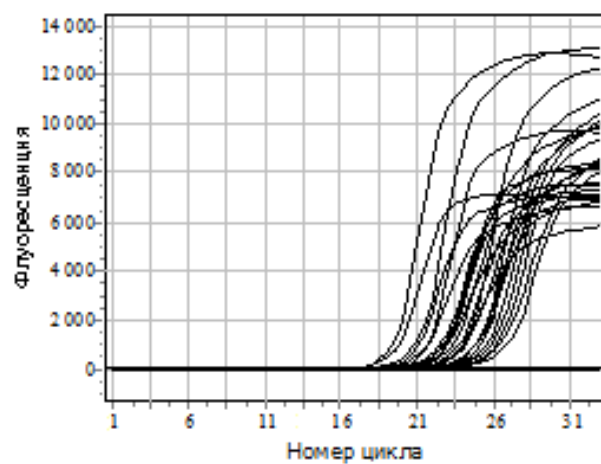
$$2^{(C_t \text{ исследуемого гена} - C_t \text{ референсного гена})},$$

где C_t (cycle threshold) – пороговый цикл реакции.

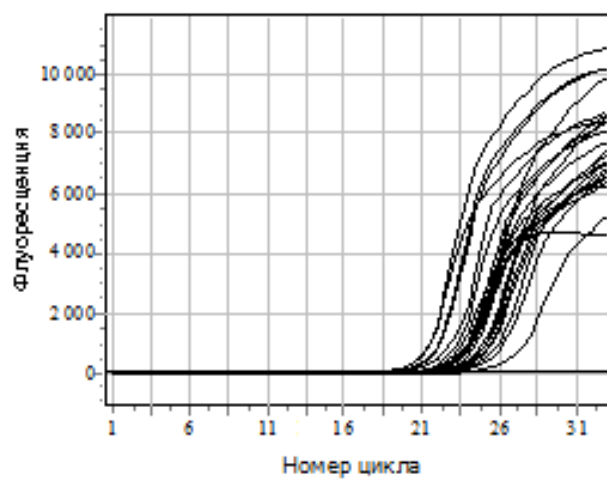
В качестве референсного гена использовали ген β -*ACTIN*, который является одним из наиболее стабильно экспрессирующихся генов «домашнего хозяйства» для исследуемых клеток. Результаты выражали в относительных единицах (отношение числа циклов амплификации исследуемого гена к количеству циклов амплификации гена β -*ACTIN*).

На Рисунке 18 представлено графическое изображение накопления продукта ПЦР в режиме реального времени гена *RORC2*, гена *FOXP3* и гена β -*ACTIN*.

1



2



3

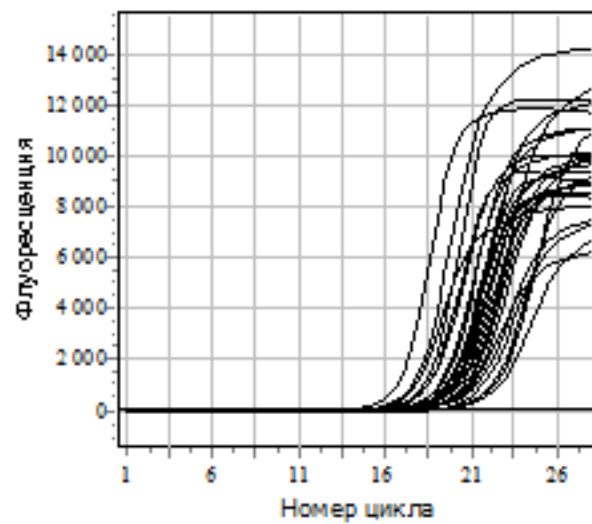


Рисунок 18 – Кривые накопления продуктов амплификации генов: 1 – ген *RORC2*; 2 – ген *FOXP3*; 3 – ген β -ACTIN

2.3.9 Статистическая обработка результатов исследования

Результаты исследования обрабатывали, используя пакет прикладных программ «Statistica for Windows» Version 8.0 («StatSoft Inc.», США). Проверку гипотезы о нормальном законе распределения признака осуществляли с использованием критерия Шапиро-Уилка. Ввиду того, что все исследуемые количественные признаки в группах сравнения не подчинялись нормальному распределению, результаты представляли в виде медианы (Me), верхнего (75%) и нижнего (25%) квартилей (Me (Q₁-Q₃)). Оценку достоверности различий выборок, не подчиняющихся критерию нормального распределения, осуществляли непараметрическим Т-критерием Вилкоксона для зависимых выборок и непараметрическим U-критерием Манна-Уитни для независимых выборок. Для установления взаимосвязи между изучаемыми признаками применяли корреляционный анализ с вычислением коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r). Для определения структуры взаимосвязи (выявления скрытых закономерностей) между изучаемыми количественными признаками применяли многомерный факторный анализ (метод главных компонент).

Результаты анализа считали статистически значимыми при р-уровне менее 0,05 ($p < 0,05$).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Содержание Th17- и Th17/Th1-лимфоцитов в крови у больных туберкулезом легких

3.1.1 Содержание Th17- и Th17/Th1-лимфоцитов в крови у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания

В результате настоящего исследования у пациентов с инфильтративным туберкулезом легких (ТЛ) установлено повышение относительного и абсолютного количества $CD4^+CD161^+IL-17A^+$ (Т-лимфоцитов-хелперов (Th) типа 17) лимфоцитов в крови (в 2,7 и 3,2 раза соответственно, $p_1 < 0,01$) по сравнению с аналогичными показателями в группе здоровых добровольцев. При этом у пациентов с диссеминированной клинической формой ТЛ содержание Th17-лимфоцитов в крови не отличалось от такого у здоровых доноров, однако оказалось ниже соответствующего параметра у пациентов с инфильтративной формой заболевания ($p_2 < 0,05$) (Таблица 5).

Таблица 5 – Содержание Th17- и Th17/Th1-лимфоцитов в крови у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания,

Me ($Q_1 - Q_3$)

Группы обследованных лиц	$CD4^+CD161^+IL-17A^+$ Th17-лимфоциты	$CD4^+IL-17A^+IFN\gamma^+$ Th17/Th1-лимфоциты
	(в числителе – в %, в знаменателе – в абсолютных числах, $\times 10^9/л$)	
1	2	3
Здоровые доноры	1,34 (1,09–2,81)	1,25 (0,85–1,45)
	0,024 (0,020–0,049)	0,022 (0,015–0,027)

Продолжение таблицы 5

1	2	3
Больные инфильтративным туберкулезом легких	3,60 (2,39–5,57) $p_1=0,004$	2,50 (1,60–2,90) $p_1=0,008$
	0,069 (0,037–0,123) $p_1=0,005$	0,062 (0,044–0,091) $p_1=0,005$
Больные диссеминированным туберкулезом легких	2,13 (1,10–3,10) $p_2=0,017$	1,55 (1,05–2,50)
	0,042 (0,020–0,056) $p_2=0,011$	0,027 (0,018–0,041) $p_2=0,006$

Примечание – p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у здоровых доноров; p_2 – по сравнению с показателями у больных с инфильтративным туберкулезом легких.

Анализ содержания гетерогенной субпопуляции $CD4^+IL-17A^+IFN\gamma^+$ (Th17/Th1) лимфоцитов в крови позволил установить увеличение их количества у пациентов с инфильтративным ТЛ как относительно показателей в группе контроля (более чем в 2 раза, $p<0,01$), так и (в случае абсолютных значений) у пациентов с диссеминированным ТЛ (в 2,3 раза, $p_2=0,006$) (Таблица 5).

3.1.2 Содержание Th17- и Th17/Th1-лимфоцитов в крови у больных инфильтративным и диссеминированным туберкулезом легких в зависимости от чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* к противотуберкулезным средствам

Исследование содержания Th17-лимфоцитов в крови пациентов с ТЛ в зависимости от клинической формы заболевания с учетом чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) к средствам противотуберкулезной терапии позволило установить повышение их относительного и абсолютного

количества у больных инфильтративным лекарственно-чувствительным (ЛЧ) и лекарственно-устойчивым (ЛУ) ТЛ. При этом наиболее выраженное увеличение числа анализируемых клеток отмечалось при лекарственно-резистентном варианте инфекции и превышало соответствующие значения в группе здоровых доноров и пациентов с инфильтративным ЛЧ ТЛ в среднем в 4,7 ($p_1 < 0,001$) и 1,8 ($p_3 < 0,05$) раза (Рисунок 19, Таблица 6).

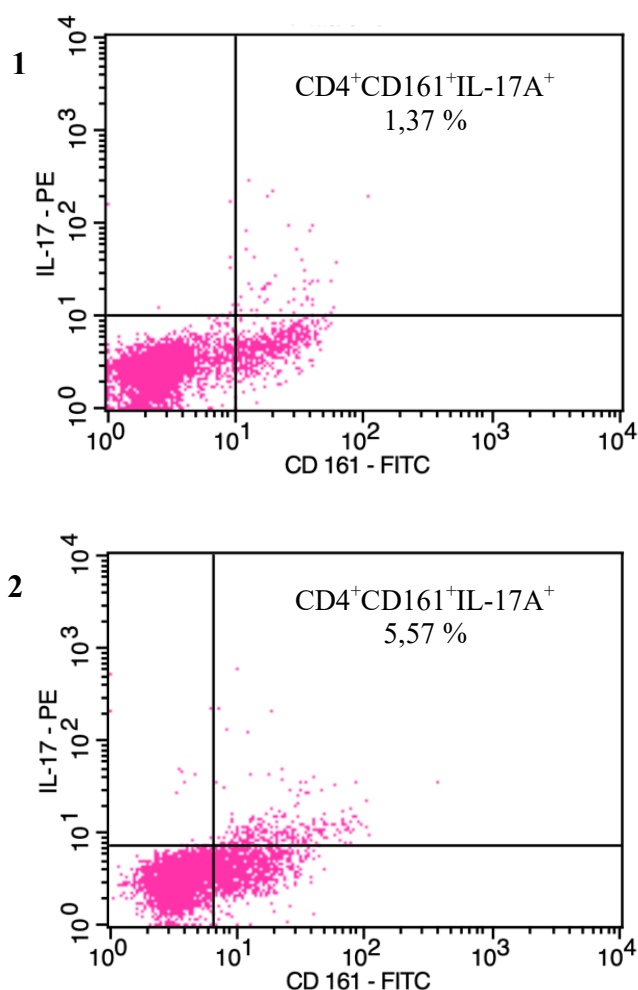


Рисунок 19 – Содержание CD4⁺CD161⁺IL-17A⁺ лимфоцитов (распределение CD161⁺IL-17A⁺ Т-лимфоцитов, имеющих излучение FITC и PE соответственно, в популяции CD4-положительных лимфоцитов крови, флуоресцентная метка PerCP) на примере индивидуальных гистограмм распределения у здорового добровольца (1) и пациента с лекарственно-устойчивой формой инфильтративного туберкулеза легких (2).

Таблица 6 – Содержание Th17- и Th17/Th1-лимфоцитов в крови у больных туберкулезом легких в зависимости от формы заболевания и чувствительности *M. tuberculosis* к противотуберкулезным средствам, Me (Q₁ – Q₃)

Группы обследованных лиц		CD4 ⁺ CD161 ⁺ IL-17A ⁺ Th17-лимфоциты	CD4 ⁺ IL-17A ⁺ IFNγ ⁺ Th17/Th1-лимфоциты
		(в числителе – в %, в знаменателе – в абсолютных числах, ×10 ⁹ /л)	
1		2	3
Здоровые доноры		1,34 (1,09–2,81)	1,25 (0,85–1,45)
		0,024 (0,020–0,049)	0,022 (0,015–0,027)
Больные инфильтративным туберкулезом легких	ЛЧ	3,58 (2,01–4,80) p ₁ =0,016	2,50 (1,50–6,50) p ₁ =0,034
		0,058 (0,036–0,090) p ₁ =0,029	0,069 (0,044–0,101) p ₁ =0,028
	ЛУ	5,71 (2,57–10,28) p ₁ <0,001; p ₃ =0,043	2,65 (1,60–2,90) p ₁ =0,048
		0,123 (0,050–0,410) p ₁ <0,001; p ₃ =0,031	0,058 (0,029–0,084) p ₁ =0,040
Больные диссеминированным туберкулезом легких	ЛЧ	2,80 (1,40–3,10)	1,60 (1,30–2,70)
		0,042 (0,021–0,056)	0,026 (0,019–0,041) p ₂ =0,011
	ЛУ	1,65 (0,90–2,25) p ₂ =0,025	1,50 (0,80–2,30)
		0,039 (0,017–0,051) p ₂ =0,008	0,030 (0,014–0,041)

Примечание – p₁ – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у здоровых доноров; p₂ – по сравнению с показателями у больных с инфильтративным туберкулезом легких; p₃ – по сравнению с показателями у больных с лекарственно-чувствительным туберкулезом легких; ЛЧ – лекарственно-чувствительный; ЛУ – лекарственно-устойчивый.

У пациентов с диссеминированным ТЛ (вне зависимости от лекарственной чувствительности возбудителя) содержание $CD4^+CD161^+IL-17A^+$ лимфоцитов в крови соответствовало норме, но при лекарственно-устойчивом варианте заболевания оказалось ниже такового у пациентов с инфильтративным ЛУ ТЛ (в 3,9 раза, $p_2=0,011$) (Таблица 6).

При исследовании процентного и абсолютного числа Th17/Th1-лимфоцитов у пациентов с инфильтративным ТЛ установлено статистически значимое увеличение количества $CD4^+IL-17A^+IFN\gamma^+$ клеток в крови ($p_1<0,05$) по сравнению с аналогичными показателями у здоровых доноров (Таблица 6, Рисунок 20).

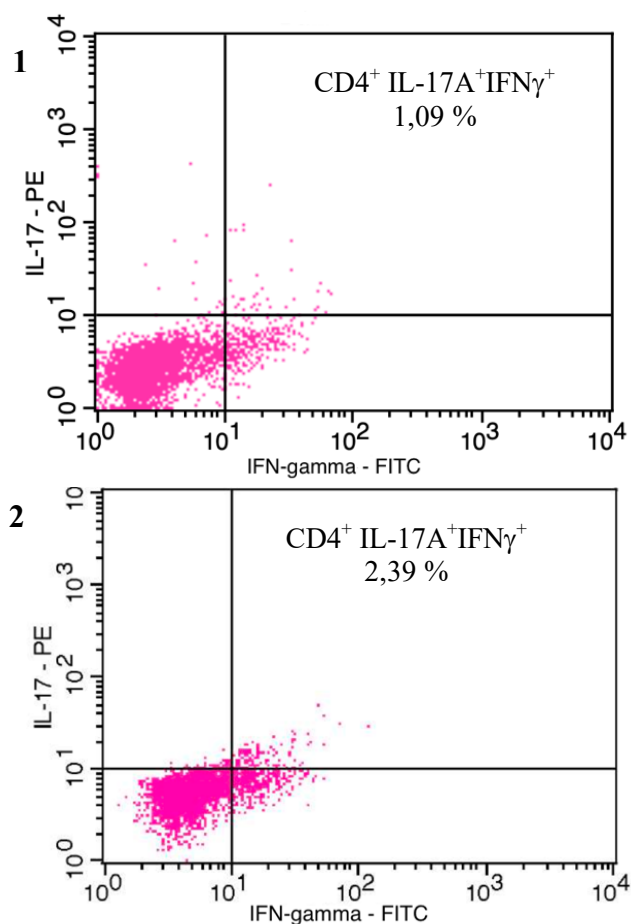


Рисунок 20 – Содержание $CD4^+IL-17A^+IFN\gamma^+$ лимфоцитов (распределение $IL-17A^+IFN\gamma^+$ Т-лимфоцитов, имеющих излучение PE и FITC соответственно, в популяции $CD4$ -положительных лимфоцитов крови, флуоресцентная метка PerCP) на примере индивидуальных гистограмм распределения у здорового добровольца (1) и пациента с лекарственно-чувствительной формой инфильтративного туберкулеза легких (2).

У пациентов с диссеминированным ЛЧ ТЛ и ЛУ ТЛ содержание анализируемых клеток сохранялось в пределах нормы, при этом в случае сохранения лекарственной чувствительности возбудителя абсолютное число Th17/Th1-лимфоцитов было ниже, чем у пациентов с инфильтративным ЛЧ ТЛ (Таблица 6).

3.2 Содержание Treg- и $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в крови у больных туберкулезом легких

3.2.1 Содержание Treg- и $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в крови у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания

Исследование количества $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ (регуляторных Т-лимфоцитов (Treg)) клеток в крови показало, что разгар клинической картины заболевания сопровождается достоверным повышением их относительного числа только у пациентов с диссеминированным ТЛ (в 2,3 раза, $p=0,019$) по сравнению с аналогичным показателем у здоровых доноров (Таблица 7).

Таблица 7 – Содержание Treg- и $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в крови у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания,

Me ($Q_1 - Q_3$)

Группы обследованных лиц	$CD4^+CD25^+FoxP3^+$ Treg-лимфоциты	$\gamma\delta TCR^+$ $\gamma\delta$ T-лимфоциты
	(в числителе – в %, в знаменателе – в абсолютных числах, $\times 10^9/л$)	
1	2	3
Здоровые доноры	2,59 (1,76–3,46)	4,15 (2,70–5,82)
	0,051 (0,034–0,079)	0,068 (0,056–0,110)

Продолжение таблицы 7

1	2	3
Больные инфильтративным туберкулезом легких	4,29 (2,04–7,59) 0,074 (0,030–0,112)	2,91 (1,30–3,94) 0,046 (0,027–0,092) $p_1=0,044$
Больные диссеминированным туберкулезом легких	6,12 (3,14–8,06) $p_1=0,019$ 0,115 (0,048–0,160)	3,50 (2,66–4,80) 0,049 (0,041–0,086)

Примечание – p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у здоровых доноров.

При оценке числа лимфоцитов, экспрессирующих на своей поверхности $\gamma\delta$ T-клеточный рецептор ($\gamma\delta$ T-лимфоцитов), установлено снижение их абсолютного количества у пациентов с инфильтративным ТЛ (в 1,5 раза, $p_1=0,044$). При этом у пациентов с диссеминированным ТЛ число $\gamma\delta$ TCR⁺ клеток не отличалось от значений показателя в группе контроля (Таблица 7).

3.2.2 Содержание Treg- и $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в крови у больных инфильтративным и диссеминированным туберкулезом легких в зависимости от чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* к противотуберкулезным средствам

При исследовании содержания (относительного и абсолютного) Treg-лимфоцитов в крови у пациентов с ТЛ в зависимости от чувствительности *M. tuberculosis* к противотуберкулезным средствам (ПТС) выявлено его увеличение (в среднем в 2,5 раза, $p_1<0,05$) в группе больных с диссеминированным ЛУ ТЛ. У пациентов с диссеминированным ЛЧ ТЛ и инфильтративным ТЛ (в обеих подгруппах) количество анализируемых клеток не отличалось от нормы (Таблица 8).

Таблица 8 – Содержание Treg- и $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в крови у больных туберкулезом легких в зависимости от формы заболевания и чувствительности *M. tuberculosis* к противотуберкулезным средствам, Me (Q₁ – Q₃)

Группы обследованных лиц		CD4 ⁺ CD25 ⁺ FoxP3 ⁺ Treg-лимфоциты	$\gamma\delta$ TCR ⁺ $\gamma\delta$ T-лимфоциты
		(в числителе – в %, в знаменателе – в абсолютных числах, $\times 10^9/\text{л}$)	
Здоровые доноры		2,59 (1,76–3,46) 0,051 (0,034–0,079)	4,15 (2,70–5,82) 0,068 (0,056–0,110)
Больные инфильтративным туберкулезом легких	ЛЧ	3,57 (2,11–7,48) 0,064 (0,030–0,112)	3,14 (2,30–4,18) 0,047 (0,028–0,098) p ₁ =0,044
		4,38 (2,09–7,87) 0,075 (0,021–0,126)	2,25 (1,10–3,94) p ₁ =0,019; p ₃ =0,049 0,040 (0,022–0,083) p ₁ =0,044; p ₃ =0,049
	ЛУ	4,07 (2,14–8,69) 0,066 (0,033–0,160)	3,46 (2,68–4,90) 0,048 (0,037–0,105)
		6,50 (4,20–8,15) p ₁ =0,006 0,124 (0,082–0,159) p ₁ =0,027	3,50 (2,60–4,05) 0,056 (0,047–0,068)

Примечание – p₁ – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у здоровых доноров; p₃ – по сравнению с показателями у больных с лекарственно-чувствительным туберкулезом легких; ЛЧ – лекарственно-чувствительный; ЛУ – лекарственно-устойчивый.

Исследование количества $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в крови позволило установить

снижение данной субпопуляции клеток у пациентов с инфильтративным ЛЧ ТЛ (в случае абсолютных значений) и ЛУ ТЛ. При этом наиболее выраженное снижение количества циркулирующих $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в крови регистрировалось при лекарственно-резистентном варианте заболевания – оно оказалось ниже соответствующих значений у здоровых доноров и пациентов с чувствительным вариантом инфекции в среднем в 1,8 раза ($p_1 < 0,05$) и 1,3 раза ($p_3 < 0,05$) соответственно (Таблица 8).

3.3 Секреция цитокинов *in vitro* у больных туберкулезом легких

3.3.1 Секреция IL-1 β , IL-2, IL-6, TGF β мононуклеарными лейкоцитами крови *in vitro* у больных туберкулезом легких

3.3.1.1 Секреция IL-1 β , IL-2, IL-6, TGF β мононуклеарными лейкоцитами крови *in vitro* у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания

При исследовании секреции цитокинов, определяющих дифференцировку Th0-лимфоцитов по пути Th17, установлено статистически значимое увеличение базальной секреции интерлейкина (IL) 6 мононуклеарными лейкоцитами *in vitro* у пациентов с инфильтративным ТЛ в 1,3 раза ($p_1 = 0,030$) по сравнению с показателем у здоровых доноров. У пациентов с диссеминированной формой заболевания концентрация IL-6 в супернатантах культуральных суспензий мононуклеарных лейкоцитов *in vitro* не отличалась от таковой в группе контроля, но оказалась ниже ($p_2 = 0,007$) соответствующего показателя у больных с инфильтративным ТЛ (Таблица 9).

Секреция (базальная и индуцированная антигеном – вакцинным штаммом *Bacillus Calmette–Guérin* (BCG)) IL-1 β мононуклеарными лейкоцитами крови *in*

vitro у больных ТЛ независимо от клинической формы не отличалась от соответствующего показателя в группе здоровых добровольцев (Таблица 9).

Таблица 9 – Концентрация IL-1 β , IL-2, IL-6 и TGF β в супернатантах клеточных культур мононуклеарных лейкоцитов крови у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания,
Me (Q₁ – Q₃)

Группы обследованных лиц	Концентрация цитокинов, пг/мл	
	IL-1 β	
	Базальная секреция	BCG-индуцированная секреция
1	2	3
Здоровые доноры	319,10 (301,40–343,50)	337,50 (315,80–368,30)
Больные инфильтративным туберкулезом легких	349,30 (331,10–371,50)	341,65 (322,60–361,35)
Больные диссеминированным туберкулезом легких	331,10 (311,30–376,60)	339,20 (315,10–353,70)
IL-2		
Здоровые доноры	Базальная секреция	BCG-индуцированная секреция
	25,28 (14,67–31,65)	115,20 (24,35–151,70) p ₄ =0,038
Больные инфильтративным туберкулезом легких	15,08 (10,81–24,84) p ₁ =0,016	20,46 (12,86–29,43) p ₁ =0,004
Больные диссеминированным туберкулезом легких	13,56 (8,89–21,75) p ₁ =0,015	15,60 (9,91–20,09) p ₁ =0,005

Продолжение таблицы 9

1	2	3
IL-6		
Здоровые доноры	Базальная секреция	BCG-индуцированная секреция
	215,50 (139,50–278,30)	219,10 (145,70–274,40)
Больные инфильтративным туберкулезом легких	292,50 (271,10–295,30) $p_1=0,030$	269,30 (254,80–284,40)
Больные диссеминированным туберкулезом легких	265,70 (222,30–317,30) $p_2=0,007$	281,90 (226,80–381,60)
TGF β		
Здоровые доноры	Базальная секреция	BCG-индуцированная секреция
	929,10 (739,20–1398,30)	1058,20 (757,30–1407,50)
Больные инфильтративным туберкулезом легких	900,25 (515,20–1057,50)	935,15 (493,30–1304,25)
Больные диссеминированным туберкулезом легких	1478,17 (989,57–1907,13) $p_1=0,037$; $p_2=0,001$	939,25 (713,15–1798,45) $p_4=0,044$

Примечание – p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у здоровых доноров; p_2 – по сравнению с показателями у больных с инфильтративным туберкулезом легких; p_4 – по сравнению с показателем базальной секрецией цитокина.

В результате исследования базальной секреции трансформирующего фактора роста (TGF) β мононуклеарными лейкоцитами крови у пациентов с диссеминированным ТЛ установлено ее увеличение как относительно

показателей в группе контроля, так и в группе пациентов с инфильтративным ТЛ (в 1,5 раза ($p_1=0,048$) и 1,6 раза ($p_2=0,001$) соответственно) (Таблица 9).

В результате исследования секреции цитокинов, определяющих развитие Treg-лимфоцитов, у пациентов с ТЛ (вне зависимости от клинической формы заболевания) установлено снижение (в среднем в 1,6 раза, $p_1<0,05$) секреции IL-2 мононуклеарными лейкоцитами *in vitro*. Внесение в культуры клеток вакцинного штамма BCG сопровождалось повышением (относительно базального уровня) секреции цитокина лишь в группе здоровых добровольцев. Концентрация TGF β в супернатантах культуральных суспензий мононуклеарных лейкоцитов *in vitro*, как указывалось ранее, оказалась повышенной у пациентов с диссеминированной формой заболевания. Необходимо отметить, что у данной группы больных индукция мононуклеарных лейкоцитов крови вакцинным штаммом BCG сопровождалась снижением ($p_4=0,046$) секреции цитокина по сравнению с базальным ее уровнем (Таблица 9).

3.3.1.2 Секреция IL-1 β , IL-2, IL-6, TGF β мононуклеарными лейкоцитами крови *in vitro* у больных инфильтративным и диссеминированным туберкулезом легких в зависимости от чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* к противотуберкулезным средствам

В результате настоящего исследования у пациентов с лекарственно-чувствительным и лекарственно-резистентным вариантами инфильтративного ТЛ выявлено увеличение базальной и BCG-индуцированной (за исключением больных с ЛУ ТЛ) секреции IL-6 мононуклеарными лейкоцитами крови в среднем в 1,3 раза ($p_1<0,05$) относительно показателей в группе контроля. У пациентов с инфильтративным ТЛ, выделяющих лекарственно-резистентные штаммы *M. tuberculosis*, BCG-индуцированная секреция цитокина не отличалась

от аналогичного показателя у здоровых добровольцев, однако оказалась ниже соответствующего значения у больных с ЛЧ вариантом инфекции ($p_3=0,049$) (Таблица 10).

Анализ базальной и BCG-индуцированной секреции IL-1 β *in vitro* у больных ТЛ (независимо от клинической формы заболевания и варианта чувствительности возбудителя к средствам этиотропной терапии) не выявил достоверных отличий от показателей в группе контроля (Таблица 10).

Таблица 10 – Концентрация IL-1 β , IL-2, IL-6 и TGF β в супернатантах клеточных культур мононуклеарных лейкоцитов крови у больных туберкулезом легких в зависимости от формы заболевания и чувствительности *M. tuberculosis* к противотуберкулезным средствам,
Me (Q₁ – Q₃)

Группы обследованных лиц		Концентрация цитокинов, пг/мл	
		IL-1 β	
		Базальная секреция	BCG-индуцированная секреция
1		2	3
Здоровые доноры		319,10 (301,40–343,50)	337,50 (315,80–368,30)
Больные инфильтративным туберкулезом легких	ЛЧ	337,80 (325,20–374,60)	339,20 (326,50–363,80)
	ЛУ	335,70 (321,10–379,50)	341,40 (327,30–351,40)
Больные диссеминированным туберкулезом легких	ЛЧ	321,10 (313,70–378,30)	319,20 (307,20–338,40)
	ЛУ	327,20 (314,60–357,80)	329,10 (319,40–359,20)

Продолжение таблицы 10

1		2	3
II-2			
Здоровые доноры		Базальная секреция	BCG- индуцированная секреция
		25,28 (14,67–31,65)	115,20 (24,35–151,70) $p_4=0,038$
Больные инфильтративным туберкулезом легких	ЛЧ	12,90 (10,81–28,09) $p_1=0,034$	23,30 (13,54–28,54) $p_1=0,022$
	ЛУ	17,04 (10,56–23,01) $p_1=0,046$	16,89 (10,96–30,50) $p_1=0,008$
Больные диссеминированным туберкулезом легких	ЛЧ	17,31 (6,74–27,58) $p_1=0,048$	19,26 (9,91–35,09) $p_1=0,016$
	ЛУ	12,54 (9,91–14,26) $p_1=0,012$	13,82 (9,91–15,90) $p_1=0,009$
II-6			
Здоровые доноры		Базальная секреция	BCG- индуцированная секреция
		215,50 (139,50–278,30)	219,10 (145,70–274,40)
Больные инфильтративным туберкулезом легких	ЛЧ	291,40 (269,20–328,80) $p_1=0,026$	281,30 (271,50–293,70) $p_1=0,041$
	ЛУ	271,35 (252,20–289,50) $p_1=0,019$	256,90 (224,65–271,70) $p_3=0,049$
Больные диссеминированным туберкулезом легких	ЛЧ	259,78 (228,44–278,12)	263,30 (226,15–301,25)
	ЛУ	265,70 (203,70–321,80)	289,50 (118,60–319,40)

Продолжение таблицы 10

1		2	3
TGFβ			
Здоровые доноры		Базальная секреция	BCG- индуцированная секреция
		929,10 (739,20–1398,30)	1058,20 (757,30–1407,50)
Больные инфильтративным туберкулезом легких	ЛЧ	1037,12 (715,42–1257,74)	1123,70 (951,30–1251,90)
	ЛУ	739,40 (337,20–953,60) $p_1=0,042$; $p_3=0,041$	658,10 (235,20–819,40) $p_1=0,044$; $p_3=0,029$
Больные диссеминированным туберкулезом легких	ЛЧ	1189,17 (917,23–1421,37)	792,30 (603,20–1019,50) $p_2=0,033$; $p_4=0,011$
	ЛУ	1759,30 (1091,10–2529,50) $p_1=0,012$; $p_2<0,001$	1903,30 (917,31–2673,82) $p_2=0,011$; $p_3=0,021$

Примечание – p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у здоровых доноров; p_2 – по сравнению с показателями у больных с инфильтративным туберкулезом легких; p_3 – по сравнению с показателями у больных с лекарственно-чувствительным туберкулезом легких; p_4 – по сравнению с базальной секрецией; ЛЧ – лекарственно-чувствительный; ЛУ – лекарственно-устойчивый.

В результате исследования секреции TGFβ мононуклеарными лейкоцитами крови *in vitro* были зарегистрированы разнонаправленные ее изменения у пациентов с ТЛ. Так, при инфильтративном ЛУ ТЛ базальная и BCG-индуцированная секреция TGFβ оказалась ниже соответствующих значений у здоровых доноров и пациентов с инфильтративным ЛЧ ТЛ. В то же время при диссеминированном ЛУ ТЛ, напротив, отмечалось увеличение

базальной (по сравнению с показателями у здоровых доноров и пациентов с инфильтративным ЛУ ТЛ) и BCG-индуцированной (по сравнению со значениями у пациентов с инфильтративным ЛУ ТЛ и диссеминированным ЛЧ ТЛ) секреции цитокина. У пациентов с диссеминированным ЛЧ ТЛ BCG-индуцированная секреция $TGF\beta$ оказалась ниже базального уровня секреции цитокина, а также соответствующего значения у пациентов с инфильтративной лекарственно-чувствительной формой заболевания (Таблица 10).

При исследовании концентрации IL-2 в супернатантах культуральных суспензий моноклеарных лейкоцитов у пациентов с ТЛ установлено снижение базальной и антиген-индуцированной секреции цитокина. Внесение в пробы вакцинного штамма BCG сопровождалось повышением секреции IL-2 (относительно базального значения) лишь в группе здоровых добровольцев (Таблица 10).

Для установления взаимосвязи показателей секреции цитокинов, активирующих дифференцировку и функции Th17- и Treg-лимфоцитов с их количеством был проведен корреляционный анализ. В результате данного анализа выявлена положительная взаимосвязь между содержанием (относительным и абсолютным) $CD4^+CD161^+IL-17A^+$ лимфоцитов в крови и концентрацией IL-6 в супернатантах культуральных суспензий моноклеарных лейкоцитов ($r=0,88$; $p<0,05$ и $r=0,96$; $p<0,05$). В то же время установлена положительная взаимосвязь между относительным количеством $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ лимфоцитов в крови и показателем базальной секреции $TGF\beta$ ($r=0,76$; $p<0,05$).

3.3.2 Секреция IL-17A, IL-22 и $IFN\gamma$ моноклеарными лейкоцитами крови *in vitro* у больных туберкулезом легких

3.3.2.1 Секреция IL-17A, IL-22 и $IFN\gamma$ моноклеарными лейкоцитами крови *in vitro* у больных туберкулезом легких в зависимости от

клинической формы заболевания

При исследовании концентрации цитокинов, определяющих функциональную активность Th17-лимфоцитов, установлено, что течение туберкулезной инфекции сопровождается увеличением секреции IL-17A и IL-22 *in vitro*. Так, у пациентов с инфильтративным и диссеминированным ТЛ отмечалось повышение базальной секреции IL-17A (в 1,3 ($p_1=0,008$) и 3,1 ($p_1<0,001$) раза соответственно) по сравнению со значением в группе здоровых доноров. Обращало на себя внимание, что наиболее выраженное увеличение базальной и BCG-индуцированной секреции цитокина регистрировалось у пациентов с диссеминированной формой заболевания, которая при этом превышала аналогичные показатели как в группе контроля, так и в группе пациентов с инфильтративным ТЛ (Таблица 11).

При исследовании концентрации IL-22 в супернатантах культуральных суспензий мононуклеарных лейкоцитов установлено статистически значимое ее повышение у пациентов с ТЛ независимо от клинической формы заболевания в среднем в 2,1 раза ($p_1<0,05$) (Таблица 11).

Индукция клеток вакцинным штаммом BCG сопровождалась повышением секреции IL-17A и IL-22 *in vitro* лишь в группе здоровых доноров (Таблица 11).

Анализ IFN γ -секреторной активности мононуклеарных лейкоцитов позволил установить значительное повышение базальной (в 4,3 и 4,7 раза, $p_1<0,001$) и антиген-индуцированной (в 2,9 и 2,4 раза, $p_1<0,001$) секреции цитокина при обеих клинических формах ТЛ. При этом у пациентов с диссеминированным ТЛ BCG-индуцированная секреция IFN γ оказалась ниже ($p_2=0,015$) таковой при инфильтративной форме заболевания. Внесение в пробы вакцинного штамма BCG сопровождалось повышением секреции (относительно базального уровня) исследуемого цитокина в группах здоровых доноров и пациентов с инфильтративным ТЛ (Таблица 11).

Таблица 11 – Концентрация IL-17A, IL-22 и IFN γ в супернатантах клеточных культур мононуклеарных лейкоцитов крови у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания,
Me (Q₁ – Q₃)

Группы обследованных лиц	Концентрация цитокинов, пг/мл	
	IL-17A	
	Базальная секреция	BCG-индуцированная секреция
1	2	3
Здоровые доноры	21,11 (17,74–24,85)	28,12 (26,14–32,19) p ₄ =0,015
Больные инфильтративным туберкулезом легких	27,28 (23,72–37,95) p ₁ =0,008	33,63 (25,97–35,32)
Больные диссеминированным туберкулезом легких	63,98 (49,16–201,13) p ₁ <0,001; p ₂ <0,001	71,63 (51,43–278,57) p ₁ <0,001; p ₂ <0,001
IL-22		
Здоровые доноры	Базальная секреция	BCG-индуцированная секреция
	21,04 (10,71–30,29)	62,16 (50,75–82,89) p ₄ =0,003
Больные инфильтративным туберкулезом легких	44,32 (27,83–57,16) p ₁ =0,007	51,35 (30,54–95,88)
Больные диссеминированным туберкулезом легких	42,87 (34,78–55,38) p ₁ =0,003	50,43 (21,15–66,87)
IFN γ		
Здоровые доноры	Базальная секреция	BCG-индуцированная секреция
	30,20 (26,75–37,18)	60,86 (51,14–68,37) p ₄ <0,001

Продолжение таблицы 11

1	2	3
Больные инфильтративным туберкулезом легких	129,68 (95,40–163,27) $p_1 < 0,001$	180,45 (137,20–203,30) $p_1 < 0,001$; $p_4 = 0,003$
Больные диссеминированным туберкулезом легких	142,78 (100,05–156,22) $p_1 < 0,001$	146,60 (98,76–165,12) $p_1 < 0,001$; $p_2 = 0,015$

Примечание – p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у здоровых доноров; p_2 – по сравнению с показателями у больных с инфильтративным туберкулезом легких; p_4 – по сравнению с базальной секрецией.

3.3.2.2 Секреция IL-17A, IL-22 и IFN γ мононуклеарными лейкоцитами крови *in vitro* у больных инфильтративным и диссеминированным туберкулезом легких в зависимости от чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* к противотуберкулезным средствам

В результате оценки секреции Th17-ассоциированных цитокинов с учетом чувствительности возбудителя заболевания к ПТС во всех группах исследования установлено повышение концентрации IL-17A и IL-22 в культуре мононуклеарных лейкоцитов крови по сравнению с аналогичными показателями в группе здоровых добровольцев. При этом наиболее значительное увеличение базальной секреции IL-17A *in vitro* отмечалось у пациентов с диссеминированным ЛУ ТЛ – оно превышало значения как у здоровых лиц (в 9,9 раза, $p_1 < 0,001$), так и пациентов с инфильтративным ЛУ ТЛ (в 7,8 раза, $p_2 = 0,001$) (Таблица 12).

Внесение в культуры клеток вакцинного штамма BCG сопровождалось

увеличением концентрации IL-17A и IL-22 только в группе контроля. Вместе с тем, у пациентов с диссеминированным ТЛ BCG-стимулированная секреция IL-17A оказалась выше таковой у здоровых лиц, а в случае лекарственно-устойчивого варианта инфекции превышала аналогичные значения при лекарственно-чувствительном диссеминированном и лекарственно-устойчивом инфильтративном ТЛ (Таблица 12).

Таблица 12 – Концентрация IL-17A, IL-22 и IFN γ в супернатантах клеточных культур мононуклеарных лейкоцитов крови у больных туберкулезом легких в зависимости от формы заболевания и чувствительности *M. tuberculosis* к противотуберкулезным средствам,
Me (Q₁ – Q₃)

Группы обследованных лиц		Концентрация цитокинов, пг/мл	
		IL-17A	
		Базальная секреция	BCG-индуцированная секреция
1		2	3
Здоровые доноры		21,11 (17,74–24,85)	28,12 (26,14–32,19) p ₄ =0,015
Больные инфильтративным туберкулезом легких	ЛЧ	35,89 (25,22–49,58) p ₁ =0,013	34,57 (26,71–37,57)
	ЛУ	29,92 (23,64–32,33) p ₁ =0,043	31,98 (24,86–37,93)
Больные диссеминированным туберкулезом легких	ЛЧ	61,32 (42,39–98,64) p ₁ <0,001	59,09 (39,54–73,83) p ₁ =0,007
	ЛУ	201,03 (51,07–315,54) p ₁ <0,001; p ₂ =0,001	281,54 (81,02–334,56) p ₁ <0,001; p ₂ =0,001 p ₃ =0,004

Продолжение таблицы 12

1		2	3
IL-22			
Здоровые доноры		Базальная секреция	BCG- индуцированная секреция
		21,04 (10,71–30,29)	62,16 (50,75–82,89) $p_4=0,003$
Больные инфильтративным туберкулезом легких	ЛЧ	44,32 (21,71–55,78) $p_1=0,049$	52,40 (34,78–97,24)
	ЛУ	55,36 (33,87–71,00) $p_1=0,021$	54,67 (31,04–73,03)
Больные диссеминированным туберкулезом легких	ЛЧ	43,33 (32,39–51,75) $p_1=0,021$	35,79 (17,42–53,25) $p_1=0,012$
	ЛУ	41,53 (30,21–61,74) $p_1=0,008$	59,87 (51,02–142,2)
IFN γ			
Здоровые доноры		Базальная секреция	BCG- индуцированная секреция
		30,20 (26,75–37,18)	60,86 (51,14–68,37) $p_4<0,001$
Больные инфильтративным туберкулезом легких	ЛЧ	122,10 (75,82–160,03) $p_1<0,001$	192,80 (163,95–245,75) $p_1<0,001$; $p_4=0,008$
	ЛУ	120,86 (98,17–147,30) $p_1<0,001$	156,91 (142,40–203,30) $p_1<0,001$; $p_4=0,035$

Продолжение таблицы 12

1		2	3
Больные диссеминированным туберкулезом легких	ЛЧ	129,69 (98,22–148,53) $p_1 < 0,001$	134,82 (96,11–164,59) $p_1 = 0,004; p_2 = 0,015$
	ЛУ	145,60 (111,13–163,20) $p_1 < 0,001$	147,18 (111,43–195,12) $p_1 < 0,001$

Примечание – p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у здоровых доноров; p_2 – по сравнению с показателями у больных с инфильтративным туберкулезом легких; p_3 – по сравнению с показателями у больных с лекарственно-чувствительным туберкулезом легких; p_4 – по сравнению с базальной секрецией; ЛЧ – лекарственно-чувствительный; ЛУ – лекарственно-устойчивый.

При исследовании базальной секреции IFN γ мононуклеарными лейкоцитами крови у пациентов с ТЛ отмечалось выраженное ее повышение в среднем в 4,3 раза ($p_1 < 0,001$) относительно соответствующего показателя у здоровых добровольцев. После инкубации клеток с вакцинным штаммом BCG повышение секреции IFN γ отмечалось у здоровых доноров и пациентов с инфильтративным ЛЧ ТЛ и ЛУ ТЛ (как относительно базальных значений ($p_4 < 0,05$), так и показателя контрольной группы ($p_1 < 0,001$)). При диссеминированном ТЛ BCG-индуцированная секреция цитокина не превышала базальных значений, но была выше значений показателя у здоровых доноров ($p_1 < 0,01$), а в случае лекарственно-чувствительного варианта заболевания оказалась ниже, чем у пациентов с инфильтративным ЛЧ ТЛ ($p_2 = 0,015$) (Таблица 12).

Для определения взаимосвязи между количеством Th17-, Th17/Th1- и $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в крови и показателями секреции цитокинов, определяющих их функциональную активность, был проведен корреляционный анализ, в результате которого выявлено наличие положительной взаимосвязи между

относительным содержанием Th17-лимфоцитов и базальной секрецией IL-17A ($r=0,73$, $p<0,05$), относительным и абсолютным содержанием Th17-лимфоцитов и базальной секрецией IL-22 ($r=0,84$, $p<0,05$; $r=0,57$, $p<0,05$ соответственно); относительным и абсолютным количеством Th17/Th1-лимфоцитов и базальной секрецией IFN γ ($r=0,84$, $p<0,05$; $r=0,94$, $p<0,05$ соответственно); относительным и абсолютным количеством $\gamma\delta$ T-клеток и базальной секрецией IFN γ ($r=0,84$, $p<0,05$; $r=0,61$, $p<0,05$ соответственно) и базальной секрецией IL-17A ($r=0,70$, $p<0,05$; $r=0,55$, $p<0,05$ соответственно).

3.3.3 Секреция IL-23 дендритными клетками *in vitro* у больных туберкулезом легких

Исследование секреции IL-23 дендритными клетками *in vitro* позволило установить, что разгар клинической картины заболевания сопровождался значительным ее снижением у пациентов с диссеминированным ТЛ как относительно показателей у здоровых добровольцев (в 3,7 раза, $p_1=0,016$), так и у больных с инфильтративной формой заболевания (в 3,4 раза, $p_2<0,001$) (Таблица 13).

Анализ IL23-секреторной активности дендритных клеток с учетом чувствительности *M. tuberculosis* к лекарственным средствам этиотропной терапии позволил установить, что у пациентов с лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым вариантами диссеминированного ТЛ отмечалось снижение концентрации IL-23 в супернатантах культуральных суспензий дендритных клеток по сравнению с соответствующими параметрами в контрольной группе (в 3,9 раза ($p_1=0,018$) и 2,7 раза ($p_1=0,049$) соответственно) и пациентов с инфильтративной формой ЛЧ (в 3,3 раза, $p_2=0,005$) и ЛУ (в 2,5 раза, $p_2=0,047$) ТЛ (Таблица 13).

Таблица 13 – Концентрация IL-23 в супернатантах культуры дендритных клеток у больных туберкулезом легких в зависимости от формы заболевания и лекарственной чувствительности *M. tuberculosis* к противотуберкулезным средствам, Ме (Q₁ – Q₃)

Группы обследованных лиц		Концентрация IL-23, пг/мл
Здоровые доноры		1246,55 (435,90–1756,00)
В зависимости от клинической формы заболевания		
Больные инфильтративным туберкулезом легких		1147,50 (700,65–1873,10)
Больные диссеминированным туберкулезом легких		334,40 (249,55–497,15) $p_1=0,016$; $p_2<0,001$
В зависимости от лекарственной чувствительности <i>M. tuberculosis</i>		
Больные инфильтративным туберкулезом легких	ЛЧ	1061,50 (700,65–1770,50)
	ЛУ	1147,50 (725,70–1949,50)
Больные диссеминированным туберкулезом легких	ЛЧ	323,20 (273,10–337,40) $p_1=0,018$; $p_2=0,005$
	ЛУ	466,20 (189,60–573,00) $p_1=0,049$; $p_2=0,047$

Примечание – p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у здоровых доноров; p_2 – по сравнению с показателями у больных с инфильтративным туберкулезом легких; ЛЧ – лекарственно-чувствительный; ЛУ – лекарственно-устойчивый.

Для установления взаимосвязи между показателями секреции цитокинов, определяющих дифференцировку и функции Th17-лимфоцитов, был проведен корреляционный анализ, в результате которого установлена положительная взаимосвязь между базальной секрецией IL-6 моноуклеарными лейкоцитами и продукцией IL-23 дендритными клетками ($r=0,90$; $p<0,05$) у пациентов с инфильтративным ТЛ.

3.4 Экспрессия генов транскрипционных факторов RORC2 и FoxP3 в лимфоцитах у больных туберкулезом легких

3.4.1 Экспрессия генов транскрипционных факторов RORC2 и FoxP3 в лимфоцитах у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания

В результате исследования экспрессии гена транскрипционного фактора RORC2, определяющего развитие Th17-лимфоцитов, установлено ее повышение у пациентов с инфильтративным ТЛ в 4,6 раза ($p_1=0,008$) по сравнению с группой здоровых доноров. У пациентов с диссеминированным ТЛ уровень мРНК RORC2 в лимфоцитах не отличался от такового в группе контроля (Таблица 14).

Таблица 14 – Уровень мРНК генов транскрипционных факторов RORC2 и FoxP3 в лимфоцитах у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания, Me ($Q_1 - Q_3$)

Группы обследованных лиц	Уровень мРНК, отн. ед.	
	Ген <i>RORC2</i>	Ген <i>FOXP3</i>
1	2	3

Продолжение таблицы 14

1	2	3
Здоровые доноры	1,07 (0,08–4,92)	0,71 (0,01–8,57)
Больные инфильтративным туберкулезом легких	4,92 (3,03–7,46) $p_1=0,008$	1,87 (0,44–4,92)
Больные диссеминированным туберкулезом легких	0,73 (0,09–2,46)	1,63 (0,18–13,93)

Примечание – p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у здоровых доноров.

Исследование экспрессии гена транскрипционного фактора FoxP3, ответственного за дифференцировку Treg-лимфоцитов, не выявило статистически достоверных отличий у пациентов с инфильтративной и диссеминированной формами ТЛ в сравнении со здоровыми донорами (Таблица 14).

3.4.2 Экспрессия генов транскрипционных факторов RORC2 и FoxP3 в лимфоцитах у больных инфильтративным и диссеминированным туберкулезом легких в зависимости от чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* к противотуберкулезным средствам

Анализ экспрессии генов транскрипционных факторов Th17- и Treg-лимфоцитов у пациентов с ТЛ в зависимости от клинической формы заболевания с учетом лекарственной чувствительности возбудителя позволил установить, что течение инфильтративного лекарственно-чувствительного и лекарственно-

устойчивого ТЛ сопровождается достоверным увеличением уровня мРНК RORC2 в лимфоцитах в 3,5 ($p_1=0,048$) и 5,3 ($p_1=0,049$) раза соответственно по сравнению с группой здоровых доноров. При этом у пациентов с инфильтративным ТЛ в случае лекарственной устойчивости *M. tuberculosis* регистрировалось наиболее выраженное увеличение исследуемого показателя (Таблица 15).

Таблица 15 – Уровень мРНК генов транскрипционных факторов RORC2 и FoxP3 в лимфоцитах у больных туберкулезом легких в зависимости от формы заболевания и лекарственной чувствительности *M. tuberculosis*,
Me ($Q_1 - Q_3$)

Группы обследованных лиц		Уровень мРНК, отн. ед.	
		Ген <i>RORC2</i>	Ген <i>FOXP3</i>
Здоровые доноры		1,07 (0,08–4,92)	0,71 (0,01–8,57)
Больные инфильтративным туберкулезом легких	ЛЧ	3,73 (3,48–5,46) $p_1=0,048$	1,52 (0,38–3,15)
	ЛУ	5,67 (2,02–8,02) $p_1=0,049$	3,44 (0,49–5,10)
Больные диссеминированным туберкулезом легких	ЛЧ	0,79 (0,06–3,14) $p_2=0,014$	1,45 (0,14–15,61)
	ЛУ	0,72 (0,09–1,15) $p_2=0,015$	4,24 (0,18–13,93) $p_1=0,045$

Примечание – p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у здоровых доноров; p_2 – по сравнению с показателями у больных с инфильтративным туберкулезом легких; ЛЧ – лекарственно-чувствительный; ЛУ – лекарственно-устойчивый.

У пациентов с диссеминированным ТЛ (независимо от чувствительности возбудителя к ПТС) экспрессия гена транскрипционного фактора RORC2 не отличалась от таковой в группе контроля, однако оказалась ниже показателей у пациентов с инфильтративной формой заболевания (Таблица 15).

Примечательно, что при исследовании экспрессии гена транскрипционного фактора FoxP3 в лимфоцитах статистически достоверное ее повышение установлено только у пациентов с лекарственно-устойчивым вариантом диссеминированного ТЛ в 5,9 раза ($p=0,045$) в сравнении со значением показателя у здоровых доноров (Таблица 15).

Для установления взаимосвязи показателей, характеризующих количество Th17- и Treg-лимфоцитов в крови, экспрессию генов транскрипционных факторов этих клеток и секреции цитокинов, активирующих их дифференцировку, был проведен корреляционный анализ. В результате данного анализа выявлена положительная взаимосвязь между уровнем мРНК гена транскрипционного фактора RORC2 в лимфоцитах и содержанием (относительным и абсолютным) Th17-лимфоцитов в крови ($r=0,77$; $p<0,05$ и $r=0,81$; $p<0,05$ соответственно), а также показателем базальной секреции IL-6 *in vitro* ($r=0,62$; $p<0,05$) у пациентов с инфильтративным ТЛ. Кроме того, установлена положительная взаимосвязь между экспрессией гена *FOXP3* в лимфоцитах и количеством (относительным и абсолютным) Treg-лимфоцитов в крови ($r=0,88$; $p<0,05$ и $r=0,71$; $p<0,05$ соответственно), а также показателем базальной секреции TGF β *in vitro* ($r=0,86$; $p<0,05$) у пациентов с диссеминированным лекарственно-устойчивым ТЛ. Вместе с тем выявлена отрицательная взаимосвязь между показателями базальной секреции IL-6 *in vitro*, секрецией IL-23 дендритными клетками и уровнем мРНК гена фактора транскрипции FoxP3 в лимфоцитах ($r=-0,84$; $p<0,05$ и $r=-0,88$; $p<0,05$ соответственно) у пациентов с инфильтративным ТЛ.

3.5 Многомерный факторный анализ показателей субпопуляционного состава малых Т-лимфоцитов, внеклеточных и внутриклеточных факторов их дифференцировки у больных туберкулезом легких

С целью выявления совокупности показателей, участвующих в формировании единого фактора, определяющего причинно-следственные взаимосвязи, оказывающие влияние на поляризацию иммунного ответа, у пациентов с ТЛ проведен многомерный факторный анализ. Данный анализ позволил сгруппировать исследуемые количественные показатели, чья взаимная корреляция обуславливает наибольшую долю общей дисперсии, и извлечь фактор (методом главных компонент), оказывающий влияние в формирование признака (поляризацию иммунного ответа).

Многомерный факторный анализ выполнен для четырех групп исследования – пациентов с инфильтративным лекарственно-чувствительным, инфильтративным лекарственно-устойчивым, диссеминированным лекарственно-чувствительным и диссеминированным лекарственно-устойчивым ТЛ. В каждой группе исследования выявлены несколько показателей, обладающих высокими факторными нагрузками (показатели с факторной нагрузкой более 0,7), которые были объединены в два фактора, влияющих на поляризацию иммунного ответа у пациентов с ТЛ.

Для пациентов с инфильтративным лекарственно-чувствительным ТЛ первым фактором (обуславливающим 24,3% дисперсии матрицы показателей, которые подвергались анализу) оказался фактор, сочетающий в себе содержание (абсолютное и относительное) Th17-лимфоцитов, концентрацию IL-1 β и IL-6, уровень мРНК гена *RORC2* (Таблица 16). Второй фактор (обуславливает 18,5% дисперсии матрицы) включает показатели числа $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов (относительного) и концентрации IL-17A (Таблица 16).

Таблица 16 – Факторный анализ показателей в выборке больных инфильтративным лекарственно-чувствительным туберкулезом легких

Показатель	Фактор 1	Фактор 2
Th17-лимфоциты, %	0,786801	0,20143
Th17-лимфоциты, абс.	0,764836	-0,232789
Th17/Th1-лимфоциты, %	0,414592	0,693894
Th17/Th1-лимфоциты, абс.	0,423996	0,579164
Treg-клетки, %	-0,241728	0,59725
Treg-клетки, абс.	0,352816	0,089608
$\gamma\delta$ T-лимфоциты, %	0,282674	-0,718464
$\gamma\delta$ T-лимфоциты, абс.	0,249576	-0,689427
TGF β	0,170103	-0,183233
IL-1 β	-0,786758	-0,205272
IL-2	0,384553	-0,390078
IL-6	0,823106	-0,165095
IL-17A	0,196403	0,708996
IL-22	-0,009615	0,37845
IL-23	-0,668264	0,234134
IFN γ	0,537272	0,461143
RORC2	0,863182	0,179072
FoxP3	-0,677146	-0,005145
Дисперсия, обусловленная фактором, %	24,3	18,5

Для пациентов с инфильтративным лекарственно-устойчивым ТЛ первым наиболее значимым фактором (доля дисперсии матрицы, обусловленная фактором – 36,9%) стал фактор, сочетающий в себе содержание Th17/Th1-лимфоцитов (абсолютное и относительное) и концентрацию IL-1 β , IFN γ (Таблица 17). Второй фактор (обуславливает 17,9% дисперсии матрицы)

представлен показателями содержания Th17-лимфоцитов (абсолютного и относительного), концентрации IL-2 и IL-17A, уровнем мРНК гена *RORC2* (Таблица 17).

Таблица 17 – Факторный анализ показателей в выборке больных инфильтративным лекарственно-устойчивым туберкулезом легких

Показатель	Фактор 1	Фактор 2
Th17-лимфоциты, %	0,493136	0,80728
Th17-лимфоциты, абс.	0,280362	0,875839
Th17/Th1-лимфоциты, %	0,757147	0,179445
Th17/Th1-лимфоциты, абс.	0,844472	0,269339
Treg-клетки, %	0,089008	-0,343475
Treg-клетки, абс.	0,12229	-0,120321
$\gamma\delta$ T-лимфоциты, %	0,626249	0,239209
$\gamma\delta$ T-лимфоциты, абс.	0,677675	0,275499
TGF β	-0,345022	-0,512439
IL-1 β	0,739408	0,165736
IL-2	-0,456294	0,796889
IL-6	-0,5842	0,343738
IL-17A	-0,14124	-0,801022
IL-22	-0,261683	-0,343475
IL-23	-0,420665	-0,006423
IFN γ	0,886278	0,20476
RORC2	0,21977	0,888144
FoxP3	0,485469	-0,561289
Дисперсия, обусловленная фактором, %	36,9	17,9

Для пациентов с диссеминированным лекарственно-чувствительным ТЛ

первым наиболее значимым фактором (обуславливающим 34,9% дисперсии матрицы) явился фактор, сочетающий в себе количество (абсолютное и относительное) $\gamma\delta$ T-лимфоцитов и концентрацию цитокинов – IL-17A, IFN γ (Таблица 18).

Таблица 18 – Факторный анализ показателей в выборке больных диссеминированным лекарственно-чувствительным туберкулезом легких

Показатель	Фактор 1	Фактор 2
Th17-лимфоциты, %	-0,052674	0,696985
Th17-лимфоциты, абс.	-0,161925	0,681116
Th17/Th1-лимфоциты, %	0,138477	0,473482
Th17/Th1-лимфоциты, абс.	-0,484268	0,472984
Treg-клетки, %	0,200447	-0,748138
Treg-клетки, абс.	-0,179058	-0,776456
$\gamma\delta$ T-лимфоциты, %	0,937513	-0,234505
$\gamma\delta$ T-лимфоциты, абс.	0,736233	-0,196301
TGF β	-0,137973	0,805486
IL-1 β	-0,698447	-0,326954
IL-2	-0,504569	0,140356
IL-6	0,595341	-0,418123
IL-17A	0,896722	-0,197143
IL-22	-0,387696	0,197018
IL-23	0,126393	0,120932
IFN γ	0,849856	-0,325984
RORC2	0,607852	0,402216
FoxP3	-0,347575	0,840941
Дисперсия, обусловленная фактором, %	34,9	18,5

Второй фактор (обуславливает 18,5% дисперсии матрицы) включает показатели количества Treg-клеток (абсолютного и относительного), концентрации TGF β и уровня мРНК гена *FOXP3* (Таблица 18).

Для пациентов с диссеминированным лекарственно-устойчивым ТЛ первым фактором (обуславливает 31,1% дисперсии матрицы) явился фактор, сочетающий в себе содержание (абсолютное и относительное) Th17- и Th17/Th1-лимфоцитов, концентрацию IL-6 и уровень мРНК гена *RORC2* (Таблица 19).

Таблица 19 – Факторный анализ показателей в выборке больных диссеминированным лекарственно-устойчивым туберкулезом легких

Показатель	Фактор 1	Фактор 2
1	2	3
Th17-лимфоциты, %	0,926857	0,032173
Th17-лимфоциты, абс.	0,932185	0,049763
Th17/Th1-лимфоциты, %	0,933495	0,082195
Th17/Th1-лимфоциты, абс.	0,93422	0,099322
Treg-клетки, %	-0,070724	-0,931871
Treg-клетки, абс.	-0,301215	-0,546342
$\gamma\delta$ T-лимфоциты, %	0,073263	0,833348
$\gamma\delta$ T-лимфоциты, абс.	0,11021	0,921835
TGF β	0,218215	-0,812039
IL-1 β	-0,647149	0,184642
IL-2	-0,622701	0,35693
IL-6	0,705432	-0,453033
IL-17A	0,286216	-0,148554
IL-22	0,141342	-0,129806
IL-23	-0,524431	-0,36541
IFN γ	0,042775	-0,070653

Продолжение таблицы 19

1	2	3
RORC2	0,904211	-0,068711
FoxP3	-0,051827	-0,923461
Дисперсия, обусловленная фактором, %	31,1	29,1

Второй фактор (обуславливает 29,1% дисперсии матрицы) был представлен содержанием Treg-клеток (относительным), $\gamma\delta$ T-лимфоцитов (абсолютным и относительным), концентрацией TGF β и уровнем мРНК гена *FOXP3* (Таблица 19).

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Быстрое и стремительное развитие общества, изменение его социальной структуры и динамики глобальных политических и экономических процессов в мире, несомненно, имеют отражение на структуре и динамике показателей заболеваемости и смертности населения. Среди разнообразия болезней выделяют те, которые оказывают наибольшее влияние на здоровье населения и способны приводить к стойкой и длительной утрате трудоспособности, а в ряде случаев к летальному исходу. Такие заболевания обозначены понятием «социально значимые заболевания». В российской и международной практике в эту группу включены болезни различной этиологии – как неинфекционной, так инфекционной [Бояркина С.И., 2019].

Несмотря на регистрируемое в Российской Федерации стабильное снижение заболеваемости и смертности от туберкулеза [Министерство здравоохранения РФ: [сайт]. URL: <https://minzdrav.gov.ru>], данное заболевание продолжает занимать одну из ведущих позиций среди наиболее распространенных социально значимых инфекционных болезней [Бояркина С.И., 2019; Васильева И.А. и соавт., 2023; Koenig S.P., Furin J., 2016; Shen H., Chen Z.W., 2018; Acharya B., et al., 2020; Natarajan A. et al., 2020; Safar H.A. et al., 2020; Urbanowski M.E. et al., 2020; Galamay L.C. et al., 2021; Ufimtseva E.G. et al., 2021; Zhao P. et al., 2021; Poladian N. et al., 2023].

Высокий процент инфицированных *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) лиц среди населения не только в России, но и во всем мире, увеличение удельного веса остропрогрессирующих форм туберкулеза, характеризующихся наиболее тяжелым течением и высоким процентом летальных исходов, и выраженное распространение штаммов возбудителя заболевания, обладающих множественной и широкой лекарственной устойчивостью к средствам противотуберкулезной терапии [Равильоне М.К., Коробицын А.А., 2016; Баласанянц Г.С., Рузанов Д.Ю., 2022; Васильева И.А. и

соавт., 2023; Uplekar M. et al., 2015; Houben R., Dodd P., 2016; Awuh J.A., Flo T.H., 2017; Li Y. et al., 2018; Shen H., Chen Z.W., 2018; Cardona P., Cardona P.J., 2019; Farsida R. et al., 2020; Safar H.A. et al., 2020; Ritter K. et al., 2021; Ufimtseva E.G. et al., 2021; O'Hara J.M. et al., 2023], указывают на то, что туберкулез остается серьезной проблемой для здравоохранения. Необходимость поиска и разработки новых эффективных методов диагностики, терапии и профилактики туберкулеза требует определения основных причин возникновения и механизмов развития данного заболевания на различных уровнях системной организации организма человека, прежде всего, молекулярном и клеточном.

Известно, что на индивидуальную восприимчивость человека к возбудителям инфекционной природы, в том числе к туберкулезной инфекции, оказывают влияние многие факторы, такие как массивность инвазии и вирулентность штаммов *M. tuberculosis*, воздействие различных неблагоприятных факторов окружающей среды, а также состояние иммунологической реактивности организма [Есимова И.Е. и соавт., 2012; Лядова И.В. и соавт., 2012; Чурина Е.Г. и соавт., 2013, 2014; Баласанянц Г.С., Рузанов Д.Ю., 2022; Caramori G. et al., 2011; Fan L. et al., 2017; Shen H., Chen Z.W., 2018; Boisson-Dupuis S., 2020; Lozano-Ordaz V. et al., 2023].

При этом исход инфицирования в значительной степени может различаться. Это может быть полная элиминация *M. tuberculosis*, что наблюдается при адекватном взаимодополняющем функционировании систем врожденного и адаптивного иммунного ответа со своевременным уничтожением инфекционного агента, как правило, на уровне «первой линии защиты», то есть системы мукозального иммунитета в лимфоидной ткани бронхоальвеолярного тракта, или латентное течение инфекционного процесса, не сопровождающееся клиническими проявлениями заболевания. Другим исходом может быть распространение и диссеминация *M. tuberculosis* с развитием острого воспалительного процесса, деструктивных изменений в легочной ткани и формированием развернутой клинической картины туберкулеза [Корецкая Н.М., 2010, 2011; Лядова И.В. и соавт., 2012; Чурина Е.Г. и соавт., 2013; Koenig S.P.,

Furin J., 2016; Li Y. et al., 2018; Shen H., Chen Z.W., 2018; Singh S. et al., 2018; Farsida R. et al., 2020; Zhang J.-A. et al., 2020; Mantei A. et al., 2022; Poladian N. et al., 2023; Shey M.S. et al., 2023].

По существующим на сегодняшний день представлениям, экспансия патогенов инфекционной природы и клиническая манифестация заболевания обусловлены несостоятельностью врожденного и патологическим течением адаптивного противотуберкулезного иммунного ответа. В условиях болезнетворного воздействия *M. tuberculosis* функциональное состояние иммунокомпетентных клеток является важным элементом реактивности иммунной системы организма. Расположенные в верхних и нижних отделах респираторного тракта антигенпрезентирующие клетки (АПК), прежде всего макрофаги и дендритные клетки, одними из первых осуществляют распознавание возбудителя, его фагоцитоз, процессинг и презентацию антигена «наивным» CD4⁺ Т-лимфоцитам (Т-лимфоцитам-хелперам (T-helper, Th) типа 0), с их последующей дифференцировкой в Th1-лимфоциты, инициализацией клеточно-опосредованного иммунного ответа и формированием клона специфических к антигену Т-клеток-эффекторов [Ярилин А.А., 2010; Козлов И.Г., 2011; Есимова И.Е. и соавт., 2017; Авербах М.М. и соавт., 2018; Баласанянц Г.С., Рузанов Д.Ю., 2022; Шовкун Л.А., Кудлай Д.А., 2023; Cooper A.M. et al., 2011; Li Y. et al., 2018; Alaminio V.A. et al., 2019; Wang Y. et al., 2023].

При этом в развитии любого из вышеописанных процессов возможны нарушения. Они могут возникать на этапе вовлечения механизмов врожденного иммунитета и сопровождаться угнетением фагоцитарной и антигенпрезентирующей функций АПК, снижением их микробицидной и секреторной активности. Также нарушения возможны на этапе реализации Th1-зависимого антигенспецифического иммунного ответа вследствие нарушения активации Т-лимфоцитов, цитокинового дисбаланса, угнетения пролиферативной активности клеток, поляризации иммунного ответа в направлении Th2-зависимых гуморальных иммунных реакций, не столь эффективных в случае внутриклеточной персистенции возбудителя, характерной

для туберкулезной инфекции, или в направлении реакций, опосредуемых регуляторными Т-клетками (Regulatory T cells, Treg) с формированием выраженной иммуносупрессии [Воронкова О.В. и соавт., 2007; Сахно Л.В. и соавт., 2010; Салина Т.Ю., Морозова Т.И., 2012; Сахно Л.В., Черных Е.Р., 2012; Хаитова З.К., 2013; Чурина Е.Г. и соавт., 2014, 2019; Есимова И.Е. и соавт., 2017; Шовкун Л.А., Кудлай Д.А., 2023; Safar H.A. et al., 2020].

Вместе с тем, в ходе развития противоинфекционного иммунитета «наивные» CD4⁺ Т-лимфоциты способны дифференцироваться в нескольких направлениях и помимо Th1-лимфоцитов могут образовываться другие адаптивные субпопуляции Т-лимфоцитов, принимающие участие в реализации антигенспецифического иммунного ответа, в частности малая субпопуляция клеток – Th17-лимфоциты. Однако их роль в формировании иммунного ответа против *M. tuberculosis* до конца не ясна.

Следует отметить, что в современной литературе освещено важное значение Th17-лимфоцитов в развитии ряда аутоиммунных заболеваний [Tesmer L.A. et al., 2008; Lee G.R., 2018; Zhang S., 2018; Bunte K., Beikler T., 2019; Tang M. et al., 2019; Parigi T.L. et al., 2022]. Имеются отдельные данные, свидетельствующие о вовлечении Th17-лимфоцитов в защиту организма от инфекционных патогенов бактериальной, вирусной и грибковой природы [Huang W. et al., 2004; Korn T. et al., 2009; Bai H. et al., 2017; Li Y. et al., 2018; Bunte K., Beikler T., 2019; Wang W. et al., 2021]. Предметом пристального внимания исследователей является установление роли Th17-лимфоцитов в патогенезе инфекционных заболеваний легких. Предполагается, что происходящая при инфицировании *M. tuberculosis* активация Th17-лимфоцитов и их вовлечение в регуляцию воспалительного процесса на уровне бронхоальвеолярного тракта имеют важное значение в развитии противоинфекционного иммунитета дыхательных путей [Heidarnezhad F. et al., 2016; Coulter F. et al., 2017; Li Y. et al., 2018; Saini C. et al., 2018; Shen H., Chen Z.W., 2018; Liu H. et al., 2020; Feng J.-Y. et al., 2021; Ritter K. et al., 2021].

Являясь активными участниками протективных иммунных реакций,

формирующихся при инфицировании *M. tuberculosis*, Th17-лимфоциты на этапах своей дифференцировки, пролиферации и выполняемых функций тесно взаимосвязаны с другой малой субпопуляцией клеток – Treg-лимфоцитами, избыточная активность которых, напротив, сопровождается ослаблением иммунного ответа [Lee D.C. et al., 2010; Caramori G. et al., 2011; Chen X., Oppenheim J.J., 2014; Feruglio S.L. et al., 2017; Luo J. et al., 2017; Li Y. et al., 2018; Cardona P., Cardona P.J., 2019; Farsida R. et al., 2020; Liu H. et al., 2020; Namdeo M. et al., 2020; Xu H. et al., 2021]. Таким образом, тонкий баланс в структуре данных субпопуляций лимфоцитов имеет важное значение в координации процессов эрадикации *M. tuberculosis*, предотвращении распространения возбудителя в организме, а также развитии и прогрессирующем патологическом течении заболевания. Особо актуальными являются исследования, посвященные изучению молекулярных механизмов, контролирующих взаимосвязь этих клеток в патогенезе инфекционного процесса. При этом понимание сущности инфекционной патологии, основанной на идентификации молекулярно-генетических механизмов нарушений иммунореактивности организма человека, позволит сформировать целостное представление о реализации противоинфекционного иммунного ответа и факторах его врожденной и приобретенной дисрегуляции, опосредующих клиническую манифестацию инфекции, ее течение и исходы.

В результате проведенного исследования установлено, что течение инфильтративного туберкулеза легких (ТЛ) сопровождалось увеличением относительного и абсолютного числа Th17-лимфоцитов ($CD4^+CD161^+IL-17A^+$ клеток) вне зависимости от чувствительности возбудителя заболевания к средствам этиотропной терапии относительно соответствующих показателей в группе здоровых добровольцев. При этом у пациентов с диссеминированной формой заболевания количество (относительное и абсолютное) Th17-лимфоцитов оказалось в пределах контрольных значений. Обращал на себя внимание разнонаправленный характер изменений исследуемого показателя при лекарственной резистентности *M. tuberculosis* – наиболее выраженное

повышение при инфильтративной клинической форме и снижение (относительно аналогичных значений у пациентов с инфильтративным ТЛ) при диссеминированном ТЛ (Таблица 6).

Очевидно, что при различных клинических формах ТЛ развитие воспалительного процесса в ткани легкого проявляется разным уровнем его активности и прогрессирования. Так, инфильтративный ТЛ, являясь начальным этапом воспалительного процесса, характеризуется меньшей степенью выраженности не только клинико-рентгенологических проявлений заболевания, но и нарушений показателей иммунитета по сравнению с другими формами туберкулеза (диссеминированной, казеозной пневмонией).

В свою очередь, диссеминированный ТЛ характеризуется тяжелым течением инфекционного процесса, ввиду гематогенного и/или лимфогенного распространения инфекции сопровождается большим объемом поражения ткани легкого и чаще приводит к развитию осложнений и летальных исходов. У таких пациентов функциональные свойства иммунокомпетентных клеток крови страдают в большей степени. В этой связи вполне закономерным является выявленное в настоящем исследовании отсутствие ответа со стороны Th17-лимфоцитов в разгар клинического течения диссеминированного ТЛ на фоне повышения как относительного, так и абсолютного содержания Treg-лимфоцитов ($CD4^+CD25^+FoxP3^+$ клеток) в крови в случае лекарственной устойчивости возбудителя заболевания по сравнению с показателями в группе контроля (Таблица 8).

Баланс малых популяций Th17- и Treg-лимфоцитов в организме находится под строгим контролем и зависит от многих факторов. Помимо силы антигенной стимуляции и эффективности взаимодействия АПК с «наивными» $CD4^+$ Т-лимфоцитами, важное значение имеют цитокиновое микроокружение, определяющее последующую активацию сигнальных путей, и скоординированная работа транскрипционных факторов. Критическая роль в процессе поляризации иммунного ответа в направлении Th17- или Treg-лимфоцитов отводится противовоспалительному цитокину –

трансформирующему фактору роста (Transforming Growth Factor, TGF) β . Предполагается, что в сочетании с интерлейкином (Interleukin, IL) 6 и IL-1 β данный цитокин приводит к дифференцировке «наивных» CD4⁺ Т-лимфоцитов в направлении Th17-клеток, тогда как в сочетании с IL-2 TGF β способствуют поляризации Th0-лимфоцитов в направлении Treg-клеток [Трошина Е.А., Сенюшкина Е.С., 2019; Eizenberg-Magar I. et al., 2017; Alaminio V.A., 2019; Liu H. et al., 2020; Safar H.A. et al., 2020; Feng J.-Y. et al., 2021; Ravesloot-Chávez M.M. et al., 2021; Wang W. et al., 2021; Wu B. et al., 2021; Gu Z. et al., 2022; Le Menn G. et al., 2022; Rasouli S. et al., 2023]. Примечательно, что в реализации TGF β -опосредованных сигнальных путей принципиальное значение имеет концентрация цитокина в окружении клеток, проходящих этапы дифференцировки. Высокие дозы TGF β важны для дифференцировки как естественных, происходящих из тимуса Treg-лимфоцитов, так и индуцированных на периферии Treg-клеток. При этом низкие концентрации цитокина физиологически необходимы для развития Th17-лимфоцитов. Подтверждением этому явились экспериментальные работы, в которых блокирование одной из субъединиц рецептора для TGF β – TGF β -RII типа сопровождалось значительным снижением числа Th17-клеток [Sanjabi S. et al., 2017; Li Y. et al., 2018; Saini C. et al., 2018; Cardona P., Cardona P.J., 2019; Ohue Y., Nishikawa H., 2019; Guo K., Zhang X., 2021; Li Q. et al., 2021; Xu H. et al., 2021; Qin Y. et al., 2022].

В результате исследования *in vitro* секреции цитокинов, определяющих дифференцировку Th17- и Treg-лимфоцитов, установлено выраженное снижение концентрации TGF β в супернатантах суспензионной культуры мононуклеарных лейкоцитов у пациентов с инфильтративным лекарственно-устойчивым ТЛ и, напротив, значительное повышение исследуемого показателя при диссеминированном лекарственно-резистентном варианте заболевания (Таблица 10, 20). Именно в этих группах исследования регистрировались наиболее выраженные изменения количества Th17- и Treg-лимфоцитов, а именно повышение числа Th17-лимфоцитов (при инфильтративном) и Treg-лимфоцитов

(при диссеминированном) лекарственно-устойчивом ТЛ (Таблицы 6, 8).

Таблица 20 – Направленность изменений концентрации цитокинов, определяющих дифференцировку Th17- и Treg-лимфоцитов, у пациентов с туберкулезом легких

Показатели	Пациенты с инфильтративным туберкулезом легких		Пациенты с диссеминированным туберкулезом легких	
	ЛЧ	ЛУ	ЛЧ	ЛУ
TGF β	N	↓	N	↑
IL-6	↑	↑	N	N
IL-1 β	N	N	N	N
IL-2	↓	↓	↓	↓
IL-23	N	N	↓	↓

Примечание – ЛЧ – лекарственно-чувствительный; ЛУ – лекарственно-устойчивый; ↑ – повышение концентрации цитокина относительно значений у здоровых доноров; ↓ – снижение концентрации цитокина относительно значений у здоровых доноров; N – концентрация цитокина в пределах значений у здоровых доноров.

Взаимодействуя с рецепторами TGF β -RI и TGF β -RII на поверхности Th0-лимфоцитов, TGF β инициирует передачу сигнала, приводящую к активации транскрипционных факторов Smad (Small mother against decapentaplegic) 2, Smad3 и Smad4, их гетеромеризации и проникновению в ядро клетки. При этом связывание гетеромерного комплекса геном *RORC2* сопровождается его транскрипцией и образованием ROR (Retinoic acid receptor-related orphan receptor) C2 – главного транскрипционного регулятора дифференцировки Th17-лимфоцитов у человека (Рисунок 2). В свою очередь присоединение к энхансерному элементу гена *FOXP3* приводит к образованию белка FoxP3 (Forkhead Box P3) – транскрипционного регулятора дифференцировки Treg-

лимфоцитов (Рисунок 5) [Sanjabi S. et al., 2017; Yan J.-B. et al., 2020; Guo K., Zhang X., 2021; Xu H. et al., 2021; Gu J. et al., 2022; Le Menn G. et al., 2022].

В регуляции дифференцировки «наивных» CD4⁺ Т-лимфоцитов в субпопуляции Th17- и Treg-клеток существует определенная «иерархия» в действии цитокиновых сигналов, что сопровождается модулированием их суммарного эффекта в отношении развития этих клеток. TGFβ инициирует транскрипцию как гена *RORC2*, так и гена *FOXP3*, однако дальнейшая программа дифференцировки определяется различной комбинацией цитокинов и их реципрокным влиянием друг на друга [Eizenberg-Magara I. et al., 2017; Sanjabi S. et al., 2017; Li Y. et al., 2018; Saravia J. et al., 2019; Zhu R. et al., 2019; Qin Y. et al., 2022; Robert M. et al., 2022; Xie Y. et al., 2022].

Синергично с TGFβ в отношении развития Th17-лимфоцитов действует провоспалительный цитокин – IL-6. Связываясь с α- и β-цепями своего рецептора (IL-6R) на мембране Th0-лимфоцита IL-6 активирует каскад тирозинкиназ Jak (Janus kinases) 1/2 и Tyk (Tyrosine kinase) 2, что приводит к фосфорилированию сигнального белка преобразователя и активатора транскрипции STAT (Signal Transduction and Activation Transcription) 3, его димеризации и транслокации в ядро клетки с последующей активацией транскрипционного фактора RORC2 и дифференцировкой Th17-лимфоцитов (Рисунок 1) [Ait-Oufella H. et al., 2014; Li Y. et al., 2018; Shen H., Chen Z.W., 2018; Shi D. et al., 2019; Damasceno L.E.A. et al., 2020; Feng J.-Y. et al., 2021; Guo K., Zhang X., 2021; Chen J.Y. et al., 2022; Qin Y. et al., 2022; Le Menn G. et al., 2022; Du L. et al., 2023].

Исследование *in vitro* секреции IL-6 позволило установить достоверное ее повышение в разгар клинического течения инфильтративного лекарственно-чувствительного и лекарственно-устойчивого ТЛ. В свою очередь при диссеминированном ТЛ концентрация IL-6, секретируемого мононуклеарными лейкоцитами крови, соответствовала значениям в группе здоровых добровольцев (Таблицы 10, 20).

Присутствие в среде IL-6 является ключевым фактором в регуляции дифференцировки Th17-лимфоцитов. Активируя STAT3-зависимый путь

данный цитокин приводит к поляризации иммунного ответа в направлении Th17-лимфоцитов, что подтверждается результатами настоящего исследования – на фоне гиперсекреции IL-6 *in vitro* регистрировалось повышение относительного и абсолютного количества Th17-клеток в крови (при положительной их взаимосвязи $r=0,88$; $p<0,05$ и $r=0,96$; $p<0,05$ соответственно) у пациентов с инфильтративным ТЛ (Таблицы 6, 10). Кроме того, IL-6 оказывает влияние на экспрессию генов рецепторов для IL-1 β и IL-23 – *IL-1RI* и *IL-23R*, стимулируя тем самым появление соответствующих молекул на мембране вступивших в дифференцировку клеток [Knochermann H.M. et al., 2018; Guo K., Zhang X., 2021; Li G. et al., 2021; Robert M. et al., 2022].

Относительно роли IL-1 β в развитии Th17-лимфоцитов известно, что он необходим на начальных этапах дифференцировки. Взаимодействуя с рецепторным комплексом, состоящим из рецептора для IL-1 β – IL-1RI и вспомогательного белка – IL-1RAcP (IL-1 Receptor Accessory Protein), данный цитокин запускает активационный сигнальный каскад, включающий адаптерный белок MyD88 (Myeloid Differentiation primary response protein 88), который приводит к последовательному фосфорилированию и активации киназ IRAK (IL-1 Receptor-Associated Kinase) 4 и IRAK1, их связыванию с адаптерным фактором TRAF6 (TNF Receptor-Associated Factor 6) и активацией киназы NIK (NF- κ B-Inducing Kinase) и комплекса киназ IKK (Inhibitor of κ B (I κ B) Kinase complex), что сопровождается высвобождением фактора транскрипции NF- κ B, его перемещением в ядро клетки и экспрессией RORC2 (Рисунок 3) [Sha Y., Markovic-Plese S., 2016; Bunte K., Beikler T., 2019; Tang M. et al., 2019]. Кроме того, в современной литературе появились данные, свидетельствующие о способности IL-1 β активировать еще один транскрипционный фактор, приводящий к дифференцировке Th17-лимфоцитов – IRF4 (Interferon Regulatory Factor 4) [Guo K., Zhang X., 2021].

В настоящем исследовании содержание IL-1 β *in vitro* у пациентов с ТЛ вне зависимости от кинического течения (инфильтративный и диссеминированный) и чувствительности *M. tuberculosis* к противотуберкулезным средствам

(лекарственно-чувствительный и лекарственно-устойчивый) соответствовало значению у здоровых индивидуумов (Таблицы 10, 20).

Предполагается, что IL-1 β принимает участие не только в инициации дифференцировки, но и в поддержании фенотипа и пролиферации клеток, уже поляризованных в направлении Th17. В экспериментальных работах на мышах продемонстрировано, что добавление в культуры клеток одновременно IL-1 β и IL-6 приводило к более выраженной экспрессии транскрипционных факторов IRF4 и ROR γ t в лимфоцитах по сравнению с клетками, инкубируемыми только в присутствии IL-6 [Chung Y. et al., 2009; Guo K., Zhang X., 2021]. Группой зарубежных коллег при исследовании клеток крови человека установлено, что блокирование гена рецептора для IL-1 β – *IL-1RI*, сопровождалось снижением экспрессии в лимфоцитах генов транскрипционных факторов – *IRF4* и *RORC*, генов цитокинов *IL-17*, *IL-22* и гена рецептора для IL-23 – *IL-23R* [Sha Y., Markovic-Plese S., 2016]. Также показано влияние IL-1 β на процессы фосфорилирования транскрипционного фактора STAT3 и его активацию. Блокируя белок-супрессор передачи цитокиновых сигналов – SOCS (Suppressor of Cytokine Signaling) 3, являющийся негативным регулятором для STAT3, IL-1 β усиливает фосфорилирование последнего [Le Menn G. et al., 2022; Xie Y. et al., 2022].

Кроме того, установлено, что IL-1 β и IL-6 способны стимулировать дифференцировку Th17-лимфоцитов за счет подавления TGF β -индуцированной экспрессии транскрипционного фактора FoxP3 [Sanjabi S. et al., 2017; Li Y. et al., 2018; Shen H., Chen Z.W., 2018; Zhang S., 2018; Robert M. et al., 2022]. При этом добавление нейтрализующих данные цитокины антител или антител к их рецепторам приводит к блокированию развития Th17-лимфоцитов [Acosta-Rodrigues E.V., 2007; Guo K., Zhang X., 2021]. Также показано, что IL-6, индуцируя экспрессию протеинкиназы PIM1, осуществляющую фосфорилирование по остатку серина 422 (S422) С-концевого домена FoxP3, приводит к снижению его транскрипционной активности [Li Z. et al., 2014; Le Menn G. et al., 2022].

Еще одним цитокином, оказывающим влияние на развитие Th17-лимфоцитов, является продукт дендритных клеток и макрофагов – IL-23. IL-23 относится к семейству IL-12, которые имеют решающее значение в процессах дифференцировки CD4⁺ Т-лимфоцитов, а также регуляции и последующем развитии адаптивного иммунного ответа [Насонов Е.Л. и соавт., 2019; Ritter K. et al., 2021; Schinocca C. et al., 2021; Parigi T.L. et al., 2022; Jiang J. et al., 2024]. Информация относительно роли IL-12 в потенцировании реакций клеточного иммунного ответа достаточно широко представлена в современной литературе [Пирогов А.Б., Приходько А.Г., 2023; Boisson-Dupuis S., 2020; Chauhan P. et al., 2020; Floss D.M. et al., 2020; Fang F. et al., 2020; Narinyan W. et al., 2022], однако значение IL-23 в регуляции иммунитета на сегодняшний день освещено недостаточно.

В настоящем исследовании *in vitro* секреции IL-23 дендритными клетками установлено ее снижение у пациентов, имеющих диссеминированную клиническую форму ТЛ вне зависимости от чувствительности возбудителя заболевания к средствам этиотропной терапии. При этом у пациентов с инфильтративным лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым ТЛ секреция IL-23 дендритными клетками была сопоставимой с показателем у здоровых доноров, но оказалась выше соответствующих значений у пациентов с диссеминированной формой заболевания (Таблицы 13, 20).

Установлено, что биологическая активность IL-23 преимущественно направлена на популяцию CD4⁺ Т-лимфоцитов – Th17-лимфоциты [Parigi T.L. et al., 2022; Xie Y. et al., 2022]. Ранее, в экспериментальной модели на мышах, было показано, что IL-23 является ключевым цитокином в инициации дифференцировки Th17-лимфоцитов [Yang L. et al., 2008]. Однако результаты последних исследований установили, что рецептор к данному цитокину – IL-23R появляется не сразу, а после начала дифференцировки «наивных» CD4⁺ Т-лимфоцитов в направлении Th17-клеток. Подобно IL-6, действие IL-23 сопровождается активацией транскрипционного фактора STAT3, только более поздней. Таким образом, потенцируя эффекты IL-6, IL-23 приводит к

возрастанию экспрессии гена ключевого транскрипционного регулятора дифференцировки Th17-лимфоцитов – *RORC2*. Наряду с этим, IL-23 способствует экспрессии гена *IL-17* – главного цитокина этих клеток. Зарубежными коллегами продемонстрировано повышение IL-17-секреторной активности Th17-лимфоцитов в ответ на действие IL-23 (Рисунок 4). Это свидетельствует о том, что роль IL-23, скорее всего, следует рассматривать в стабилизации фенотипа и поддержании жизнеспособности Th17-лимфоцитов на заключительном этапе их дифференцировки, а также в увеличении количества, созревании и функциональной активности уже дифференцированных клеток [Насонов Е.Л. и соавт., 2019; Zhang X. et al., 2013; Ait-Oufella H. et al., 2014; Knochelmann H.M. et al., 2018; Li Y. et al., 2018; Shen H., Chen Z.W., 2018; Bunte K., Beikler T., 2019; Leisching G.R. 2019; Yan J.-B. et al., 2020; Guo K., Zhang X., 2021; Ritter K. et al., 2021; Ogongo P. et al., 2023].

Ряд авторов сообщают, что присутствие IL-23 на этапах дифференцировки Th-клеток потенцирует влияние IL-1 β на развитие Th17-лимфоцитов [Waite J.C., Skokos D., 2012; Kajdaniuk D. et al., 2023]. Предполагается, что поддержание в течение длительного времени в организме Т-клеток памяти, образующихся в результате иммунного ответа на возбудитель, также обусловлено действием IL-23 [Schinocca C. et al., 2021; Parigi T.L. et al., 2022].

Как указывалось выше, в процессе поляризации «наивных» CD4⁺ Т-лимфоцитов в направлении Treg-клеток важное значение имеет TGF β . Присутствие данного цитокина в микроокружении клеток на самых ранних этапах их развития способствует экспрессии главного регулятора дифференцировки Treg-лимфоцитов – фактора транскрипции FoxP3 [Almanzar G. et al., 2016; Sanjabi S. et al., 2017; Knochelmann H.M. et al., 2018; Li Y. et al., 2018; Alaminio V.A., 2019; Ohue Y., Nishikawa H., 2019; Saravia J. et al., 2019; Zhu R. et al., 2019; Le Menn G. et al., 2022; Xie Y. et al., 2022].

Относительно роли IL-2 в дифференцировке Treg-лимфоцитов известно, что связывание цитокина с высокоаффинным рецептором сопровождается активацией тирозинкиназ Jak1 и Jak3, фосфорилированием и активацией

транскрипционного фактора STAT5 с последующей димеризацией и перемещением его в ядро клетки, связыванием с промотором гена *FOXP3* и образованием конечного продукта этой сигнальной трансдукции – белка скурфина – Treg-специфического фактора транскрипции (Рисунок 5). Сообщается, что IL-2 принимает участие не только в развитии Treg-лимфоцитов, но в регуляции пролиферации и поддержании жизнеспособности этих клеток в периферических тканях [Coskun M. et al., 2013; Damoiseaux J., 2020; Yan J.-B. et al., 2020; Zhang Y. et al., 2021; Le Menn G. et al., 2022; Qin Y. et al., 2022]. Вместе с тем IL-2 оказывает негативное влияние на развитие Th17-лимфоцитов, снижая экспрессию генов рецептора для IL-6 – *IL6Ra* и *gp130*, приводит к нарушению экстернализации IL-6R и блокированию IL-6-опосредованной дифференцировки клеток [Liao W. et al., 2011; Guo K., Zhang X., 2021].

В результате исследования секреции IL-2 мононуклеарными лейкоцитами крови у всех обследованных пациентов с ТЛ установлено статистически значимое ее снижение относительно показателя в группе здоровых доноров (Таблица 10, 20). Ранее сообщалось, что развитие ТЛ сопровождается нарушением клеточно-опосредованного иммунного ответа уже на начальном его этапе – в индуктивную фазу. Следствием этого является дефицит секреции Th1-ассоциированных цитокинов, главным образом IL-2. Необходимо отметить, что на фоне гипосекреции IL-2 *in vitro* содержание Treg-лимфоцитов в крови у больных ТЛ не отличалось от такового в группе контроля, за исключением пациентов с диссеминированным лекарственно-резистентным ТЛ. У них в условиях низкой концентрации IL-2 и высокого значения TGFβ регистрировалось увеличение количества Treg-клеток в крови (Таблица 8, 10).

Известно, что IL-2 имеет решающее значение в развитии Treg-клеток в тимусе, то есть естественных Treg-лимфоцитов. При этом на дифференцировку индуцированных на периферии (в периферических лимфоидных органах) адаптивных Treg-лимфоцитов ведущее влияние оказывает TGFβ [Lee Y.K. et al., 2009; Zheng S.G., 2013; Sanjabi S. et al., 2017; Qin Y. et al., 2022].

Сообщается, что в условиях высоких концентраций TGFβ способен

самостоятельно поддерживать дифференцировку Treg-лимфоцитов без дополнительного потенцирующего эффекта со стороны IL-2 [Guo K., Zhang X., 2021]. Вероятно, в условиях туберкулезной инфекции выраженная TGF β -секреторная активность мононуклеарных лейкоцитов у пациентов с диссеминированным ТЛ, выделяющих лекарственно-устойчивые штаммы *M. tuberculosis*, способствовала поляризации иммунного ответа в направлении Treg-лимфоцитов и сопровождалась повышением их количества в крови у данной группы больных (что подтверждается положительной взаимосвязью между этими показателями, $r=0,76$; $p<0,05$).

Большой интерес у исследователей вызывает изучение молекулярных механизмов дифференцировки «наивных» CD4⁺ Т-лимфоцитов на пострецепторном уровне, где главенствующая роль отводится факторам транскрипции [Le Menn G. et al., 2022]. Являясь конечными продуктами последовательных внутриклеточных сигнальных каскадов, транскрипционные факторы связываются с регуляторными (энхансеры и промоторы) участками генов и определяют дальнейшее развитие клетки – способствуют экспрессии специфичных для данной клетки генов, репрессируя при этом экспрессию генов, связанных с альтернативными клонами клеток [Карицкая И.А. и соавт., 2006; Ярилин А.А., 2010; Eizenberg-Magar I. et al., 2017; Saravia J. et al., 2019]. При этом баланс Th17- и Treg-лимфоцитов в организме устанавливается за счет антагонистического взаимодействия как ключевых транскрипционных регуляторов их дифференцировки – факторов транскрипции RORC2 и FoxP3, так и вспомогательных белков – преобразователей сигнала и активаторов транскрипции STAT3 и STAT5 [Li Y. et al., 2018; Bunte K., Beikler T., 2019; Boardman D.A. et al., 2020; Le Menn G. et al., 2022].

Установлено, что транскрипционный фактор FoxP3 путем прямого взаимодействия с RORC2 подавляет его транскрипционную активность, способствуя тем самым развитию Treg-лимфоцитов [Burgler S. et al., 2010; Saravia J. et al., 2019; Le Menn G. et al., 2022]. Вместе с тем исследования, проведенные *in vitro*, показали, что присутствие в микроокружении клеток

провоспалительных цитокинов IL-6, IL-23 и IL-1 β приводило к снижению FoxP3-опосредованного блокирования RORC2 и способствовало дифференцировке Th17-лимфоцитов [Sanjabi S. et al., 2017; Xie Y. et al., 2022]. При этом транскрипционный фактор RORC2 также способен оказывать влияние на экспрессию фактора транскрипции FoxP3. Связываясь с промотором гена *FOXP3*, транскрипционный фактор RORC2 вызывает его репрессию (выключение), что сопровождается снижением как уровня мРНК FoxP3, так и самого белкового продукта. Имеются сведения о способности RORC2 ингибировать экспрессию FoxP3 за счет конкурентного связывания с транскрипционным фактором NFAT (Nuclear Factor of Activated T cells), необходимым для активации гена *FOXP3* (Рисунки 22, 23) [Burgler S. et al., 2010; Li Y. et al., 2018].

Необходимо отметить, что положительный регулятор экспрессии RORC2 – фактор транскрипции STAT3 способен оказывать прямое и опосредованное (за счет блокирования STAT5), ингибирующее действие на экспрессию FoxP3. В свою очередь, IL-2-индуцированный фактор транскрипции STAT5 приводит к нарушению дифференцировки Th17-лимфоцитов, взаимодействуя с сайтом связывания для STAT3, угнетает его транскрипционную активность (Рисунки 22, 23) [Соболев В.В. и соавт., 2020; Knochelmann H.M. et al., 2018; Luo J. et al., 2018; Zhao C. et al., 2019; Guo K., Zhang X., 2021; Le Menn G. et al., 2022].

На рисунках 21 и 22 представлено реципрокное влияние цитокинов, определяющих дифференцировку Th17-лимфоцитов и Treg-клеток, и их факторов транскрипции.

Исследование экспрессии генов факторов транскрипции Th17- и Treg-лимфоцитов позволило установить повышение уровня мРНК RORC2 в лимфоцитах у пациентов с инфильтративным ТЛ (вне зависимости от чувствительности *M. tuberculosis* к противотуберкулезным средствам), то есть в тех же группах больных, в которых регистрировалось увеличение числа Th17-лимфоцитов (Таблицы 6, 19).

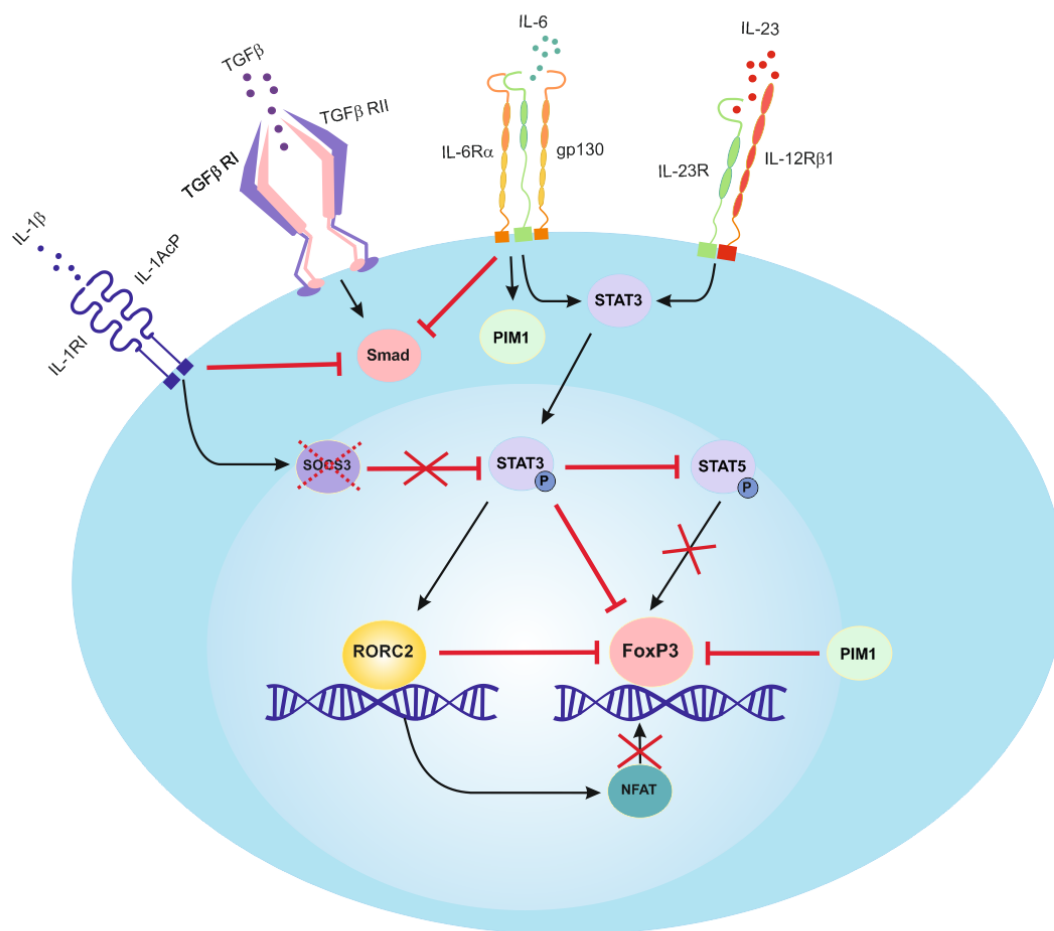


Рисунок 21 – Цитокин- и STAT3/RORC2-опосредованное ингибирование экспрессии фактора транскрипции FoxP3 (оригинальная схема, составленная с использованием данных литературы)

Примечание. Здесь и далее в рисунках 23-25: FoxP3 – белок скурфин, фактор транскрипции; IL – интерлейкин; IL-1RI – рецептор для IL-1 β ; IL-1RAcP – вспомогательный белок для связывания IL-1 β ; IL-6R α – α -цепь рецептора для IL-6; gp130 – β -цепь рецептора для IL-6; IL-23R α – специфичная субъединица рецептора IL-23; IL-12R β 1 – субъединица рецептора IL-12 (необходима для связывания IL-23); NFAT – ядерный фактор активации Т-клеток, фактор транскрипции; PIM – протеинкиназа; ROR – рецепторы-сироты, родственные ретиноидным, фактор транскрипции; Smad – фактор транскрипции канонического TGF-зависимого пути; SOCS – белок-супрессор передачи цитокиновых сигналов; STAT – трансдуктор сигнала и активатор транскрипции, STATp – фосфорилированная форма STAT; TGF – трансформирующий фактор роста, TGF-R – рецептор для TGF.

В свою очередь анализ экспрессии гена транскрипционного фактора FoxP3 показал статистически значимое увеличение уровня мРНК FoxP3 в лимфоцитах у пациентов с диссеминированным ТЛ в случае лекарственной устойчивости возбудителя. Указанные изменения сочетались с повышением количества Treg-лимфоцитов у этой группы больных (Таблицы 8, 19).

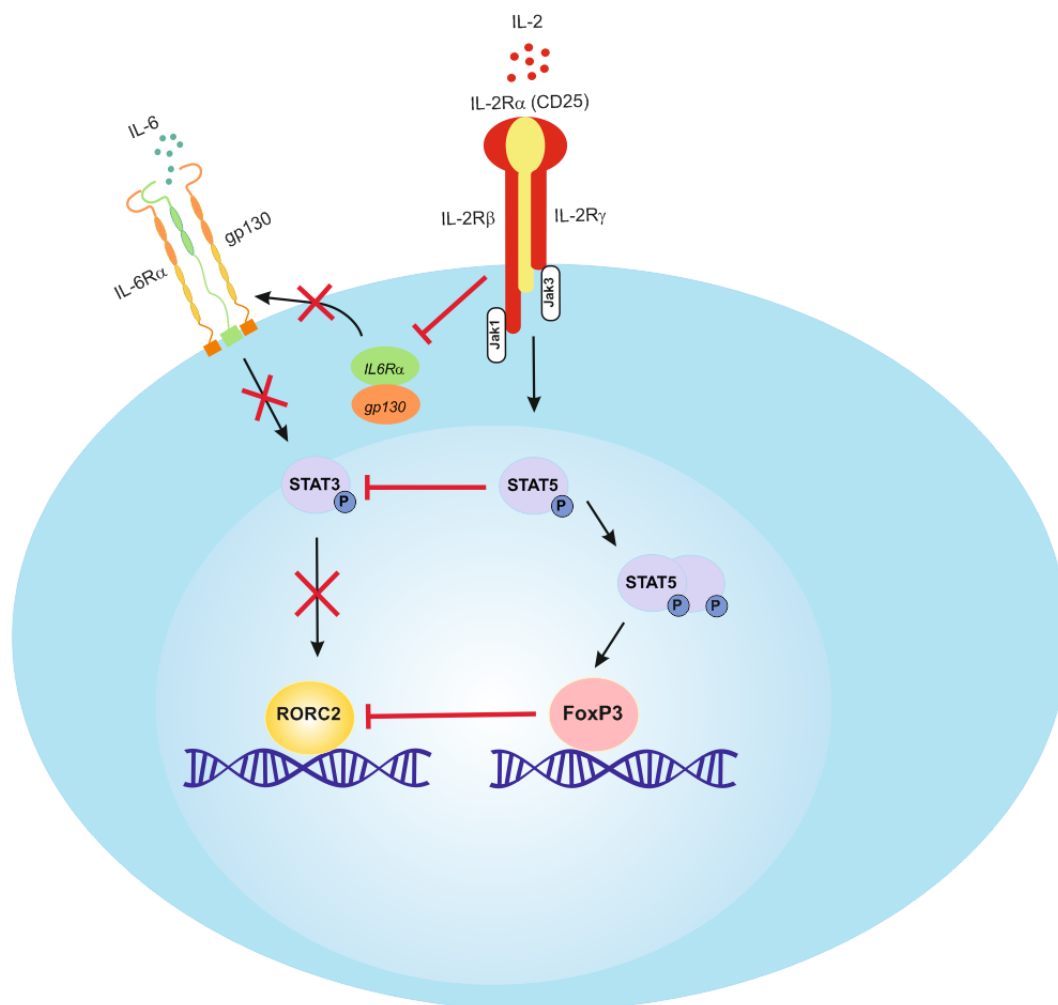


Рисунок 22 – Цитокин- и STAT5/FoxP3-опосредованное ингибирование экспрессии фактора транскрипции RORC2 (оригинальная схема, составленная с использованием данных литературы)

Примечание. IL-2R α – высокоаффинная α -цепь рецептора для IL-2 (CD25); IL-2R β – β -цепь рецептора для IL-2; IL-2R γ – γ -цепь рецептора для IL-2; Jak – тирозинкиназа семейства Janus (Янус-киназа).

Обобщая полученные результаты, можно заключить, что течение инфильтративного ТЛ сопровождается поляризацией иммунного ответа в направлении Th17-лимфоцитов, о чем свидетельствует повышение экспрессии фактора транскрипции RORC2 по взаимосвязи с увеличением количества Th17-лимфоцитов и гиперсекрецией IL-6. При этом развитие диссеминированного лекарственно-устойчивого ТЛ характеризуется дифференцировкой Т-лимфоцитов преимущественно в направлении Treg-клеток, о чем свидетельствует увеличение экспрессии фактора транскрипции FoxP3 в сочетании с повышением числа Treg-клеток в крови и гиперсекрецией TGFβ. Подтверждением вышеизложенному служит выявленная положительная взаимосвязь между уровнем мРНК RORC2 в лимфоцитах, содержанием (относительным и абсолютным) Th17-лимфоцитов в крови ($r=0,77$; $p<0,05$ и $r=0,81$; $p<0,05$ соответственно) и секрецией IL-6 *in vitro* ($r=0,62$; $p<0,05$); а также между уровнем мРНК FoxP3 в лимфоцитах, количеством (относительным и абсолютным) Treg-лимфоцитов в крови ($r=0,88$; $p<0,05$ и $r=0,71$; $p<0,05$ соответственно) и секрецией TGFβ *in vitro* ($r=0,86$; $p<0,05$). В то же время установлена отрицательная взаимосвязь между показателями базальной секреции IL-6 *in vitro*, секрецией IL-23 дендритными клетками и уровнем мРНК гена фактора транскрипции FoxP3 в лимфоцитах ($r=-0,84$; $p<0,05$ и $r=-0,88$; $p<0,05$ соответственно).

В результате проведенного многомерного факторного анализа были подтверждены выявленные закономерности во взаимосвязи исследуемых признаков. Для каждой группы обследованных лиц определены два фактора, которые объединили показатели, оказывающие влияние на характер иммунного ответа у данных больных. Так, у пациентов с инфильтративным лекарственно-чувствительным ТЛ первый и наиболее значимый фактор (детерминирующий 24,3% дисперсии матрицы) включал показатели, обуславливающие Th17-поляризацию иммунного ответа, а именно значения базальной секреции IL-1β и IL-6 *in vitro*, уровень мРНК гена фактора транскрипции RORC2 в лимфоцитах и содержание Th17-клеток (абсолютное и относительное) в крови. Вторым фактор

(обуславливающий 18,5% дисперсии матрицы), фактор функциональной активности, объединил относительное количество $\gamma\delta$ T-лимфоцитов и базальную секрецию IL-17A *in vitro* (Таблица 16).

У пациентов с инфильтративным лекарственно-устойчивым ТЛ выявленные факторы указывали на Th17- и Th17/Th1-поляризацию иммунного ответа в сочетании с повышением их функциональной активности. Первый фактор (36,9% дисперсии матрицы) включал в себя базальную секрецию IL-1 β и IFN γ *in vitro*, содержание (абсолютное и относительное) Th17/Th1-лимфоцитов в крови; второй фактор (17,9% дисперсии матрицы) объединил показатели базальной секреции IL-2 и IL-17A *in vitro*, уровня мРНК гена *RORC2* в лимфоцитах и количества (абсолютного и относительного) Th17-лимфоцитов в крови (Таблица 17).

Относительно пациентов с диссеминированным лекарственно-чувствительным ТЛ первым и наиболее значимым фактором (34,9% дисперсии матрицы) явился фактор, отражающий протективный потенциал $\gamma\delta$ T-лимфоцитов и сочетающий в себе базальную секрецию IL-17A, IFN γ *in vitro* и содержание (абсолютное и относительное) этих клеток в крови. При этом второй фактор (18,5% дисперсии матрицы) включал показатели Treg-поляризации – базальную секрецию TGF β *in vitro*, уровень мРНК гена фактора транскрипции FoxP3 в лимфоцитах и содержание (абсолютное и относительное) Treg-клеток в крови (Таблица 18).

В свою очередь для пациентов с диссеминированным лекарственно-устойчивым ТЛ оба выявленных фактора обуславливали высокую долю дисперсии матрицы. Первый фактор (31,1% дисперсии матрицы) содержал показатели, отражающие Th17-поляризацию – значения базальной секреции IL-6 *in vitro*, уровня мРНК гена *RORC2* в лимфоцитах и содержания (абсолютного и относительного) Th17- и Th17/Th1-лимфоцитов в крови. Примечательно, что у данной группы обследованных лиц данные показатели были ниже либо относительно таковых в группе пациентов с инфильтративным ТЛ, либо по отношению к показателям в группе здоровых лиц. Второй фактор (29,1%

дисперсии матрицы) включал показатели, отражающие Treg-поляризацию иммунного ответа, и сочетал в себе базальную секрецию TGF β *in vitro*, уровень мРНК гена *FOXP3* в лимфоцитах, относительное содержание Treg-клеток в сочетании с $\gamma\delta$ T-лимфоцитами (абсолютным и относительным) в крови (Таблица 19).

Таким образом, характеризуя молекулярно-генетические механизмы, лежащие в основе дифференцировки Th-лимфоцитов, можно заключить, что связывание цитокинов с соответствующими рецепторами на поверхности клетки инициирует сложные внутриклеточные молекулярные взаимодействия, сопровождающиеся активацией сигнальных каскадов, приводящих к изменению транскрипции генов и образованию специфических эффекторных белковых молекул клетки. Потенцируя и взаимно усиливая эффекты друг друга, цитокины, в конечном итоге способствуют дифференцировке, развитию и функционированию Th17- или Treg-лимфоцитов. На начальном этапе дифференцировки Th17-лимфоцитов низкие концентрации TGF β в сочетании с гиперсекрецией IL-6 стимулируют экспрессию фактора транскрипции RORC2 и рецепторов для IL-1 β и IL-23. Далее на развитие Th17-лимфоцитов оказывает влияние IL-1 β и на заключительном этапе дифференцировки – IL-23. Усиливая эффекты TGF β и IL-6, данные цитокины стабилизируют фенотип, поддерживают жизнеспособность и (в случае IL-23) созревание клеток [Eyerich K. et al., 2017; Yan J.-B. et al., 2020; Guo K., Zhang X., 2021; Ritter K. et al., 2021; Robert M. et al., 2022; Du L. et al., 2023]. При этом решающее значение в развитии Treg-лимфоцитов имеет TGF β . Высокие дозы цитокина инициируют Smad-зависимую экспрессию транскрипционного фактора FoxP3 и в условиях низкой концентрации IL-6 способствуют дифференцировке Treg-клеток [Almanzar G. et al., 2016; Sanjabi S. et al., 2017; Li Y. et al., 2018; Saravia J. et al., 2019; Zhao C. et al., 2019; Zhu R. et al., 2019; Liu H., et al., 2020; Le Menn G. et al., 2022].

Известно, что ответная реакция клетки на действие антигенного стимула является важным показателем эффективности и результативности иммунного ответа. Поскольку вакцинный штамм BCG (*Bacillus Calmette–Guérin*) является

специфическим стимулом (за счет общих антигенных детерминант с инфицирующим штаммом *M. tuberculosis*) в отношении антигенреактивных клеток, формирующихся в организме при ТЛ, целесообразно использовать данную вакцину для индукции иммунокомпетентных клеток крови и оценки резерва их цитокинсекреторной способности.

Проведенное исследование показало, что внесение в культуры клеток больных ТЛ вакцинного штамма BCG не сопровождалось изменением секреции цитокинов, влияющих на развитие Th17- и Treg-лимфоцитов, и соответствовало значениям ее базального уровня. При этом у пациентов с диссеминированным лекарственно-устойчивым ТЛ добавление вакцины в супернатанты культуральных суспензий моноклеарных лейкоцитов приводило к снижению BCG-индуцированной секреции TGFβ относительно базального значения (Таблица 10).

Отсутствие увеличения секреции исследуемых цитокинов (IL-1β, IL-2, IL-6, TGFβ) *in vitro* в ответ на дополнительное антигенное воздействие у пациентов с ТЛ свидетельствует об истощении функционального резерва иммунокомпетентных клеток крови и снижении их антиген-индуцированной реактивности. Вероятно, непосредственное влияние избытка антигена на иммунокомпетентные клетки *in vivo* при ТЛ вызывает снижение их функциональных ресурсов и, как результат, повторное воздействие антигенного стимула, несмотря на достаточную силу активационных сигналов, не сопровождается ответной гиперсекрецией цитокинов *in vitro*, а в случае диссеминированного ТЛ с лекарственной устойчивостью возбудителя приводит к снижению TGFβ-секреторной активности клеток.

Накопленные на данный момент знания о роли Th17-лимфоцитов в иммунном ответе при ТЛ свидетельствуют о том, что участие данных клеток в реализации и регуляции антимикобактериального иммунитета обусловлено способностью секретировать широкий кластер цитокинов – IL-17A, IL-22, IL-26, фактор некроза опухоли (Tumor Necrosis Factor, TNF) α, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (Granulocyte Macrophage

Colony Stimulating Factor, GM-CSF) и хемокинов – CXCL (C-X-C motif Chemokine Ligand) 9, CXCL10 и CXCL11 [Li Y. et al., 2018; Shen H., Chen Z.W., 2018; Gaffen S.L., Moutsopoulos N.M., 2020; Feng J.-Y. et al., 2021; Parigi T.L. et al., 2022; Xie Y. et al., 2022]. При этом IL-17A является основным эффекторным цитокином этих клеток [Li Y. et al., 2018; Shanmugasundaram U. et al., 2020; Ritter K. et al., 2021; Wang Y. et al., 2023].

Выраженное биологическое действие IL-17A обусловлено тем, что рецепторы к данному цитокину имеются на многих клетках организма – прежде всего, на клетках иммунной системы (лимфоцитах, макрофагах, дендритных клетках), эпителиальных клетках, эндотелиальных клетках, фибробластах [Brevi A. et al., 2020; Tang M. et al., 2021]. Так, эпителиальные клетки дыхательных путей, экспрессируя на базолатеральной поверхности рецептор к IL-17 и взаимодействуя с цитокином, начинают продуцировать ряд хемокинов, факторов роста и антимикробных пептидов [Eyerich K. et al., 2017; Zhu R. et al., 2019; Li G. et al., 2021; Xie Y. et al., 2022], вовлекаясь тем самым в защиту организма от инфекционного агента и регуляцию воспалительного процесса [Абатуров А.Е., 2011; Herrera M.T. et al., 2022]. IL-17A-индуцированная секреция эпителиальными клетками хемокинов – CXCL1, CXCL2, CXCL5, CXCL8 (IL-8), являющихся хемоаттрактантами для нейтрофилов, приводит к их привлечению из крови в бронхоальвеолярный тракт, активации и осуществлению антибактериальной функции [Лядова И.В. и соавт., 2012; Eyerich K. et al., 2017; Shen H., Chen Z.W., 2018; Singh S. et al., 2018; Feng J.-Y. et al., 2021]. Продукция макрофагального белка воспаления-3 α (Macrophage Inflammatory Protein-3 α , MIP-3 α /CCL20 (C-C motif Chemokine Ligand20)) сопровождается миграцией лимфоцитов и дендритных клеток в место повреждения слизистой оболочки респираторного тракта с последующим осуществлением распознавания антигена дендритными клетками и их созреванием [Абатуров А.Е., 2011; Knochelmann H.M. et al., 2018; Shen H., Chen Z.W., 2018; Li G. et al., 2021]. Выработка (под действием IL-17A) клетками эпителия бронхов факторов роста – гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Granulocyte Colony

Stimulating Factor, G-CSF) и GM-CSF активирует гранулоцитопоз и моноцитопоз, индуцируя функции клеточного компонента врожденного иммунитета – нейтрофилов, макрофагов и дендритных клеток (Рисунок 23) [Конович Е.А. и соавт., 2016; Eyerich K. et al., 2017; Brembilla N.C. et al., 2018; Gaffen S.L., Moutsopoulos N.M., 2020]. Стимулированное IL-17A высвобождение альвеолярными эпителиальными клетками противомикробных пептидов, обладающих бактерицидным действием, таких как β -дефенсин-2 (β -defensin-2, Bd2), муцин и белок S100, способствует элиминации патогена, что имеет важное значение в предотвращении распространения и раннем контроле *M. tuberculosis*, повышая эффективность «первой линии защиты», то есть защиты на уровне слизистых оболочек дыхательных путей (Рисунок 23) [Nonaka M. et al., 2009; Eyerich K. et al., 2017; Li Y. et al., 2018; Brevi A. et al., 2020; Belpaire A. et al., 2022; Berry G. et al., 2022; Herrera M.T. et al., 2022; Wang Y. et al., 2023].

В патогенезе ТЛ особенно важно влияние IL-17A на функции макрофагов, дендритных клеток и Th1-лимфоцитов [Tang M. et al., 2021]. Так, под действием IL-17A макрофаги экспрессируют на своей поверхности хемокиновые рецепторы групп CCR1, CCR2, CCR5, CCR8 и CXCR, что способствует их миграции в очаг воспаления с последующей реализацией провоспалительной активности за счет секреции таких цитокинов как IL-1 β , IL-6, TNF α , G-CSF (Рисунок 23) [Shen H., Chen Z.W., 2018; Bunte K., Beikler T., 2019; Li G. et al., 2021; Țiburcă L. et al., 2022]. Относительно дендритных клеток установлено, что IL-17A, опосредуя повышение экспрессии костимулирующих молекул – CD40, CD80, CD86 и молекул главного комплекса гистосовместимости (Major Histocompatibility Complex, МНС) класса II, способствует их созреванию [Vokaer B. et al., 2013; Li Y. et al., 2018; Li G. et al., 2021]. Секретируя IL-17A и хемокины – CXCL9, CXCL10, CXCL10, Th17-лимфоциты привлекают в слизистые оболочки респираторного тракта Th1-лимфоциты, опосредуя их активацию [Kappel L.W. et al., 2009; Shen H., Chen Z.W., 2018; Dhital R. et al., 2022], повышают эффективность антигенспецифического адаптивного иммунного ответа (Рисунок 23).

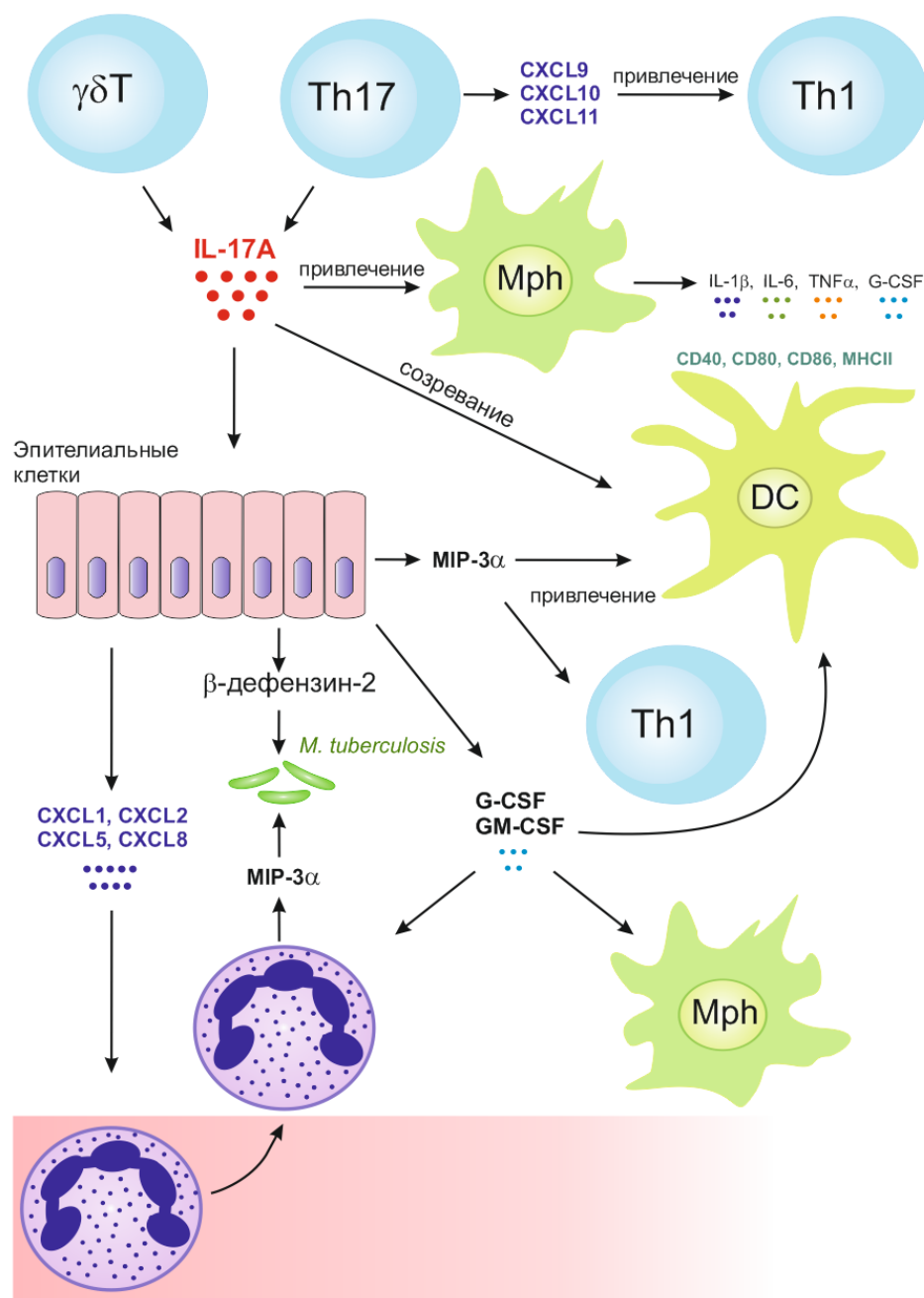


Рисунок 23 – Биологические эффекты IL-17A в реализации антимикобактериального иммунитета (оригинальная схема, составленная с использованием данных литературы). Примечание. Здесь и далее в рисунках 25, 26: CXCL – хемокин семейства CXC; DC (Dendritic cell) – дендритная клетка; G-CSF – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; GM-CSF – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор; МНС – молекула главного комплекса гистосовместимости; MIP – макрофагальный белок воспаления; Mph (Macrophage) – макрофаг; *M. tuberculosis* – микобактерия туберкулеза; Th – Т-лимфоцит-хелпер; TNF – фактор некроза опухоли; $\gamma\delta$ T – $\gamma\delta$ T-лимфоцит.

В экспериментальных моделях на мышах продемонстрировано, что при инфицировании *M. tuberculosis* ткани легкого достаточно быстро инфильтрируются клетками, продуцирующими IL-17A и хемокины, что приводит к рекрутированию Th1-лимфоцитов, секретирующих интерферон (Interferon, IFN) γ . Данный факт свидетельствует о том, что динамика Th1/Th17-ответов при туберкулезной инфекции различна и ответ со стороны Th17-лимфоцитов является более ранним, и предшествует Th1-зависимым иммунным реакциям [Khader S.A. et al., 2007; Li Y. et al., 2018; Nikitina I.Yu. et al., 2018; Shen H., Chen Z.W., 2018].

В настоящем исследовании в результате оценки *in vitro* секреции IL-17A у всех пациентов с ТЛ установлено повышение ее базального уровня по сравнению со значением у здоровых добровольцев. Примечательно, что наиболее выраженное увеличение базальной секреции исследуемого цитокина *in vitro* регистрировалось в группе пациентов с диссеминированным ТЛ, выделяющих штаммы *M. tuberculosis*, резистентные к противотуберкулезным средствам терапии (Таблица 12).

Как указывалось ранее, течение инфильтративного лекарственно-чувствительного и лекарственно-устойчивого ТЛ сопровождается вовлечением в механизмы иммунной защиты Th17-лимфоцитов. В этой связи закономерно, что на фоне повышения количества Th17-клеток в крови у этих больных регистрируется увеличение *in vitro* секреции их основного цитокина – IL-17A, что подтверждается положительной взаимосвязью между относительным числом Th17-лимфоцитов и концентрацией IL-17A в супернатантах интактной культуры мононуклеарных лейкоцитов ($r=0,73$, $p<0,05$). Вместе с тем развитие диссеминированного ТЛ не характеризовалось приростом Th17-лимфоцитов в крови, однако концентрация IL-17A при *in vitro* культивировании клеток у этих больных оказалась повышенной. Очевидно, что в основе иммунопатогенеза различных клинических форм ТЛ лежат неоднозначные механизмы иммунного ответа на *M. tuberculosis*. В случае инфильтративной клинической формы поляризация иммунного ответа идет в направлении Th1- и Th17-лимфоцитов,

тогда как для диссеминированного ТЛ на фоне неэффективности Th1-опосредованного иммунитета происходит инициация Th2-зависимого иммунного ответа. Кроме того, обязательным фактором развития диссеминированного ТЛ является гематогенное и/или лимфогенное распространение инфекции, приводящее к обширному поражению легочной ткани и, вследствие этого, развитию остро прогрессирующего воспалительного процесса с вовлечением большого числа иммунокомпетентных клеток. Вероятно, бактериемия, имеющаяся у пациентов с диссеминированным ТЛ, способствовала развитию более сильного ответа со стороны IL-17A-секретирующих клеток. При этом необходимо отметить, что помимо Th17-лимфоцитов IL-17A-секреторной активностью обладают и другие клетки, играющие важное значение в реакциях врожденного и адаптивного иммунитета, прежде всего – $\gamma\delta$ T-лимфоциты, натуральные киллеры (Natural Killer, NK), инвариантные натуральные киллерные T-лимфоциты (invariant Natural Killer T-lymphocyte, iNKT), врожденные лимфоидные клетки (Innate Lymphoid Cells, ILC) типа 3 и CD8⁺ T-лимфоциты [Chen K., Kolls J.K., 2017; Eyerich K. et al., 2017; Li Y. et al., 2018; Brevi A. et al., 2020; Pan L. et al., 2021; Berry G. et al., 2022; Țiburcă L. et al., 2022; Xie Y. et al., 2022]. Обнаружена способность В-лимфоцитов продуцировать IL-17A в ответ на заражение инфекционными патогенами [Alamino V.A. et al., 2019]. Не исключено, что повышение функциональной активности данных клеток могло способствовать увеличению концентрации IL-17A в крови пациентов, страдающих диссеминированной формой заболевания.

Известно, что на проявление функциональной активности клеток оказывают влияние многие факторы, в том числе микробиологические и генетические особенности штаммов *M. tuberculosis* – вирулентность и антибиотикорезистентность, массивность их инвазии. Зарубежными коллегами продемонстрировано значительное повышение способности клеток секретировать IL-17A при инфицировании лабораторных животных вирулентными штаммами *M. tuberculosis*, тогда как заражение слабо- и авирулентными штаммами не сопровождалось выраженной IL-17A-секреторной

активностью клеток [Li Y. et al., 2018]. Также было отмечено наличие взаимосвязи между вирулентностью микроорганизмов и их способностью формировать устойчивость к лекарственным средствам. Так, наибольшей вирулентностью обладают штаммы бактерий, проявляющие множественную лекарственную устойчивость [Маничева О.А. и соавт., 2011; Гординская Н.А. и соавт., 2021; Geisinger E., Isberg R.R., 2017]. Вероятно, инфицирование пациентов штаммами *M. tuberculosis*, резистентными к противотуберкулезным средствам, и последующее развитие диссеминированной клинической формы заболевания, характеризующейся распространенным характером поражения легочной ткани, обуславливало значительное повышение *in vitro* секреции IL-17A у этой группы больных.

Зарубежными коллегами обнаружена четкая взаимосвязь между уровнем IL-17A в крови больных ТЛ и тяжестью заболевания. Показано, что низкая секреция IL-17A Th17-лимфоцитами сопровождалась выраженными клиническими проявлениями заболевания, плохими результатами лечения и высокой летальностью. И, напротив, улучшение клинического течения заболевания, наблюдавшееся после назначения противотуберкулезной терапии, характеризовалось восстановлением секреции IL-17A [Chen Y.C. et al., 2011; Feng J.-Y. et al., 2021]. Другой группой исследователей установлено, что дефицит IL-17A сопровождается нарушением иммунного ответа на вирулентные штаммы *M. tuberculosis* [Li Y. et al., 2018].

Таким образом, можно предположить, что выявленная гиперсекреция IL-17A *in vitro* при туберкулезе легких, особенно при самой тяжелой форме заболевания, рассматриваемой в настоящем исследовании – диссеминированном лекарственно-устойчивом ТЛ – носит компенсаторный характер со стороны иммунокомпетентных клеток. Иницируя защитные механизмы на ранних этапах развития воспалительного процесса, рекрутируя клетки врожденного и адаптивного иммунного ответа в места скопления *M. tuberculosis*, IL-17A способствует образованию гранулемы и играет критическую роль в предотвращении распространения инфекции [Li Y. et al., 2018; Nikitina I.Yu. et

al., 2018; Shen H., Chen Z.W., 2018; Shanmugasundaram U. et al., 2020].

Еще одним функционально важным цитокином Th17-лимфоцитов является IL-22. Обладая синергическими эффектами с IL-17A в отношении развития воспалительного процесса, данный цитокин также принимает участие в реализации защитных реакций тканей от повреждений, способствуя их регенерации и заживлению [Насонов Е.Л. и соавт., 2019]. Мигрирующие в очаг воспалительного процесса IL-22-продуцирующие клетки стимулируют эпителиальные клетки дыхательных путей к секреции белков регенерации Reg3A и Reg3 γ , опосредующих восстановление слизистой оболочки и поддержание ее барьерных функций [Шустова С.А., Мирошкина Т.А., 2020; Ronacher, K. et al., 2018; Ito T. et al., 2019; Tripathi D. et al., 2019; Imperiale B.R. et al., 2021; Gupta S. et al., 2022]. Кроме того, обнаружена способность IL-22 регулировать экспрессию антиапоптотических генов семейства Bcl-2 – *BCL-XL* и *MCL-1*, и пролиферативных факторов – циклина D1, c-Мус, играя тем самым важную роль в процессах выживания и пролиферативной активности клеток [Шустова С.А., Мирошкина Т.А., 2020; Nikoosour E. et al., 2015; Eyerich K. et al., 2017; Gurczynski S.J., Moore B.B., 2018; Nguyen H.M. et al., 2020]. Вовлечение IL-22 в реализацию протективных иммунных реакций обусловлено способностью цитокина индуцировать альвеолярные эпителиальные клетки и макрофаги к продукции антибактериальных пептидов, включая β -дефензин-2 и -3, пептиды семейства S100, липокалин-2, калгранулин А, приводящие к нарушению структуры и повреждению клеточной мембраны *M. tuberculosis* [Shen H., Chen Z.W., 2018]; а также привлечением нейтрофилов за счет регуляции экспрессии хемокинов CXCL1 и CXCL5 активированными эпителиальными клетками [Dudakov J.A. et al., 2015; Makatsa M.S. et al., 2022]. Установлено, что под действием IL-22 в инфицированных *M. tuberculosis* макрофагах усиливается фаголизосомальное слияние, приводящее к ограничению внутриклеточного роста возбудителя и его последующей элиминации [Ronacher K. et al., 2018; Tripathi D. et al., 2019; Liu Q. et al., 2021; Narinyan W. et al., 2022]. Показана способность IL-22 индуцировать секрецию макрофагами важного медиатора

клеточного иммунного ответа – провоспалительного цитокина $\text{TNF}\alpha$ (Рисунок 24) [Treerat P. et al., 2017; Yu Z.Q. et al., 2019; Imperiale B.R. et al., 2021].

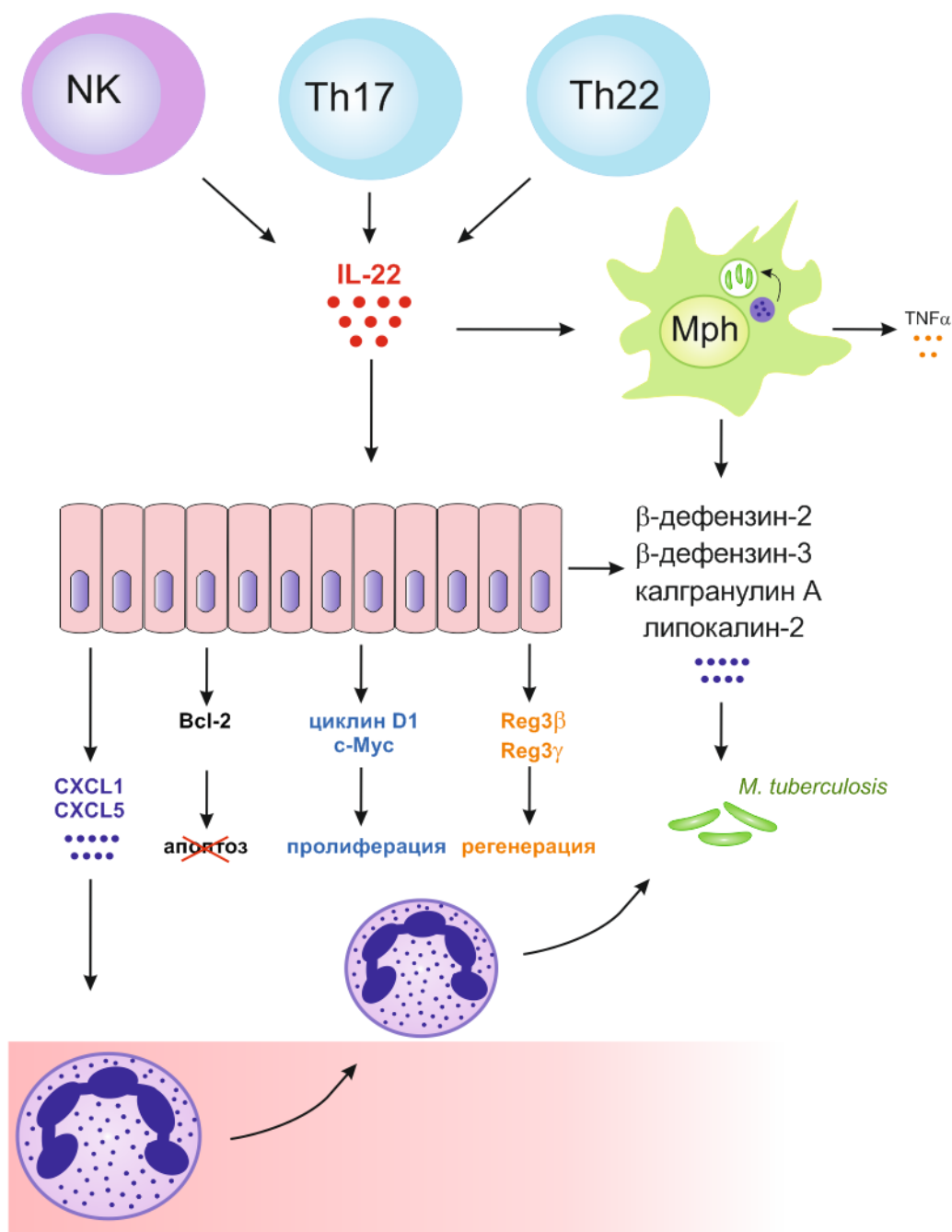


Рисунок 24 – Биологические эффекты IL-22 в реализации антимикобактериального иммунитета (оригинальная схема, составленная с использованием данных литературы)

Примечание. Bcl-2 – белки, регулирующие апоптоз; c-Мус – фактор транскрипции, регулирующий пролиферацию; NK (Natural Killer) – натуральный киллер; Reg3 – белки, принадлежащие к регенерирующим лектинам С-типа.

Учитывая вышеизложенное, регистрируемое в настоящем исследовании повышение IL-22-секреторной активности клеток у пациентов с ТЛ (вне зависимости от клинической формы заболевания и устойчивости *M. tuberculosis* к средствам противотуберкулезной терапии) (Таблица 12) во взаимосвязи с увеличением количества Th17-лимфоцитов (что подтверждается положительной взаимосвязью между относительным и абсолютным числом Th17-лимфоцитов и базальным уровнем секреции IL-22, $r=0,84$, $p<0,05$; $r=0,57$, $p<0,05$ соответственно) способствует усилению антимикобактериального иммунитета. Контролируя рост *M. tuberculosis* и уменьшая тем самым микробную нагрузку организма, защищая ткани бронхоальвеолярного тракта от повреждений, IL-22 вовлекается в механизмы противотуберкулезной защиты организма.

Необходимо отметить, что индукция клеток вакцинным штаммом BCG у пациентов с ТЛ не сопровождалась ответным увеличением секреции Th17-ассоциированных цитокинов – IL-17A и IL-22 *in vitro*, что указывает, как сообщалось ранее, на снижение резерва цитокин-секреторной активности иммунокомпетентных клеток крови в условиях туберкулезной инфекции (Таблица 12).

Таким образом, характеризуя роль Th17-лимфоцитов в развитии иммунного ответа при инфицировании *M. tuberculosis*, необходимо учитывать стадию инфекционно-воспалительного процесса. Острый воспалительный процесс, индуцируемый *M. tuberculosis*, как правило, является самоограничивающимся и при комплементарном функционировании систем врожденного и адаптивного иммунитета с вовлечением Th17-лимфоцитов (на ранних стадиях), опосредующих активацию барьерных функций бронхоальвеолярного тракта, привлечение в очаг воспаления нейтрофилов, макрофагов, дендритных клеток и Th1-лимфоцитов, сопровождается эффективным устранением инфекционного агента и восстановлением тканей. Однако нарушение регуляции иммунного ответа, цитокиновый дисбаланс, стойкая и длительная активация нейтрофилов (в том числе Th17-опосредованная), сопровождаются выраженной деструкцией тканей, выходом

M. tuberculosis во внеклеточное пространство, диссеминацией и прогрессированием воспалительного процесса с переходом в хроническую форму, а в ряде случаев развитием синдрома системного воспалительного ответа.

Необходимо также отметить важное значение в развитии протективных иммунных реакций на *M. tuberculosis* антигенспецифических Th17-клеток памяти, формирующихся в ходе иммунного ответа. При повторном попадании в организм патогена антигенспецифические Th17-клетки памяти вовлекаются на самых ранних этапах иммунного ответа и способствуют повышению его эффективности. В этой связи перспективным является разработка вакцин нового поколения, способных индуцировать сильный Th17-ответ в дополнение к ответу со стороны Th1-лимфоцитов [Chen K., Kolls J.K., 2017; Scriba T.J. et al., 2020; Shanmugasundaram U. et al., 2020; Ryter K.T. et al., 2020].

В ряде зарубежных работ сообщается, что использование новых адъювантов сопровождается повышением эффективности применяемого в настоящее время вакцинного штамма BCG. Так, мощным адъювантом является синтетический аналог микобактериального корд-фактора TDM (Trehalose-6,6-dimycolate) – гликолипид TDB (Trehalose-6,6-dibehenate), способный *in vivo* активировать Th1- и Th17-лимфоциты. Связывание гликолипида TDB с лектиновым рецептором С-типа – Mincle (Macrophage-inducible C-type lectin) на поверхности антигенпрезентирующих клеток приводит к запуску сигнального FcR γ -Syk-Card9-пути, активации клеток и секреции ими IL-1. В свою очередь, IL-1 активирует MyD88-зависимый каскад в иммунокомпетентных клетках, приводящий к транскрипции генов провоспалительных цитокинов и хемокинов – IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 β , IL-18, TNF α и реализации Th1- и Th17-иммунных ответов [Desel C. et al., 2013; Schick J. et al., 2023]. Другой группой исследователей показано, что вирулентные штаммы *M. tuberculosis* H37Rv, экспрессируя на клеточной стенке антигенный компонент – ESAT (Early Secreted Antigenic Target protein) 6, который отсутствует в вакцинном штамме BCG, индуцируют ответ со стороны Th17-лимфоцитов. Установлено, что белок ESAT-

6, активируя TLR-2/MyD88-сигнальную систему, приводит к секреции дендритными клетками ключевых цитокинов дифференцировки Th17-лимфоцитов – IL-6 и TGF β . По мнению авторов, антигенный компонент ESAT-6 необходимо рассматривать как потенциальную субъединичную вакцину от туберкулеза, необходимую для активации Th17-иммунного ответа и достижения тем самым наибольшей эффективности проводимой вакцинации [Chatterjee S. et al., 2011; Woodworth J.S. et al., 2021].

Накопленные на данный момент знания свидетельствуют о том, что для каждой субпопуляции CD4⁺ Т-лимфоцитов требуются определенные условия их индукции и характерен отличительный цитокиновый профиль. Вместе с тем исследованиями последних лет выявлено наличие выраженной гетерогенности и фенотипической пластичности популяций Th-лимфоцитов. Установлено, что при различных условиях клетки, проходящие этапы дифференцировки, могут принимать гибридные фенотипы, коэкспрессируя транскрипционные факторы и цитокины разных клонов Th-лимфоцитов. Более того, в отличие от лабораторных животных, иммунная система человека подвергается постоянному и разнообразному воздействию антигенов, что отражается в большей степени гетерогенности и пластичности Th-лимфоцитов у людей. Относительно недавно показано, что «наивные» CD4⁺ Th-лимфоциты способны дифференцироваться в смешанный фенотип клеток – Th17/Th1-лимфоциты (или Th17.1-лимфоциты), коэкспрессируя специфические для Th17- и Th1-лимфоцитов транскрипционные факторы – RORC2 и T-bet соответственно и цитокины обоих типов – IL-17A и IFN γ [Eizenberg-Magara I. et al., 2017; Eyerich K. et al., 2017; Uchiyama R. et al., 2017; Lyadova I., Nikitina I., 2019; Saravia J. et al., 2019; Shanmugasundaram U. et al., 2020; Belpaire A. et al., 2022].

При исследовании малой (гетерогенной) субпопуляции Th17/Th1-лимфоцитов установлено повышение ее численности (как относительных, так и абсолютных значений) в крови у пациентов, имеющих инфильтративную клиническую форму заболевания (независимо от спектра лекарственной чувствительности возбудителя) (Таблица 6). Th17/Th1-лимфоциты в отношении

секреции цитокинов обладают уникальными особенностями – они могут одновременно проявлять функциональную активность Th17- и Th1-клеток. Учитывая выраженные биологические эффекты $IFN\gamma$ в отношении индукции эффекторных функций макрофагов, натуральных киллеров, антигенспецифических $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитов и поддержания, тем самым, реакций клеточного иммунного ответа, становится очевидным важное значение этих клеток в реализации противотуберкулезной резистентности организма [Баласанянц Г.С., Рузанов Д.Ю., 2022; Шовкун Л.А., Кудлай Д.А., 2023; Kak G. et al., 2020; Ghanavi J. et al., 2021; Tan Y. et al., 2021; Berns S.A. et al., 2022; Madrid-Paulino E. et al., 2022; Van Dis E. et al., 2022; Álvarez G.I. et al., 2023; Chen Y. et al., 2023; Kiflie A. et al., 2023; Wei J. et al., 2023]. Так, экспериментальными работами показано, что инфицирование лабораторных животных *M. tuberculosis* сопровождается достаточно быстрым появлением и длительным сохранением в дыхательных путях $IL-17A^+IFN\gamma^+$ Т-лимфоцитов, способствующих предотвращению роста и размножения возбудителя [Shanmugasundaram U. et al., 2020]. Не исключено, что отсутствие повышения количества Th17/Th1-лимфоцитов в крови у пациентов с диссеминированным ТЛ обусловлено их сосредоточением и накоплением в местах персистенции *M. tuberculosis* – слизистой оболочке дыхательных путей для осуществления борьбы с инфекцией.

Зарубежными коллегами установлено, что присутствие в дыхательных путях инфицированных *M. tuberculosis* животных $IL-17A^+$ (Th17-лимфоцитов) и $IL-17A^+IFN\gamma^+$ (Th17/Th1-лимфоцитов) Т-клеток, в дополнение к антигенспецифическим $IFN\gamma^+$ Т-клеткам (Th1-лимфоцитам), сопровождалось менее выраженными клиническими проявлениями инфекционно-воспалительного процесса, а в ряде случаев латентным течением заболевания. Это, по мнению авторов, указывает на взаимосвязь между сбалансированными реакциями со стороны Th1-, Th17-, Th17/Th1-лимфоцитов и иммунным контролем инфекции [Shanmugasundaram U. et al., 2020].

Примечательно, что исследование $IFN\gamma$ -секреторной активности клеток *in vitro* позволило установить выраженное ее увеличение (как базальной, так и

индуцированной антигеном) во всех группах обследованных лиц. При этом стимуляция клеток вакцинным штаммом BCG сопровождалась увеличением секреции (относительно базального уровня) исследуемого цитокина не только у здоровых доноров, но и у пациентов, имеющих инфильтративную форму заболевания (Таблица 12). Значительное увеличение базальной и индуцированной антигеном секреции ключевого провоспалительного цитокина – $\text{IFN}\gamma$ *in vitro* свидетельствует о повышенной реактивности иммунокомпетентных клеток и, по-видимому, является универсальной защитной реакцией на инфицирование *M. tuberculosis*. В свою очередь, у пациентов с инфильтративным лекарственно-чувствительным и лекарственным-устойчивым ТЛ увеличение секреции $\text{IFN}\gamma$ *in vitro* могло быть обусловлено повышением количества Th17/Th1-лимфоцитов в крови и их функциональной активности, что подтверждается положительной взаимосвязью между относительным и абсолютным содержанием $\text{CD4}^+\text{IL-17A}^+\text{IFN}\gamma^+$ клеток и базальным уровнем секреции цитокина ($r=0,84$, $p<0,05$; $r=0,94$, $p<0,05$ соответственно).

Вместе с тем, на фоне гиперсекреции $\text{IFN}\gamma$ у пациентов с туберкулезом легких, как указывалось ранее, имеются нарушения в реализации механизмов врожденного и адаптивного иммунитета. Предполагается, что несостоятельность антимикобактериального иммунного ответа обусловлена главным образом тем, что под действием *M. tuberculosis* в инфицированных макрофагах снижается экспрессия мРНК рецептора к $\text{IFN}\gamma$, что приводит к дефициту $\text{IFN}\gamma\text{R}$ на поверхности клеток и, несмотря на достаточную секрецию данного цитокина иммунокомпетентными клетками, его эффекты в отношении макрофагов (усиление их миграции и экспрессии молекул МНС II типа; индукция слияния фагосом и лизосом; повышение завершенности фагоцитоза и микробицидной активности) оказываются слабо реализованными [Баласанянц Г.С., Рузанов Д.Ю., 2022; Li Y. et al., 2019; Kak G. et al., 2020].

Осуществление иммунологической защиты при попадании в организм *M. tuberculosis* непосредственно связано с вовлечением факторов «первой линии защиты», где главенствующая роль, помимо макрофагов и дендритных клеток,

отводится малой субпопуляции – $\gamma\delta$ T-лимфоцитам [Wei J. et al., 2023]. Широко представленные в слизистых оболочках бронхоальвеолярного тракта, $\gamma\delta$ T-клетки одними из первых активируются при инфицировании *M. tuberculosis* и инициируют антибактериальный иммунитет. При этом в периферической крови количество данных клеток не превышает 5% [El Daker S. et al., 2013; Li Y. et al., 2019].

В настоящем исследовании установлено снижение содержания $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в крови у пациентов с инфильтративным лекарственно-чувствительным (в случае абсолютного количества) и лекарственно-устойчивым ТЛ. Примечательно, что у пациентов с диссеминированной клинической формой заболевания (вне зависимости от лекарственной чувствительности *M. tuberculosis*) содержание $\gamma\delta$ T-клеток в крови соответствовало показателям у здоровых добровольцев (Таблица 8).

Выраженные иммунобиологические эффекты $\gamma\delta$ T-лимфоцитов обусловлены их способностью участвовать в реакциях врожденного и адаптивного иммунного ответа. Быстрое вовлечение этих клеток в локальный иммунитет обеспечивается способностью $\gamma\delta$ T-лимфоцитов распознавать микробные антигены без участия корецепторных молекул CD4 и CD8, то есть без ограничения по МНС (без предварительной презентации молекулами МНС), а также возможностью идентифицировать непептидные чужеродные молекулы [Michal M. et al., 2017; Chen H. et al., 2018; Hayday A.C., 2019; Guo J. et al., 2024; Wei J. et al., 2024].

Реализация $\gamma\delta$ T-клетками специфических функций осуществляется через эффекторные реакции, опосредуемые механизмами цитотоксичности. Так, разрушение инфицированных *M. tuberculosis* клеток, а также уничтожение внеклеточно расположенных бактерий происходит за счет секреции $\gamma\delta$ T-лимфоцитами цитолитических молекул (гранзимов А и В, гранулизина, перфорины и катепсина) [Авербах М.М. и соавт., 2018]. Вместе с тем, стимулированные *M. tuberculosis* $\gamma\delta$ T-клетки продуцируют провоспалительные цитокины (IFN γ , TNF α , IL-17A), опосредующие регуляцию и формирование

антигенспецифического адаптивного иммунного ответа [Шустова С.А., Мирошкина Т.А., 2020; Hayday A.C., 2019; Li Y. et al., 2019; Muro R. et al., 2019]; участвуют в поддержании антигенного гомеостаза, жизнеспособности и функциональной активности эпителиальных клеток слизистых оболочек; а также, секретируя факторы роста (Keratinocyte Growth Factor (KGF) 1 и 2, Insulin-related Factor (IRF) 1), вовлекаются в регенеративные процессы эпителия дыхательных путей [Нижегородова Д.Б., Зафранская М.М., 2009; Chen X.M. et al., 2018]. В исследованиях *in vitro* установлено, что микобактериальный антиген – белок Rv0002 вызывает не только активацию, но и стимулирует пролиферацию $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов у пациентов с туберкулезом легких, что способствует более выраженному иммунологическому контролю инфекционного процесса [Li Y. et al., 2019].

Ряд коллег сообщает, что наиболее ранними продуцентами IL-17A в инфицированном *M. tuberculosis* [Lockhart E. et al., 2006] и *M. bovis* [Umemura M. et al., 2007] легком лабораторных животных являются $\gamma\delta$ Т-лимфоциты. Предполагается, что IL-17A-секреторная активность $\gamma\delta$ Т-клеток способствует усилению ответа со стороны Th17-лимфоцитов в процессе реализации адаптивного иммунного ответа, однако механизмы, лежащие в основе этого, пока не известны [Cua D.J., Tato C.M., 2010; Li Y. et al., 2018; Iwanaga N., Kolls J.K., 2019; O'Hara J.M. et al., 2023].

Не исключено, что значительное повышение концентрации IL-17A и IFN γ *in vitro* у пациентов с диссеминированным туберкулезом легких обусловлено функциональной активностью $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов, о чем свидетельствуют выявленные положительные корреляционные взаимосвязи между относительным и абсолютным содержанием $\gamma\delta$ TCR⁺ клеток в крови и базальным уровнем *in vitro* секреции IL-17A ($r=0,70$, $p<0,05$; $r=0,55$, $p<0,05$ соответственно) и IFN γ ($r=0,84$, $p<0,05$; $r=0,61$, $p<0,05$ соответственно).

Можно предположить, что снижение количества $\gamma\delta$ Т-клеток в крови у пациентов с инфильтративным ТЛ является результатом их преимущественного скопления в лимфоидной ткани слизистых оболочек бронхоальвеолярного

тракта для реализации своей защитной функции. В свою очередь, нормальное содержание $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в крови у пациентов с диссеминированным ТЛ можно рассматривать как компенсаторную протективную реакцию со стороны иммунной системы, направленную на элиминацию *M. tuberculosis*, находящихся в крови, поскольку данная клиническая форма заболевания характеризуется гематогенным путем распространения инфекции и наличием бактериемии.

Известно, что устойчивость организма к туберкулезной инфекции требует тонкого баланса в иммунной системе между ее провоспалительными эффектами, контролирующими репликацию и размножение возбудителя, и противовоспалительной регуляцией, предотвращающей избыточную активацию иммунокомпетентных клеток [Safar H.A. et al., 2020; Van Dis E. et al., 2022]. При этом центральным звеном, контролирующим продолжительность и силу иммунного ответа, а также способствующим формированию иммуносупрессии у пациентов с ТЛ, является субпопуляция специализированных регуляторных клеток – Treg-лимфоцитов [Cardona P., Cardona P.J., 2019; Ohue Y., Nishikawa H., 2019; Ahmed A., Vyakarnam A., 2020; Yu X. et al., 2022; Lozano-Ordaz V. et al., 2023].

Как сообщалось ранее, в настоящем исследовании из всех обследованных групп только у пациентов с диссеминированным лекарственно-устойчивым ТЛ установлено повышение числа (относительного и абсолютного) Treg-клеток (Таблица 8).

Известно, что подавление иммунного ответа Treg-клетками осуществляется за счет разнообразных механизмов. Так, ингибирование функций антигенпрезентирующих клеток опосредуется экспрессией молекулы CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated protein 4, CD152). Взаимодействуя с корецепторами CD80 и CD86 на поверхности дендритных клеток, CTLA-4 вызывает нарушение их созревания, блокирование активационного сигнала (связывание CD80/86 с CD28 на поверхности Т-лимфоцита) и ослабление активации Т-лимфоцитов [Yan J.-B. et al., 2020; Zhang Y. et al., 2021; Chen Y. et al., 2023]. Также установлено, что взаимодействие CTLA-4 с CD80/86 приводит

к активации фермента индолеамин-2,3-диоксигеназы (Indoleamine-2,3-Dioxygenase, IDO) в дендритных клетках, что сопровождается ускоренным катаболизмом незаменимой аминокислоты – триптофана с образованием кинуренина, обладающего выраженным иммунодепрессивным эффектом (за счет снижения выработки IL-2 и индукции апоптоза) в отношении Т-лимфоцитов [Козлов В.А., Демина Д.В., 2017; Ohue Y., Nishikawa H., 2019; Lozano-Ordaz V. et al., 2023; Wang L. et al., 2023]. Угнетение антиген-зависимой пролиферации и дифференцировки эффекторных Т-клеток осуществляется Treg-лимфоцитами за счет значительной экспрессии высокоаффинного рецептора к IL-2 (α -цепь рецептора IL-2) – молекулы CD25 и конкурентного связывания цитокина [Knochelmann H.M. et al., 2018; Cardona P., Cardona P.J., 2019; Ohue Y., Nishikawa H., 2019].

Кроме того, негативную регуляцию функций иммунной системы Treg-клетки осуществляют, секретируя иммуносупрессорные цитокины – TGF β , IL-10 и IL-35 [Ogawa C. et al., 2018; Zhang Y. et al., 2021; Jain R. et al., 2023]. Экспрессируя на поверхности молекулу CD154 (FasL), продуцируя перфорин и гранзимы А и В, Treg-лимфоциты способствуют запуску Fas-индуцированного и перфорин-гранзимового апоптоза иммунокомпетентных клеток [Zhang Y. et al., 2021].

Таким образом, учитывая значительный иммуносупрессорный потенциал Treg-клеток, повышенное их содержание в крови у пациентов с диссеминированным ТЛ, характеризующимся выраженными деструктивными процессами в легочной ткани и распространенным характером ее поражения в сочетании с лекарственной резистентностью *M. tuberculosis*, может способствовать более тяжелому и длительному клиническому течению заболевания.

На данным момент открытым остается вопрос – что является первичным – массивность и вирулентность инфицирующих штаммов *M. tuberculosis*, опосредующих выраженные нарушения со стороны иммунной системы, или же имеющаяся у пациентов иммунная дисфункция, способствующая активному и

агрессивному размножению возбудителя заболевания в организме [Баласанянц Г.С., Рузанов Д.Ю., 2022].

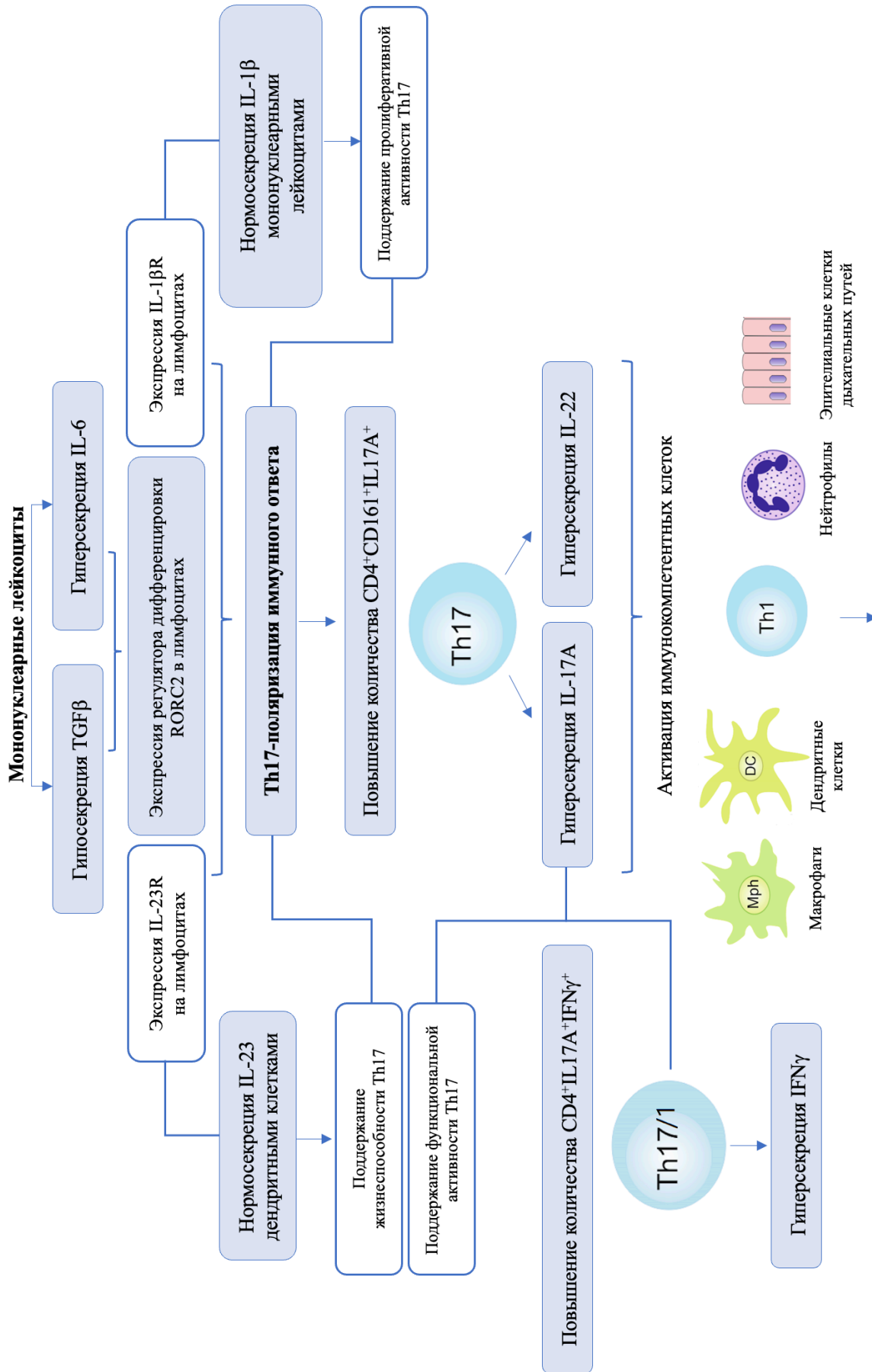
В последние десятилетия проблема антибиотикорезистентности занимает одну из ключевых позиций в системе общественного здравоохранения во всем мире и требует особого внимания со стороны медицинского сообщества [Гординская Н.А. и соавт., 2021]. Биологическим свойствам *M. tuberculosis*, особенно ее лекарственной устойчивости, отводится важное значение в основе формирования Т-клеточного дефицита, регистрируемого у больных туберкулезом. Известно, что резистентные к средствам этиотропной терапии штаммы *M. tuberculosis* в большей степени подавляют функции Т-лимфоцитов и АПК за счет прямого или опосредованного (через стимуляцию продукции иммуносупрессорных цитокинов) воздействия, усугубляя тем самым иммунологическую недостаточность [Geisinger E., Isberg R.R., 2017; Li Y. et al., 2018; Alaminio V.A. et al., 2019; Rani A. et al., 2022; Lozano-Ordaz V. et al., 2023].

В этой связи, установленное в настоящем исследовании повышение содержания Th17-лимфоцитов (особенно в случае лекарственной резистентности возбудителя) в крови у пациентов с инфильтративным ТЛ, на наш взгляд, может способствовать более благоприятному течению инфекционного процесса. Компенсируя функциональную неполноценность Th1-лимфоцитов, привлекая в очаг воспалительного процесса клетки врожденного иммунитета (макрофаги и нейтрофилы), активируя эпителиальные клетки, Th17-лимфоциты способствуют формированию защитных иммунных реакций на уровне бронхоальвеолярного тракта при инфицировании *M. tuberculosis*. Подобная компенсаторная реакция со стороны Th17-лимфоцитов особенно важна для пациентов с лекарственно-устойчивым ТЛ, учитывая выраженный цитотоксический эффект в отношении иммунокомпетентных клеток крови, резистентных к противотуберкулезным средствам штаммов *M. tuberculosis* (Рисунок 25).

В свою очередь у пациентов с диссеминированной клинической формой ТЛ отсутствие ответа со стороны Th17-лимфоцитов на фоне активации Treg-

лимфоцитов (в случае лекарственной устойчивости *M. tuberculosis*) свидетельствует о более выраженных нарушениях в механизмах иммунной защиты и может способствовать формированию иммуносупрессии, что, безусловно, ухудшает прогноз не только течения, но и излечения заболевания (Рисунок 26).

Учитывая, что Th17- и Treg-лимфоциты имеют общие пути дифференцировки и в популяции людей обладают более выраженной пластичностью, особый интерес вызывает изучение молекулярных механизмов возможного перепрограммирования данных клеточных линий. Так, обнаружены Treg-клетки, подобные Th17-лимфоцитам, которые одновременно экспрессируют факторы транскрипции FoxP3 и ROR γ t [Насонов Е.Л. и соавт., 2019; Xu T. et al., 2017; Saravia J. et al., 2019; Mickael M.E. et al., 2020; Zhang W. et al., 2021]. Учитывая выраженную иммуносупрессорную активность Treg-клеток, преобразование их в Th17-лимфоциты может способствовать восстановлению баланса иммунной системы, что особенно важно в патогенезе инфекционных заболеваний и может иметь потенциальное клиническое применение в разработке новых терапевтических подходов в лечении ТЛ.



Формирование противотуберкулезной резистентности организма

Рисунок 25 – Механизмы Th17 -поляризации иммунного ответа у пациентов с инфильтративным туберкулезом легких по данным литературы и результатам собственных исследований (выделено цветом)

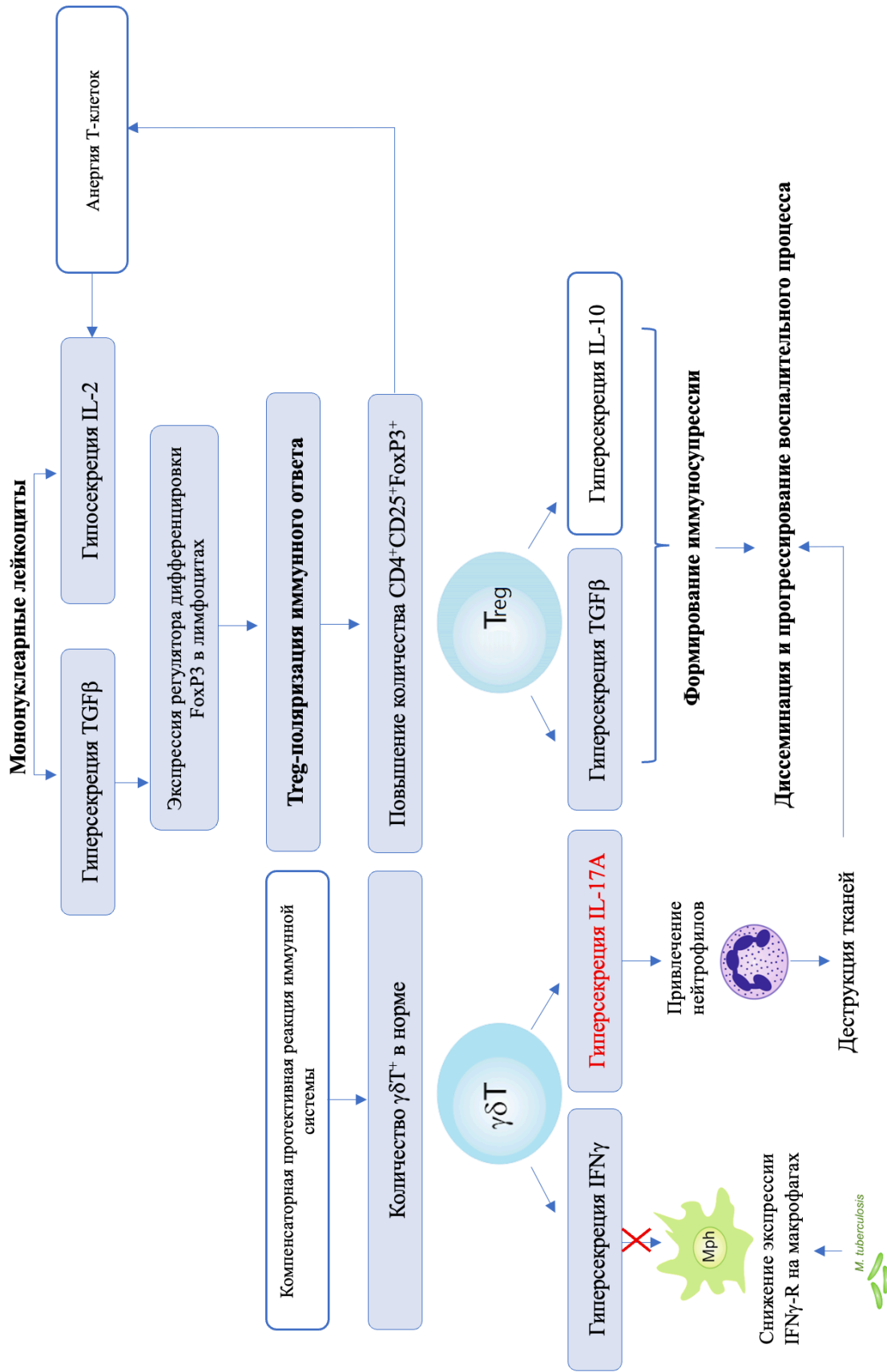


Рисунок 26 – Механизмы Трег-поляризации иммунного ответа у пациентов с диссеминированным лекарственно-устойчивым туберкулезом легких по данным литературных исследований (выделено цветом)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании результатов проведенного исследования можно заключить, что при инфицировании *M. tuberculosis* развитие иммунопатологических реакций в организме больных ТЛ сопровождается изменением соотношения малых субпопуляций хелперных Т-клеток крови – Th17-лимфоцитов ($CD4^+CD161^+IL-17A^+$) и Treg ($CD4^+CD25^+FoxP3^+$). Изучение молекулярно-генетических факторов дифференцировки этих клеток позволило установить, что у пациентов с инфильтративным лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым ТЛ низкая концентрация TGF β в сочетании с гиперсекрецией IL-6 стимулируют экспрессию регулятора дифференцировки – фактора транскрипции RORC2 и способствуют развитию Th17-лимфоцитов. Нормопродукция IL-1 β и IL-23 оказывает влияние на развитие Th17-лимфоцитов, усиливая эффекты TGF β и IL-6, стабилизируя фенотип, поддерживая жизнеспособность и созревание (в случае IL-23) этих клеток. У пациентов с диссеминированным лекарственно-резистентным ТЛ поляризация иммунного ответа происходит в направлении Treg-клеток при участии TGF β . Высокий уровень секреции TGF β инициируют экспрессию регулятора дифференцировки этих клеток – фактора транскрипции FoxP3 и в условиях низкой концентрации IL-6 предрасполагает к развитию Treg-лимфоцитов. Течение лекарственно-чувствительного диссеминированного ТЛ не сопровождается изменением численности Th17-лимфоцитов и Treg-клеток.

Повышение содержания Th17-лимфоцитов в крови при туберкулезе легких в сочетании с увеличением численности гетерогенной субпопуляции Th17/Th1-лимфоцитов ($CD4^+IL-17A^+IFN\gamma^+$ клеток у больных инфильтративным ТЛ) и гиперсекрецией их основных цитокинов – IL-17A, IL-22 и IFN γ свидетельствует о вовлечении клеток в реализацию механизмов противотуберкулезного иммунитета. При этом снижение содержания $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов ($\gamma\delta TR^+$ клеток) в крови у этих пациентов может являться следствием их скопления в лимфоидной

ткани слизистых оболочек бронхоальвеолярного тракта для осуществления защитной функции. В свою очередь у пациентов с диссеминированным ТЛ высокие концентрации IL-17A, IL-22 и IFN γ свидетельствуют о предположительном вкладе других субпопуляций иммунокомпетентных клеток, в частности $\gamma\delta$ T-лимфоцитов, в реализацию протективных иммунных реакций.

Перспективы дальнейшего практического использования полученных результатов

Принимая во внимание тот факт, что экспансия *M. tuberculosis* и развитие клинической картины туберкулеза легких, с одной стороны, определяются биологическими особенностями возбудителя заболевания, а с другой – состоянием иммунологической реактивности организма, полученные в ходе настоящего исследования данные существенно расширяют имеющиеся представления о механизмах противотуберкулезной защиты организма. Установление вклада малых субпопуляций Т-лимфоцитов в развитие иммунопатологии и формирование протективных иммунных реакций в дальнейшем позволит рассматривать данные клеточные линии и продуцируемый ими широкий спектр цитокинов в качестве возможных диагностических маркеров иммунодефицитных состояний, сопровождающих течение инфекционного процесса, а также перспективных мишеней для разработки комплексных подходов в лечении туберкулеза легких с применением иммунотерапии (прежде всего, для пациентов, имеющих диссеминированную клиническую форму заболевания с лекарственной резистентностью *M. tuberculosis*), методов генотерапии (учитывая фенотипическую пластичность малых субпопуляций Th17-, Th17/Th1-лимфоцитов и Treg-клеток с возможностью перепрограммирования процессов дифференцировки последних для поляризации иммунного ответа в направлении Th17) и вакцин нового

поколения (в том числе субъединичных вакцин), в которых в дополнение к стимуляции функциональной активности Th1-лимфоцитов осуществлялась бы активация ответа со стороны Th17-лимфоцитов, способствующая формированию наибольшей эффективности проводимой вакцинации в целях иммунопрофилактики туберкулеза легких.

ВЫВОДЫ

1. При туберкулезе легких характер дисбаланса малых субпопуляций Т-лимфоцитов крови связан с клинической формой заболевания и проявляется при инфильтративной форме (вне зависимости от лекарственной чувствительности возбудителя) увеличением количества протективных фенотипов $CD4^+CD161^+IL-17A^+$ и $CD4^+IL-17A^+IFN\gamma^+$ клеток, а при диссеминированной форме заболевания с лекарственной резистентностью возбудителя – доли $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ клеток с иммуносупрессорной активностью.
2. У больных инфильтративным туберкулезом легких увеличение количества $CD4^+CD161^+IL-17A^+$ в крови (наибольшее в случае лекарственной устойчивости *M. tuberculosis*) обусловлено повышением экспрессии мРНК фактора транскрипции RORC2 в условиях дефицита $TGF\beta$ в сочетании с гиперсекрецией $IL-6$ *in vitro*.
3. У больных диссеминированным лекарственно-устойчивым туберкулезом легких Тreg-поляризация иммунного ответа развивается вследствие увеличения экспрессии мРНК фактора транскрипции FoxP3 в лимфоцитах на фоне гиперсекреции $TGF\beta$ в сочетании с дефицитом $IL-2$.
4. Ведущими цитокинами, определяющими *in vitro* дифференцировку Т-лимфоцитов в направлении Th17, у пациентов с туберкулезом легких являются $IL-6$ (в высокой концентрации) и $TGF\beta$ (в низкой концентрации) при физиологическом уровне секреции других регуляторных цитокинов – $IL-1\beta$ и $IL-23$.
5. Повышение базальной *in vitro* секреции Th17-цитокинов – $IL-17A$ и $IL-22$ у больных туберкулезом легких (вне зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной устойчивости *M. tuberculosis*) свидетельствует о высокой активности Th17-ассоциированных механизмов противотуберкулезной защиты организма.

6. При диссеминированном лекарственно-резистентном варианте заболевания активация секреции Th17-цитокинов компенсирует Treg-ассоциированную супрессию иммунного ответа.
7. У больных туберкулезом легких отсутствие ответной IL-17A- и IL-22-секреторной реакции клеток в ответ на дополнительную антигенную стимуляцию (BCG) указывает на истощение функционального резерва и снижение антиген-индуцированной реактивности Th17-, Th17/Th1- и $\gamma\delta$ T-лимфоцитов.
8. Увеличение численности малой гетерогенной субпопуляции Th17/Th1-лимфоцитов ($CD4^+IL-17A^+IFN\gamma^+$ клеток) в крови у больных инфильтративным туберкулезом легких взаимосвязано с повышением базальной *in vitro* секреции $IFN\gamma$ при снижении содержания $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в периферическом кровотоке.
9. Содержание $\gamma\delta$ TR-позитивных клеток в крови у пациентов с диссеминированным лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких коррелирует с базальной гиперсекрецией маркерных провоспалительных цитокинов – IL-17A и $IFN\gamma$ *in vitro*.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АПК	–	антигенпрезентирующая клетка
ВИН	–	вторичная иммунологическая недостаточность
ДК	–	дендритные клетки
кДНК	–	комплементарная ДНК
ИФА	–	иммуноферментный анализ
ЛУ	–	лекарственно-устойчивый
ЛЧ	–	лекарственно-чувствительный
ПТС	–	противотуберкулезные средства
ПЦР	–	полимеразная цепная реакция
ТЛ	–	туберкулез легких
ФМА	–	4-форбол-12-миристат-13-ацетат
AP-1	–	Activator Protein-1 – активирующий протеин 1, фактор транскрипции
Bd2	–	β -defensin-2 – β -дефензин-2
BCG	–	<i>Bacillus Calmette–Guérin</i> – вакцинный штамм БЦЖ
Bcl-2	–	B-Cell Leukemia/Lymphoma 2 – белки, регулирующие апоптоз
CCR6	–	C-C chemokine receptor type 6 – C-C-рецептор хемокина 6
CD	–	Cluster of Differentiation – кластер дифференцировки
c-Myc	–	Proto-oncogene c-Myc – фактор транскрипции, регулирующий пролиферацию
CTLA4	–	Cytotoxic T-lymphocyte-associated Antigen 4 – цитотоксический ассоциированный с Т-лимфоцитами белок 4
CXCL	–	C-X-C motif Chemokine Ligand – хемокин семейства CXС
CXCR	–	C-X-C Chemokine Receptor – CXС хемокиновый рецептор
DC	–	Dendritic Cell – дендритная клетка
FGF	–	Fibroblast Growth Factor – фактор роста фибробластов
FoxP3	–	Forkhead Box P3 – белок скурфин, фактор транскрипции

G-CSF	–	Granulocyte Colony Stimulating Factor – гранулоцитарный колониестимулирующий фактора
GM-CSF	–	Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
gp 130	–	Glycoprotein 130 – β -цепь рецептора для IL-6
$\gamma\delta$ TCR	–	$\gamma\delta$ T-Cell Receptor – $\gamma\delta$ T-клеточный рецептор
HLA	–	Human Leukocyte Antigens – антигены лейкоцитов человека
ICAM	–	Intercellular Adhesion Molecule – молекула межклеточной адгезии
IFN	–	Interferon – интерферон
IKK	–	Inhibitor of κ B (IkB) Kinase Complex – комплекс киназ, расщепляющий IkB
IL	–	Interleukin – интерлейкин
ILC	–	Innate Lymphoid Cells – врожденные лимфоидные клетки
IL-1RAcP	–	IL-1 Receptor Accessory Protein – вспомогательный белок для связывания IL-1
IL4I1	–	IL-4-induced gene 1 – IL-4-индуцирующий ген, фактор транскрипции
IL-6R α	–	Interleukin 6 receptor α – α -цепь рецептора для IL-6
IL-23R	–	Interleukin 23 receptor – рецептор для IL-23
iNKT	–	invariant Natural Killer T-lymphocyte – инвариантные натуральные киллерные Т-лимфоциты
IRAK	–	IL-1 Receptor-Associated Kinase – киназы, ассоциированные с рецептором IL-1
IRF4	–	Interferon Regulatory Factor 4 – фактор, регулирующий интерферон 4, фактор транскрипции
IkB	–	Inhibitor of κ B – ингибиторный белок фактора транскрипции NF- κ B
Jak	–	Janus Kinases – тирозиновые киназы семейства Янус
KGF	–	Keratinocyte Growth Factor – фактор роста кератиноцитов
LFA	–	Lymphocyte Function-associated Antigen – антиген, ассоциированный

с лимфоцитами

- Mph – Macrophage – макрофаг
- MHC – Major Histocompatibility Complex – главный комплекс гистосовместимости
- Mincle – Macrophage-inducible C-type lectin – лектиновый рецептор С-типа, активирующий макрофаги
- MIP-3 α – Macrophage Inflammatory Protein-3 α – макрофагальный белок воспаления-3 α
- M. tuberculosis* – *Mycobacterium tuberculosis* – микобактерия туберкулеза
- MyD88 – Myeloid Differentiation primary response protein 88 – адаптерный белок
- NFAT – Nuclear Factor of Activated T Cells – ядерный фактор активации Т-клеток, фактор транскрипции
- NF- κ B – Nuclear Factor kappa of activated B cells – ядерный фактор каппа Б активированных В-клеток, фактор транскрипции
- NIK – NF- κ B-Inducing Kinase – киназа, индуцирующая фактор транскрипции NF- κ B
- NK – Natural Killer – натуральный киллер
- Reg3 – Antimicrobial peptide-regenerating family member 3 – белки, принадлежащие к регенерирующим лектинам С-типа
- ROR – Retinoic acid receptor-related orphan receptor – рецепторы-сироты родственные ретиноидным, фактор транскрипции
- SIP – Standart Isotone Percoll – стандартный изотонический раствор перколла
- Smad – Small mothers against decapentaplegic – фактор транскрипции канонического TGF-зависимого пути
- SOCS – Suppressor of Cytokine Signaling – белок-супрессор передачи цитокиновых сигналов
- STAT – Signal Transducer and Activator of Transcription – трансдуктор сигнала и активатор транскрипции

T-bet	–	T-box expressed in T cells – транскрипционный фактор семейства T-box в T-клетках
TCR	–	T-Cell Receptor – T-клеточный рецептор
Th	–	T-helper – T-лимфоцит-хелпер
TGF	–	Transformed Grows Factor – трансформирующий фактор роста
Tfh	–	T follicular helper – фолликулярные Th-клетки
TLR	–	Toll-like receptor – Toll-подобный рецептор
TNF	–	Tumor Necrosis Factor – фактор некроза опухоли
Treg	–	Regulatory T Lymphocyte – регуляторный T-лимфоцит
TRAF	–	TNF Receptor-associated Factor – фактор, ассоциированный с рецептором фактора некроза опухоли
Tyk	–	Tyrosine Kinase – тирозинкиназа семейства Янус

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абатуров, А.Е. Система неспецифической защиты респираторного тракта. Хемокин CCL20/MIP3 α / А.Е. Абатуров // Теоретическая медицина. – 2011. – Т. 6, № 33. – С. 150–155.
2. Авербах, М.М. Продукция гранулизина, перфорины, кателицидина, витамин Д связывающего протеина, фактора ингибиции миграции макрофагов и интерферона- γ при различных формах туберкулеза органов дыхания детей и подростков / М.М. Авербах, Л.В. Панова, М.Ф. Губкина // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2018. – № 7 – С. 87–94.
3. Активация транскрипционных факторов STAT5 и STAT3 при запуске пролиферации Т-лимфоцитов человека различными митогенными агентами / И.А. Карицкая, Н.Д. Аксенов, В.В. Зенин и др. // Цитология. – 2006. – Т. 48, № 1. – С. 42–49.
4. Баласанянц, Г.С. Иммунотерапевтическая роль интерферона- γ при туберкулезе / Г.С. Баласанянц, Д.Ю. Рузанов // Иммунология. – 2022. – Т. 43, № 3. – С. 343–351.
5. Бояркина, С.И. Детерминанты социально значимых болезней в странах Европы и в России / С.И. Бояркина // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2019. – Т. 12, Вып. 4. – С. 350–367.
6. Вторичная иммунологическая недостаточность у больных туберкулезом легких. Иммунодиагностика и иммунотерапия / Е.Г. Чурина, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, И.Е. Есимова. – Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2013. – 84 с.
7. Галектин-1: роль в формировании особенностей врожденного и приобретенного иммунитета / В.Д. Якушина, О.А. Васильева, Н.В. Рязанцева и др. // Медицинская иммунология. – 2014. – Т. 14, № 1–2. – С. 21–32.

8. Гординская, Н.А. Антибиотикорезистентность как фактор вирулентности условно-патогенных микроорганизмов / Н.А. Гординская, Е.В. Борискина, Д.В. Кряжев // Здоровье населения и среда обитания. – 2021. – Т. 337, № 4. – С. 50–56.
9. Дисбаланс между Т-хелперами 17 типа и Т-регуляторными клетками при хроническом течении саркоидоза / А.С. Эльгухари, Н.М. Лазарева, О.П. Баранова и соавт. // Российский иммунологический журнал. – 2024. – Т. 27, № 4. – С. 47–50.
10. Дисфункции макрофагов, генерированных из моноцитов крови больных туберкулезом легких / Л.В. Сахно, М.А. Тихонова, С.Д. Никонов и др. // Бюллетень сибирского отделения российской академии медицинских наук. – 2010. – Т. 30, № 2. – С. 101–108.
11. Дьяченко, П.А. Роль Th17-клеток в патогенезе аутоиммунных заболеваний / П.А. Дьяченко, А.Г. Дьяченко // Вісник Сумського державного університету. – 2010. – № 2. – С. 14–22.
12. Есимова, И.Е. Роль нарушений рецептор-опосредованной активации Т-клеток в патогенезе иммунологической недостаточности при туберкулезе легких / И.Е. Есимова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий // Бюллетень сибирской медицины. – 2017. – Т. 16, № 2. – С. 114–124.
13. Изменения субпопуляционного состава Т-хелперов 17 типа и цитокинового профиля в зависимости от клинической картины саркоидоза / Н.М. Лазарева, И.В. Кудрявцев, О.П. Баранова и соавт. // Медицинская иммунология. – 2023. – Т. 25, № 5. – С. 1049–1058.
14. Иммунопатология туберкулеза легких / О.В. Воронкова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, А.К. Срелис. – Томск: Изд-во Томского университета, 2007. – 194 с.
15. Ингибиторы ИЛ23/ИЛ17 при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях: новые горизонты / Е.Л. Насонов, Т.В. Коротаева, Т.В. Дубинина, А.М. Лиля // Научно-практическая ревматология. – 2019. – Т. 57, № 4. – С. 400–406.

16. Кетлинский, С.А. Th17 – новая линия дифференцировки Т-хелперов: обзор данных / С.А. Кетлинский // Цитокины и воспаление. – 2009. – № 2. – С. 3–15.
17. Кетлинский, С.А. Цитокины / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев. – СПб. : ООО «Издательство Фолиант», 2008. – 552 с.
18. Козлов, И.Г. Сигнальные рецепторы врожденного иммунитета: новая молекулярная мишень для диагностики и терапии воспалительных заболеваний / И.Г. Козлов // Вестник РАМН. – 2011. – № 1. – С. 42–50.
19. Козлов, В.А. Триптофан и Indoleamine-2,3-Dioxygenase (IDO) в патогенезе иммунокомпрометированных заболеваний / В.А. Козлов, Д.В. Демина // Медицинская иммунология. – 2017. – Т. 19, № 3. – С. 225–240.
20. Кологривова, И.В. Молекулярные аспекты функционирования Т-хелперов 17-го типа / И.В. Кологривова, Е.Н. Кологривова, Т.Е. Суслова // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – Т. 10, № 4. – С. 93–99.
21. Корецкая, Н.М. Остропрогрессирующий туберкулез легких / Н.М. Корецкая // Врач. – 2010. – № 10. – С. 76–79.
22. Корецкая, Н.М. Остропрогрессирующий туберкулез легких: клиника, диагностика, лечение / Н.М. Корецкая // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2011. – № 7. – С. 33–34.
23. Куклина, Е.М., Маркеры Th1-поляризованных клеток Th17 (обзор литературы) / Е.М. Куклина, Н.С. Глебездина // *Acta Biomedica Scientifica*. – 2023. – Т. 8, № 3. – С. 55–62.
24. Куклина, Е.М. Механизмы устойчивости к глюкокортикоидам неклассических Т-хелперных популяций Th17.1/ex-Th17 // Биохимия. – 2025. – Т. 90, №2. – С. 207–220.
25. Левин, С.Г. Модулирующее действие цитокинов на механизмы синаптической пластичности в мозге / С.Г. Левин, О.В. Годухин // Биохимия. – 2017. – Т. 82. – Выпуск 3. – С. 397–409.
26. Лекарственная устойчивость, жизнеспособность и вирулентность *in vitro* штаммов *Mycobacterium tuberculosis* различных генотипов / О.А. Маничева,

- О.В. Нарвская, И.В. Мокроусов и соавт. // Инфекция и иммунитет. – 2011. – Т. 1, № 4. – С. 341–348.
27. Лядова, И.В. Нейтрофилы при туберкулезе: протекция или патология? / И.В. Лядова, Е.Н. Цыганов, М.В. Костюкевич // Туберкулез и болезни легких. – 2012. – Т. 89, № 7. – С. 12–21.
 28. Макрофаги при бактериальных болезнях легких: фенотип и функции / Е.Г. Чурина, А.В. Ситникова, О.И. Уразова и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2019. – Т. 18, № 1. – С. 142–154.
 29. Нижегородова, Д.Б. $\gamma\delta$ T-лимфоциты: общая характеристика, субпопуляционный состав, биологическая роль и функциональные особенности / Д.Б. Нижегородова, М.М. Зафранская // Медицинская Иммунология. – 2009. – Т. 11, № 2-3. – С. 115–130.
 30. Основные и малые субпопуляции лимфоцитов крови и цереброспинальной жидкости при менингитах у детей / А.А. Жирков, Л.А. Алексеева, Г.Ф. Железникова и др. // Инфекция и иммунитет. – 2021. – Т. 11, № 1. – С. 111–122.
 31. Особенности иммунофенотипа и цитокинсекреторной активности дендритных клеток у больных туберкулезом легких / З.К. Хаитова, О.И. Уразова, О.В. Воронкова и др. // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 9. – С. 152–155.
 32. Особенности терапии больных туберкулезом легких гамма-интерфероном в зависимости от характера тканевой воспалительной реакции / Л.А. Шовкун, Д.А. Кудлай, Е.Д. Кампос и др. // Туберкулез и болезни легких. – 2023. – Т. 101, № 5. – С. 51–58.
 33. Причины дисрегуляции иммунного ответа при туберкулезе легких: влияние *M. tuberculosis* на течение иммунного ответа / И.Е. Есимова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2012. – Т. 11, № 3. – С. 79–86.
 34. Причины дисрегуляции иммунного ответа при туберкулезе легких: роль нарушений исходного состояния иммунологической реактивности

- организма / И.Е. Есимова, В.В. Новицкий, О.И. Уразова и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2012. – Т. 11, № 4. – С. 93–98.
35. Пирогов, А.Б. Роль макрофагов, миелопероксидазы, интерлейкинов IL-12, IL-13 при формировании реакции бронхов на гиперосмолярный стимул у больных бронхиальной астмой / А.Б. Пирогов, А.Г. Приходько // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2023. – № 87. – С. 42–51.
 36. Равильоне, М.К. Ликвидация туберкулеза – новая стратегия ВОЗ в эру целей устойчивого развития, вклад Российской Федерации / М.К. Равильоне, А.А. Коробицын // Туберкулез и болезни легких. – 2016. – Т. 94, № 11. – С. 7–15.
 37. Салина, Т.Ю. Особенности продукции интерферона- γ при туберкулезе легких / Т.Ю. Салина, Т.И. Морозова // Цитокины и воспаление. – 2012. – Т. 11, № 1. – С. 96–100.
 38. Сахно, Л.В. Антигенпрезентирующие клетки при туберкулезе легких / Л.В. Сахно, Е.Р. Черных // Туберкулез и болезни легких. – 2012. – Т. 89, № 1. – С. 3–9.
 39. Секретция интерлейкинов IL-12, IL-27 мононуклеарными лейкоцитами и экспрессия их рецепторов на Т-лимфоцитах в условиях направленной индукции клеток *in vitro* при туберкулезе легких / И.Е. Есимова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий и др. // Медицинская иммунология. – 2014. – Т. 16, № 3. – С. 237–246.
 40. Соболев, В.В. Изменение экспрессии гена *STAT3* при лечении псориаза / В.В. Соболев, Е.В. Денисова, И.М. Корсунская // Медицинский совет. – 2020. – № 3. – С. 71–74.
 41. Типы иммунновоспалительных реакций как алгоритмы взаимодействия клеток в условиях репаративной регенерации и опухолевого роста / Л.А. Таширева, В.М. Перельмутер, В.Н. Манских и др. // Биохимия. – 2017. – Т. 82, вып. 5. – С. 732–748.
 42. Трошина, Е.А. Вклад центральных регуляторов иммунного ответа в развитие заболеваний щитовидной железы / Е.А. Трошина, Е.С. Сенюшкина // Проблемы эндокринологии. – 2019. – Т. 65, № 6. – С. 458–465.

43. Факторы роста (G-CSF, GM-CSF) и хемокины (MCP-1, MIP-1 β) в толстой кишке при тяжелой форме язвенного колита / Е.А. Конович, К.Е. Широких, М.В. Шапина, И.Л. Халиф // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2016. – Т. 25, № 5. – С. 74–81.
44. Хаитова, З.К. Молекулярные механизмы деактивации дендритных клеток у больных туберкулезом легких / З.К. Хаитова // Бюллетень сибирской медицины. – 2013. – Т. 12, № 1. – С. 139–142.
45. Хайдуков, С.В. Цитометрический анализ субпопуляций Т-хелперов (Th1, Th2, Treg, Th17, Т-хелперы активированные) / С.В. Хайдуков, А.В. Зурочка // Медицинская иммунология. – 2011. – Т. 13, № 1. – С. 7–16.
46. Химиотерапия туберкулеза в России – история продолжается / И.А. Васильева, А.Г. Самойлова, В.Н. Зимина и др. // Туберкулез и болезни легких. – 2023. – Т. 101, № 2. – С. 8–12.
47. Шустова, С.А. Защитные механизмы легких / С.А. Шустова, Т.А. Мирошкина // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2020. – Т. 23, № 4. – С. 567–577.
48. Ярилин, А.А. Транскрипционные регуляторы дифференцировки Т-хелперов / А.А. Ярилин // Иммунология. – 2010. – Т. 31, № 3. – С. 153–168.
49. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17 / H. Park, Z. Li, X.O. Yang et al. // Nat. Immunol. – 2005. – V. 6, N 11. – P. 1133–1141.
50. Advances in diagnosis of Tuberculosis: an update into molecular diagnosis of Mycobacterium tuberculosis / B. Acharya, A. Acharya, S. Gautam et al. // Mol. Biol. Rep. – 2020. – V. 47, N 5. – P. 4065–4075.
51. Advancing Adjuvants for *Mycobacterium tuberculosis* Therapeutics / A.B. Enriquez, A. Izzo, S.M. Miller et al. // Front. Immunol. – 2021. – V. 12. – P. 740117 (15 pages).
52. A comprehensive review of IL-26 to pave a new way for a profound understanding of the pathobiology of cancer, inflammatory diseases, and infections / A. Gowhari Shabgah, W.K. Abdelbasset, H. Sulaiman Rahman et al.

// Immunology. – 2022. – V. 165, N 1. – P. 44–60.

53. A critical function for transforming growth factor-beta, interleukin 23 and proinflammatory cytokines in driving and modulating human T(H)-17 responses / E. Volpe, N. Servant, R. Zollinger et al. // Nat. Immunol. – 2008. – V. 9, N 6. – P. 650–657.
54. Ahmed, A. Emerging patterns of regulatory T cell function in tuberculosis / A. Ahmed, A. Vyakarnam // Clin. Exp. Immunol. – 2020. – V. 202, N 3. – P. 273–287.
55. Ait-Oufella, H. Adaptive (T and B cells) immunity and control by dendritic cells in atherosclerosis / H. Ait-Oufella, A.P. Sage, Z. Mallat, A. Tedgui // Circ. Res. – 2014. – V. 114, N 10. – P. 1640–1660.
56. A MAPS Vaccine Induces Multipronged Systemic and Tissue-Resident Cellular Responses and Protects Mice against Mycobacterium tuberculosis / J.M. O'Hara, S. Wakabayashi, N. Siddiqi et al. // mBio. – 2023. – V. 14, N 1. – P. e0361122 (14 pages).
57. A Mycobacterium tuberculosis-specific subunit vaccine that provides synergistic immunity upon co-administration with Bacillus Calmette-Guérin / J.S. Woodworth, H.S. Clemmensen, H. Battey et al. // Nat. Commun. – 2021. – V. 12, N 1. – P. 6658 (13 pages).
58. An abnormal phenotype of lung V γ 9V δ 2 T cells impairs their responsiveness in tuberculosis patients / S. El Daker, A. Sacchi, C. Montesano et al. // Cell. Immunol. – 2013. – V. 282. – P. 106–112.
59. Analysis of the components of Mycobacterium tuberculosis heat-resistant antigen (Mtb-HAg) and its regulation of $\gamma\delta$ T-cell function / J. Wei, F. Guo, Y. Song et al. // Cell. Mol. Biol. Lett. – 2024. – V. 29, N 1. – P. 70 (18 pages).
60. A novel multistage antigens ERA005f confer protection against *Mycobacterium tuberculosis* by driving Th-1 and Th-17 type T cell immune responses / X. Fan, X. Zhao, R. Wang et al. // Front. Immunol. – 2023. – V. 14. – P. 1276887 (10 pages).
61. An HLA-E-targeted TCR bispecific molecule redirects T cell immunity against

- Mycobacterium tuberculosis* / R.L. Paterson, M.P. La Manna, V. Arena De Souza et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2024. – V. 121, N 19. – P. e2318003121 (12 pages).
62. An Intestinal Th17 Subset is Associated with Inflammation in Crohn's Disease and Activated by Adherent-invasive *Escherichia coli* / M. Paroni, G. Leccese, V. Ranzani et al. // J. Crohns. Colitis. – 2023. – V. 17, N 12. – P. 1988–2001.
 63. Antigen-Specific T-Cell Activation Distinguishes between Recent and Remote Tuberculosis Infection / C.A.M. Mpande, M. Musvosvi, V. Rozot et al. // Am. J. Respir. Crit. Care. Med. – 2021. – V. 203, N 12. – P. 1556–1565.
 64. Anti-tuberculosis chemotherapy alters TNFR2 expression on CD4⁺ lymphocytes in both drug-sensitive and -resistant tuberculosis: however, only drug-resistant tuberculosis maintains a pro-inflammatory profile after a long time / N.A. Téllez-Navarrete, L.A. Ramon-Luing, M. Muñoz-Torrico et al. // Mol. Med. – 2021. – V. 27, N 1. – P. 76 (14 pages).
 65. A Pulmonary *Lactobacillus murinus* Strain Induces Th17 and RORγt⁺ Regulatory T Cells and Reduces Lung Inflammation in Tuberculosis / L. Bernard-Raichon, A. Colom, S.C. Monard et al. // J. Immunol. – 2021. – V. 207, N 7. – P. 1857–1870.
 66. Arkadia-SKI/SnoN signaling differentially regulates TGF-β-induced iTreg and Th17 cell differentiation / H. Xu, L. Wu, H.H. Nguyen et al. // J. Exp. Med. – 2021. – V. 218, N 11. – P. e20210777 (13 pages).
 67. Aryl Trehalose Derivatives as Vaccine Adjuvants for *Mycobacterium tuberculosis* / K.T. Ryter, G. Ettenger, O.K. Rasheed et al. // J. Med. Chem. – 2020. – V. 63, N 1. – P. 309–320.
 68. *Ascaris lumbricoides* coinfection reduces tissue damage by decreasing IL-6 levels without altering clinical evolution of pulmonary tuberculosis or Th1/Th2/Th17 cytokine profile / J.H.A. Santos, S. Bühner-Sékula, G.C. Melo et al. // Rev. Soc. Bras. Med. Trop. – 2019. – V. 52. – P. e20190315 (8 pages).
 69. Association of IFN-γ +874 A/T SNP and hypermethylation of the -53 CpG site with tuberculosis susceptibility / G.I. Álvarez, R.E. Hernández Del Pino, A.M.

- Barbero et al. // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2023. – V. 13. – P. 1080100 (11 pages).
70. A systematic comparison of FOSL1, FOSL2 and BATF-mediated transcriptional regulation during early human Th17 differentiation / A. Shetty, S.K. Tripathi, S. Junttila et al. // *Nucleic. Acids. Res.* – 2022. – V. 50, N 9. – P. 4938–4958.
 71. A systemic review on tuberculosis / A. Natarajan, P.M. Beena, A.V. Devnikar et al. // *Indian J. Tuberc.* – 2020. – V. 67, N 3. – P. 295–311.
 72. Autophagy prevents early proinflammatory responses and neutrophil recruitment during *Mycobacterium tuberculosis* infection without affecting pathogen burden in macrophages / R.L. Kinsella, J.M. Kimmey, A. Smirnov et al. // *PLoS Biol.* – 2023. – V. 21, N 6. – P. e3002159 (24 pages).
 73. Awasthi, A. Th17 cells: from precursors to players in inflammation and infection / A. Awasthi, V. Kuchroo // *International Immunology.* – 2009. – V. 21, N 5. – P. 489–498.
 74. Awuh, J.A. Molecular basis of mycobacterial survival in macrophages / J.A. Awuh, T.H. Flo // *Cell. Mol. Life. Sci.* – 2017. – V. 74, N 9. – P. 1625–1648.
 75. α -Synuclein induces Th17 differentiation and impairs the function and stability of Tregs by promoting RORC transcription in Parkinson's disease / J. Li, J. Zhao, L. Chen et al. // *Brain. Behav. Immun.* – 2023. – V. 108. – P. 32–44.
 76. Bacterial Strain-Dependent Dissociation of Cell Recruitment and Cell-to-Cell Spread in Early *M. tuberculosis* Infection / B.S. Zha, L. Desvignes, T.J. Fergus et al. // *mBio.* – 2022. – V. 13, N 3. – P. e0133222 (15 pages).
 77. BATF-dependent Th17 cells act through the IL-23R pathway to promote prostate adenocarcinoma initiation and progression / S. Liu, S.L. Rivero, B. Zhang et al. // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2024. – V. 116, N 10. – P. 1598–1611.
 78. BATF participates in airway inflammation of neutrophilic asthma via regulating Th17 cells activation / C. Liu, X. Yang, Y. Tan et al. // *Mol. Immunol.* – 2025. – V. 181. – P. 40–52.
 79. Batf stabilizes Th17 cell development via impaired Stat5 recruitment of Ets1-Runx1 complexes / D. Pham, D.J. Silberger, K.N. Nguyen et al. // *EMBO J.* –

2023. – V. 42, N 8. – P. e109803 (23 pages).
80. Belpaire, A. From IL-17 to IFN- γ in inflammatory skin disorders: Is transdifferentiation a potential treatment target? / A. Belpaire, N. van Geel, R. Speeckaert // Front Immunol. – 2022. – V. 13. – P. 932265 (8 pages).
 81. Beneficial or detrimental activity of regulatory T cells, indoleamine 2,3-dioxygenase, and heme oxygenase-1 in the lungs is influenced by the level of virulence of *Mycobacterium tuberculosis* strain infection / V. Lozano-Ordaz, Y. Rodriguez-Miguez, A.E. Ortiz-Cabrera et al. // Front. Cell. Infect. Microbiol. – 2023. – V. 13. – P. 1105872 (14 pages).
 82. Berberine governs NOTCH3/AKT signaling to enrich lung-resident memory T cells during tuberculosis / I. Pahuja, K. Negi, A. Kumari et al. // PLoS Pathog. – 2023. – V. 19, N 3. – P. e1011165 (25 pages).
 83. Berns, S.A. Therapeutic potential of interferon-gamma in tuberculosis / S.A. Berns, J.A. Isakova, P.I. Pekhtereva // ADMET DMPK. – 2022. – V. 10, N 1. – P. 63–73.
 84. Beutler, B. What infections actually are / B. Beutler, J. Hoffmann // J. Innate. Immun. – 2009. – V.1, N 1. – P. 2–3.
 85. Bhaumik, S. Cellular and Molecular Dynamics of Th17 Differentiation and its Developmental Plasticity in the Intestinal Immune Response / S. Bhaumik, R. Basu // Front. Immunol. – 2017. – V. 8. – P. 254 (20 pages).
 86. Biology of interleukin-22 / K. Wolk, E. Witte, K. Witte et al. // Semin. Immunopathol. – 2010. – V. 32, N 1. – P. 17–31.
 87. Blood monocyte and dendritic cell profiles among people living with HIV with *Mycobacterium tuberculosis* co-infection / S. Rambaran, T.G. Maseko, L. Lewis et al. // BMC Immunol. – 2023. – V. 24, N. 1. – P. 21 (11 pages).
 88. Boisson-Dupuis, S. The monogenic basis of human tuberculosis / S. Boisson-Dupuis // Hum. Genet. – 2020. – V. 139, N 6-7. – P. 1001–1009.
 89. Bone marrow IRF4 level in multiple myeloma: an indicator of peripheral blood Th17 and disease / H. Bai, S. Wu, R. Wang et al. // Oncotarget. – 2017. – V. 8, N 49. – P. 85392–85400.

90. Brembilla, N.C. The IL-17 Family of Cytokines in Psoriasis: IL-17A and Beyond / N.C. Brembilla, L. Senra, W.H. Boehncke // Front. Immunol. – 2018 – V. 9. – P. 1682 (13 pages).
91. BTLA-Expressing Dendritic Cells in Patients With Tuberculosis Exhibit Reduced Production of IL-12/IFN- α and Increased Production of IL-4 and TGF- β , Favoring Th2 and Foxp3⁺ Treg Polarization / J.-A. Zhang, Y.-B. Lu, W.-D. Wang et al. // Front Immunol. – 2020. – V. 11. – P. 518 (19 pages).
92. Bunte, K. Th17 Cells and the IL-23/IL-17 Axis in the Pathogenesis of Periodontitis and Immune-Mediated Inflammatory Diseases / K. Bunte, T. Beikler // Int. J. Mol. Sci. – 2019. – V. 20, N 14. – P. 3394.
93. Buszko, M. Control of regulatory T cell homeostasis / M. Buszko, E.M. Shevach // Curr. Opin. Immunol. – 2020. – V. 67. – P. 18–26.
94. Cardona, P. Regulatory T Cells in *Mycobacterium tuberculosis* Infection / P. Cardona, P.J. Cardona // Front. Immunol. – 2019. – V. 10. – P. 2139 (11 pages).
95. Cavitory tuberculosis: the gateway of disease transmission / M.E. Urbanowski, A.A. Ordonez, C.A. Ruiz-Bedoya et al. // Lancet Infect. Dis. – 2020. – V. 20, N 6. – P. e117–e128.
96. CCR2 signaling regulates anti-chlamydia T cell immune responses in the airway / S. Yang, J. Yu, X. Dong et al. // PLoS Pathog. – 2025. – V. 21, N 2. – P. e1012912 (23 pages).
97. CD4 T cell help prevents CD8 T cell exhaustion and promotes control of *Mycobacterium tuberculosis* infection / Y.J. Lu, P. Barreira-Silva, S. Boyce et al. // Cell. Rep. – 2021. – V. 36, N 11. – P. 109696 (pages).
98. CD25⁺ natural regulatory T cells are critical in limiting innate and adaptive immunity and resolving disease following respiratory syncytial virus infection / D.C. Lee, J.A. Harker, J.S. Tregoning et al. // J. Virol. – 2010. – V. 84. – P. 8790–8798.
99. CD70 defines a subset of proinflammatory and CNS-pathogenic TH1/TH17 lymphocytes and is overexpressed in multiple sclerosis / T. Dhaeze, L. Tremblay, C. Lachance et al. // Cell. Mol. Immunol. – 2019. – V. 16, N 7. – P. 652–665.

100. CD137 expression and signal function drive pleiotropic $\gamma\delta$ T-cell effector functions that inhibit intracellular M. tuberculosis growth / X. Ji, G. Huang, Y. Peng et al. // Clin Immunol. – 2024. – V. 266. – P. 110331 (17 pages).
101. CD161 Expression Defines a Th1/Th17 Polyfunctional Subset of Resident Memory T Lymphocytes in Bronchoalveolar Cells / Y. Gonzalez, M. T. Herrera, E. Juárez et al. // PLoS One. – 2015. – V. 10, N 4. – P. e0123591.
102. CD161 is a marker of all human IL-17-producing T-cell subsets and is induced by RORC / L. Maggi, V. Santarlasci, M. Capone et al. // Eur. J. Immunol. – 2010. – V. 40, N 8. – P. 2174–2181.
103. Chai, Q., Host defense mechanisms against Mycobacterium tuberculosis / Q. Chai, Z. Lu, C.H. Liu // Cell. Mol. Life Sci. – 2020. – V. 77, N 10. – P. 1859–1878.
104. Characterization of membrane-bound IL-22⁺ T cell subsets in HIV-1 patients coinfecting with Mycobacterium tuberculosis / Q. Liu, C. Yu, J. Cheng et al. // J. Microbiol. Immunol. Infect. – 2021. – V. 54, N 3. – P. 429–436.
105. Characterization of *Mycobacterium tuberculosis*-Specific Th22 Cells and the Effect of Tuberculosis Disease and HIV Coinfection / M.S. Makatsa, F.M.A. Omondi, R. Bunjun et al. // J. Immunol. – 2022. – V. 209, N 3. – P. 446–455.
106. Characterization of the diversity of T cell receptor $\gamma\delta$ complementary determinant region 3 in human peripheral blood by immune repertoire sequencing / M. Michal, R. Curik, K. Matler et al. // J. Immunol. Methods. – 2017. – V. 443. – P. 9–17.
107. Chen, G. Transcription factors and th17 cell development in experimental autoimmune encephalomyelitis / G. Chen, M. Shannon // Critical Reviews in Immunology. – 2013. – V. 33, N 2. – P. 165–182.
108. Chen, K. Interleukin-17A (IL17A) / K. Chen, J.K. Kolls // Gene. – 2017. – V. 614. – P. 8–14.
109. Chen, W. TGF- β Regulation of T Cells / W. Chen // Annu. Rev. Immunol. – 2023. – V. 41. – P. 483–512.
110. Chen, X. Th17 cells and Tregs: unlikely allies / X. Chen, J.J. Oppenheim // J. Leukoc. Biol. – 2014. – V. 95, N 5. – P. 723–731.

111. Chen, Y.H. CD4⁺ T-Cell Plasticity in Non-Infectious Retinal Inflammatory Disease / Y.H. Chen, S. Lightman, V.L. Calder // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – V. 22, N 17. – P. 9584 (13 pages).
112. Cho, Y. Imiquimod promotes Th1 and Th17 responses via NF-κB-driven IL-12 and IL-6 production in an *in vitro* co-culture model / Y. Cho, J. Kwon, T.S. Kim // Exp. Ther. Med. – 2025. – V. 30, N 3. – P. 175 (12 pages).
113. Churina, E.G. The role of foxp3-expressing regulatory T cells and T helpers in immunopathogenesis of multidrug resistant pulmonary tuberculosis / E.G. Churina, O.I. Urazova, V.V. Novitsky // Tuberculosis Res. Treatment. – 2012. – V. 2012. – P. 931291 (9 pages).
114. Cohen, S.B. Weaponizing the bystander T cell army to fight tuberculosis / S.B. Cohen, K.B. Urdahl // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2024. – V. 121, N 23. – P. e2407559121 (2 pages).
115. Combined Detection of IFN-γ and Lymphocyte Subsets with Activation Indicators in the Clinical Application of Mycobacterium Tuberculosis Infection at Different Times / Y. Chen, L. Zhang, C. Zhou et al. // Curr. Microbiol. – 2023. – V. 80, N 6. – P. 193 (7 pages).
116. Combined IFN-γ and IL-2 release assay for detect active pulmonary tuberculosis: a prospective multicentre diagnostic study in China / Y. Tan, J. Li, P. Hu et al. // J. Transl. Med. – 2021. – V. 19, N 1. – P. 289 (8 pages).
117. Comparative analysis of WC1.1+ and WC1.2+ γδ T cell subset responses from cattle naturally infected with Mycobacterium bovis to repeat stimulation with mycobacterial antigens / A. Parveen, S.A. Bhat, M. Elnaggar et al. // PLoS One. – 2024. – V. 19, N 12. – P. e0311854 (19 pages).
118. Comprehensive analysis of mycobacterium tuberculosis antigen-specific CD4⁺ T cell responses restricted by single HLA class II allotype in an individual / Y.H. Lee, Y.S. Hyun, H.A. Jo et al. // Front. Immunol. – 2022. – V. 13. – P. 897781 (11 pages).
119. Control of regulatory T cell and Th17 cell differentiation by inhibitory helix-loop-helix protein Id3 / T. Maruyama, J. Li, J.P. Vaque et al. // Nat. Immunol. – 2011.

– V. 12, N 1. – P. 86–95.

120. Cooper, A.M. Role of innate cytokines in mycobacterial infection / A.M. Cooper, K.D. Mayer-Barber, A. Sher // *Mucosal. Immunol.* – 2011. – V. 4, N 3. – P. 252–260.
121. Critical regulation of early Th17 cell differentiation by interleukin-1 signaling / Y. Chung, S.H. Chang, G.J. Martinez et al. // *Immunity.* – 2009. – V. 30, N 4. – P. 576–587.
122. Cua, D.J. Innate IL-17-producing cells: the sentinels of the immune system / D.J. Cua, C.M. Tato // *Nat. Rev. Immunol.* – 2010. – V. 10, N 7. – P. 479–489.
123. Cutting edge: regulatory T cells induce CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T cells or are self-induced to become Th17 cells in the absence of exogenous TGF-beta / L. Xu, A. Kitani, I. Fuss et al. // *J. Immunol.* – 2007. – V. 178, N 11. – P. 6725–6729.
124. Cutting edge: The pathogenicity of IFN- γ -producing Th17 cells is independent of T-bet / R. Duhen, S. Glatigny, C.A. Arbelaez et al. // *J. Immunol.* – 2013. – V. 190, N 9. – P. 4478–4482.
125. Damoiseaux, J. The IL-2 - IL-2 receptor pathway in health and disease: The role of the soluble IL-2 receptor / J. Damoiseaux // *Clin. Immunol.* – 2020. – V. 218. – P. 108515 (9 pages).
126. David, C.J. Contextual determinants of TGF β action in development, immunity and cancer / C.J. David, J. Massagué // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* – 2018. – V. 19, N 7. – P. 419–435.
127. Decreased Frequencies of Gamma/Delta T Cells Expressing Th1/Th17 Cytokine, Cytotoxic, and Immune Markers in Latent Tuberculosis-Diabetes/Pre-Diabetes Comorbidity / G.R. Kathamuthu, N.P. Kumar, K. Moideen et al. // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2021. – V. 11. – P. 756854 (11 pages).
128. Defining the human T helper 17 cell phenotype / F. Annunziato, L. Cosmi, F. Liotta et al. // *Trends Immunol.* – 2012. – V. 33, N 10. – P. 505–512.
129. Dendritic Cells Exposed to Triiodothyronine Deliver Pro-Inflammatory Signals and Amplify IL-17-Driven Immune Responses / V.A. Alamino, M.D.M. Montesinos, M.F. Soler et al. // *Cell Physiol. Biochem.* – 2019. – V. 52, N 2. – P.

354–367.

130. Depression and recovery of IL-17A secretion in mitogen responses in patients with active tuberculosis-a prospective observational study / J.-Y. Feng, L.-I. Ho, F.-Y. Chuang et al. // J. Formos. Med. Assoc. – 2021. – V. 120, N 4. – P. 1080–1089.
131. Derynck, R. TGF β biology in cancer progression and immunotherapy / R. Derynck, S.J. Turley, R.J. Akhurst // Nat. Rev. Clin. Oncol. – 2021. – V. 18, N 1. – P. 9–34.
132. Detection of IFN- γ ⁺IL-17⁺ cells in salivary glands of patients with Sjögren's syndrome and Mikulicz's disease: Potential role of Th17 Th1 in the pathogenesis of autoimmune diseases / Nanke Y., Kobashigawa T., Yago T. et al. // Jpn. J. Clin. Immunol. – 2016. – V. 39, N 5. – P. 473–477.
133. Developmental plasticity of Th17 and Treg cells / Y.K. Lee, R. Mukasa, R.D. Hatton, C.T. Weaver // Curr. Opin. Immunol. – 2009. – V. 21, N 3. – P. 274–280.
134. Differential regulation of Foxp3 and IL-17 expression in CD4 T helper cells by IRAK-1 / U. Maitra, S. Davis, C.M. et al. // J. Immunol. – 2009. – V. 182, N 9. – P. 5763–5769.
135. Deep Immunoprofiling of Large-Scale Tuberculosis Dataset at Single Cell Resolution Reveals a CD81^{bright} $\gamma\delta$ T Cell Population Associated with Latency / M. Shekarkar Azgomi, G.D. Badami, Di Caro M. et al. // Cells. – 2024. – V. 13, N 18. – P. 1529 (16 pages).
136. Disease Manifestation and Inflammatory Activity as Modulators of Th17/Treg Balance and RORC/FoxP3 Methylation in Systemic Sclerosis / G. Almanzar, M. Klein, M. Schmalzing et al. // Int. Arch. Allergy. Immunol. – 2016. – V. 171, N 2. – P. 141–154.
137. Disseminated tuberculosis is associated with impaired T cell immunity mediated by non-canonical NF- κ B pathway / J. Jiang, Z. Cao, B. Li et al. // J. Infect. – 2024. – V. 89, N 3. – P. 106231 (16 pages).
138. Distinct characteristics of BTLA/HVEM axis expression on Tregs and its impact on the expansion and attributes of Tregs in patients with active pulmonary

- tuberculosis / P. Tang, X. Shen, J. Gao et al. // Front. Cell. Infect. Microbiol. – 2024. – V. 14. – P. 1437207 (13 pages).
139. Distinctive features of classic and nonclassic (Th17 derived) human Th1 cells / L. Maggi, V. Santarlasci, M. Capone et al. // Eur. J. Immunol. – 2012. – V. 42, N 12. – P. 3180–3188.
 140. Distribution and clinical significance of circulating CD8⁺CD28⁻ regulatory T cells in the peripheral blood of patients with pulmonary tuberculosis / X. Yu, Y. Lin, H. Chen et al. // BMC Pulm. Med. – 2022. – V. 22, N 1. – P. 291 (8 pages).
 141. Diverse continuum of CD4⁺ T-cell states is determined by hierarchical additive integration of cytokine signals / I. Eizenberg-Magar, J. Rimer, I. Zaretsky et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2017. – V. 114, N 31. – P. E6447–E6456.
 142. Dominant negative TGF- β receptor type II in T lymphocytes promotes anti-tumor immunity by modulating T cell subsets and enhancing CTL responses / H. Li, Y. Guan, C. Han et al. // Biomed. Pharmacother. – 2022. – V. 148. – P. 112754 (11 pages).
 143. Dudakov, J.A. Interleukin-22: immunobiology and pathology / J.A. Dudakov, A.M. Hanash, van den Brink M.R. // Annu. Rev. Immunol. – 2015. – V. 33. – P. 747–785.
 144. Duhén, T. IL-1 β promotes the differentiation of polyfunctional human CCR6⁺CXCR3⁺ Th1/17 cells that are specific for pathogenic and commensal microbes / T. Duhén, D.J. Campbell // J. Immunol. – 2014. – V. 193, N 1. – P. 120–129.
 145. Dysregulated balance of Th17 and Th1 cells in systemic lupus erythematosus / K. Shah, W.W. Lee, S.H. Lee et al. // Arthritis Res. Ther. – 2010. – V. 12, N 2. – P. R53.
 146. Dysregulation of Immunity in Pulmonary Fibrosis is Associated with Increased Myeloid-specific Triggering Receptor-1 and Transforming Growth Factor-beta1 Expression / S. Rasouli, J. Heshmatnia, N. Mosaffa et al. // Iran. J. Allergy. Asthma. Immunol. – 2023. – V. 22, N 1. – P. 12–24.
 147. Early secreted antigen ESAT-6 of *Mycobacterium tuberculosis* promotes

- protective T helper 17 cell responses in a toll-like receptor-2-dependent manner / S. Chatterjee, V.P. Dwivedi, Y. Singh et al. // *PLoS Pathog.* – 2011. – V. 7, N 11. – P. e1002378 (12 pages).
148. Enhanced T cell responsiveness to *Mycobacterium bovis* BCG r32-kDa Ag correlates with successful anti-tuberculosis treatment in humans / V.H. Sai Priya, G.S. Latha, S.E. Hasnain et al. // *Cytokine.* – 2010. – V. 52, N 3. – P. 190–193.
 149. Eomes controls the development of Th17-derived (non-classic) Th1 cells during chronic inflammation / A. Mazzoni, L. Maggi, F. Siracusa et al. // *Eur. J. Immunol.* – 2019. – V. 49, N 1. – P. 79–95.
 150. Essential role of IL-17A in the formation of a mycobacterial infection-induced granuloma in the lung / Y.Y. Okamoto, M. Umemura, A. Yahagi et al. // *J. Immunol.* – 2010. – V. 184, N 8. – P. 4414–4422.
 151. Evaluation of Interleukin17 and Interleukin 23 expression in patients with active and latent tuberculosis infection / F. Heidarneshad, A. Asnaashari, S.A. Rezaee et al. // *Iran. J. Basic Med. Sci.* – 2016. – Vol. 19, N 8. – P. 844–850.
 152. Exploring the association between Th17 pathway gene polymorphisms and pulmonary tuberculosis / H.M. Li, L.J. Wang, Q. Huang et al. // *Front. Immunol.* – 2022. – V. 13. P. 994247 (12 pages).
 153. Eyerich, K. IL-17 and IL-22 in immunity: Driving protection and pathology / K. Eyerich, V. Dimartino, A. Cavani // *Eur. J. Immunol.* – 2017. – V. 47, N 4. – P. 607–614.
 154. Feruglio, S.L. T Cell Responses and Regulation and the Impact of In Vitro IL-10 and TGF- β Modulation During Treatment of Active Tuberculosis / S.L. Feruglio, D. Kvale, A.M. Dyrhol-Riise // *Scand. J. Immunol.* – 2017. – V. 85, N 2. – P. 138–146.
 155. Floss, D.M. IL-12 and IL-23 – Close Relatives with Structural Homologies but Distinct Immunological Functions / D.M. Floss, J.M. Moll, J. Scheller // *Cells.* – 2020. – V. 9, N 10. – P. 2184 (24 pages).
 156. Franco, A.R. Developing New Anti-Tuberculosis Vaccines: Focus on Adjuvants / A.R. Franco, F. Peri // *Cells.* – 2021. – V. 10, N. 1. – P. 78 (17 pages).

157. Functional characteristics of Th1, Th17, and ex-Th17 cells in EAE revealed by intravital two-photon microscopy / J. Loos, S. Schmaul, T.M. Noll et al. // *J. Neuroinflammation*. – 2020. – V. 17, N 1. – P. 357 (12 pages).
158. Gaffen, S.L., Regulation of host-microbe interactions at oral mucosal barriers by type 17 immunity / S.L. Gaffen, N.M. Moutsopoulos // *Sci. Immunol.* – 2020. – V. 5, N 43. – P. eaau4594 (25 pages).
159. Gamma Delta T-Cell Based Cancer Immunotherapy: Past-Present-Future / J. Saura-Esteller, M. de Jong, L.A. King et al. // *Front. Immunol.* – 2022 – V. 13. P. 915837 (11 pages).
160. Geisinger, E. Interplay Between Antibiotic Resistance and Virulence During Disease Promoted by Multidrug-Resistant Bacteria / E. Geisinger, R.R. Isberg // *J. Infect. Dis.* – 2017. – V. 215 (suppl 1). – P. S9-S17.
161. Gene expression pattern of TCR repertoire and alteration expression of IL-17A gene of $\gamma\delta$ T cells in patients with acute myocardial infarction / X.M. Chen, T. Zhang, D. Qiu et al. // *J. Transl. Med.* – 2018. – V. 16, N 1. – P. 189.
162. GM1 controlled lateral segregation of tyrosine kinase Lck predispose T-cells to cell-derived galectin-1-induced apoptosis / J. Novak, E. Kriston-Pal, A. Czibula et al. // *Mol. Immunol.* – 2014. – V. 57, N 2. – P. 302–309.
163. Growth hormone releasing hormone signaling promotes Th17 cell differentiation and autoimmune inflammation / L. Du, B.M. Ho, L. Zhou et al. // *Nat. Commun.* – 2023. – V. 14, N 1. – P. 3298 (15 pages).
164. Guo, K. Cytokines that Modulate the Differentiation of Th17 Cells in Autoimmune Uveitis / K. Guo, X. Zhang // *J. Immunol. Res.* – 2021. – V. 2021. – P. 6693542 (19 pages).
165. Gurczynski, S.J. IL-17 in the lung: the good, the bad, and the ugly / S.J. Gurczynski, B.B. Moore // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* – 2018. – V. 314, N 1. – P. L6–L16.
166. Gurney, A.L. Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T-cell activation state characterized by the production of interleukin-17 / A.L. Gurney, S. Aggarwal, N. Ghilardi // *J. Biol. Chem.* – 2003. – V. 278, N 3. – P. 1910–1914.

167. $\gamma\delta$ T cell antigen receptor polyspecificity enables T cell responses to a broad range of immune challenges / J. Guo, R.R. Chowdhury, V. Mallajosyula et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2024. – V. 121, N 4. – P. e2315592121 (11 pages).
168. $\gamma\delta$ T cells cross-link innate and adaptive immunity in *Mycobacterium tuberculosis* infection / S. Meraviglia, S. El Daker, F. Dieli et al. // Clin. Dev. Immunol. – 2011. – V. 2011. – P. 587315.
169. $\gamma\delta$ T cells: origin and fate, subsets, diseases and immunotherapy / Y. Hu, Q. Hu, Y. Li et al. // Signal Transduct. Target. Ther. – 2023. – V. 8, N 1. – P. 434 (38 pages).
170. Harnessing the Therapeutic Potential of Th17 Cells / J. Bystrom, T.E. Taher, M.S. Muhyaddin et al. // Mediators of Inflammation. – 2015. – V. 2015. – P. 205156.
171. Hayday, A.C. $\gamma\delta$ T Cell Update: Adaptate Orchestrators of Immune Surveillance / A.C. Hayday // J. Immunol. – 2019. – V. 203, N 2. – P. 311–320.
172. Helminth species dependent effects on Th1 and Th17 cytokines in active tuberculosis patients and healthy community controls / G. Bewket, A. Kiflie, F. Tajebe et al. // PLoS Negl. Trop. Dis. – 2022. – V. 16, N 8. – P. e0010721 (21 pages).
173. Helminth species-specific effects on IFN- γ producing T cells during active and latent tuberculosis / A. Kiflie, G. Bewket, F. Tajebe et al. // PLoS Negl. Trop. Dis. – 2023. – V. 17, N 1. – P. e0011094 (16 pages).
174. High-Dose *Mycobacterium tuberculosis* H37rv Infection in IL-17A- and IL-17A/F-Deficient Mice / K. Ritter, J. Behrends, D. Rückerl et al. // Cells. – 2022. – V. 11, N 18. – P. 2875 (17 pages).
175. Human CD4⁺ T cell subsets differ in their abilities to cross endothelial and epithelial brain barriers *in vitro* / H. Nishihara, S. Soldati, A. Mossu et al. // Fluids. Barriers. CNS. – 2020. – V. 17, N 1. – P. 3 (18 pages).
176. Human gut bacterial metabolism drives Th17 activation and colitis / M. Alexander, Q.Y. Ang, R.R. Nayak et al. // Cell. Host. Microbe. – 2022. – V. 30, N 1. – P. 17–30.
177. High-parameter phenotypic characterization reveals a subset of human Th17 cells

- that preferentially produce IL-17 against *M. tuberculosis* antigen / P. Ogongo, A. Tran, F. Marzan et al. // Front. Immunol. – 2024. – V. 15. – P. 1378040 (11 pages).
178. Histone deacetylase 1 and 3 inhibitors alleviate colon inflammation by inhibiting Th17 cell differentiation / Z. Gu, X. Chen, D. Zhu et al. // J. Clin. Lab. Anal. – 2022. – V. 36, N 10. – P. e24699 (8 pages).
 179. Houben, R. The global burden of latent tuberculosis infection: a re-estimation using mathematical modelling / R. Houben, P. Dodd // PLoS Med. – 2016. – V. 13, N 10. – P. e1002152.
 180. Human CD4⁺ CD39⁺ regulatory T cells produce adenosine upon co-expression of surface CD73 or contact with CD73⁺ exosomes or CD73⁺ cells / P.J. Schuler, Z. Saze, C.-S. Hong et al. // Clin. Exp. Immunol. – 2014. – V. 177, N 2. – P. 531–543.
 181. Human CD25^{high}Foxp3^{pos} regulatory T cells differentiate into IL-17-producing cells / H.J. Koenen, R.L. Smeets, P.M. Vink et al. // Blood. – 2008. – V. 112, N 6. – P. 2340–2352.
 182. Human memory FOXP3⁺ Tregs secrete IL-17 *ex vivo* and constitutively express the T(H)17 lineage-specific transcription factor ROR γ t / M. Ayyoub, F. Deknuydt, I. Raimbaud et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2009. – V. 106, N 21. – P. 8635–8640.
 183. Human Pulmonary Tuberculosis: Understanding the Immune Response in the Bronchoalveolar System / M.T. Herrera, S. Guzmán-Beltrán, K. Bobadilla et al. // Biomolecules. – 2022. – V. 12, N 8. – P. 1148 (20 pages).
 184. Identification of differentially recognized T cell epitopes in the spectrum of tuberculosis infection / S. Panda, J. Morgan, C. Cheng et al. // Nat. Commun. – 2024. – V. 15, N 1. – P. 765 (14 pages).
 185. Identification of the Ligands of TCR $\gamma\delta$ by Screening the Immune Repertoire of $\gamma\delta$ T Cells From Patients With Tuberculosis / Y. Li, X. Wang, D. Teng et al. // Front. Immunol. – 2019. – V. 10. – P. 2282 (15 pages).
 186. IFN- γ -independent control of *M. tuberculosis* requires CD4 T cell-derived GM-CSF and activation of HIF-1 α / E. Van Dis, D.M. Fox, H.M. Morrison et al. //

PLoS Pathog. – 2022. – V. 18, N 7. – P. e1010721 (23 pages).

187. IFN- γ -producing T-helper 17.1 cells are increased in sarcoidosis and are more prevalent than T-helper type 1 cells / J. Ramstein, C.E. Broos, L.J. Simpson et al. // Am. J. Respir. Crit. Care. Med. – 2016. – V. 193, N 11. – P. 1281–1291.
188. IkappaBzeta regulates T(H)17 development by cooperating with ROR nuclear receptors / K. Okamoto, Y. Iwai, M. Oh-Hora et al. // Nature. – 2010. – V. 464, N 7293. – P. 1381–1385.
189. IL-2 Inhibition of Th17 Generation Rather Than Induction of Treg Cells Is Impaired in Primary Sjögren's Syndrome Patients / J. Luo, B. Ming, C. Zhang et al. // Front. Immunol. – 2018. – V. 9. – P. 1755 (9 pages).
190. IL-4 and helminth infection downregulate MINCLE-dependent macrophage response to mycobacteria and Th17 adjuvanticity / J. Schick, M. Altunay, M. Lacorcchia et al. // Elife. – 2023. – V. 12. – P. e72923 (24 pages).
191. IL-6-mediated Th17 differentiation through ROR γ t is essential for the initiation of experimental autoimmune myocarditis / T. Yamashita, T. Iwakura, K. Matsui et al. // Cardiovascular Research. – 2011. – V. 91, N 4. – P. 640–648.
192. IL-12 and IL-23 pathway inhibition in inflammatory bowel disease / B. Verstockt, A. Salas, B.E. Sands et al. // Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. – 2023. – V. 20, N 7. – P. 433–446.
193. IL-17A and IL-2-expanded regulatory T cells cooperate to inhibit Th1-mediated rejection of MHC II disparate skin grafts / B. Vokaer, L.M. Charbonnier, P.H. Lemaître et al. // PLoS One. – 2013. – V. 8, N 10. – P. e76040 (9 pages).
194. IL-17 and IFN- γ production in peripheral blood following BCG vaccination and Mycobacterium tuberculosis infection in human / Q. Li, J. Li, J. Tian et al. // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. – 2012. – V. 16, N 14. – P. 2029–2036.
195. IL-17 and Th17 Cells / T. Korn, E. Bettelli, M. Oukka, V.K. Kuchroo // Annu. Rev. Immunol. – 2009. – V. 27. – P. 485–517.
196. IL-17 contributes to CD4-mediated graft-versus-host disease / L.W. Kappel, G.L. Goldberg, C.G. King et al. // Blood. – 2009. – V. 113, N 4. – P. 945–952.
197. IL-17-Mediated regulation of innate and acquired immune response against

- pulmonary *Mycobacterium bovis* bacille Calmette-Guérin infection / M. Umemura, A. Yahagi, S. Hamada et al. // J. Immunol. – 2007. – V. 178, N 6. – P. 3786–3796.
198. IL-17 Production from T Helper 17, Mucosal-Associated Invariant T, and $\gamma\delta$ Cells in Tuberculosis Infection and Disease / F. Coulter, A. Parrish, D. Manning et al. // Front. Immunol. – 2017. – N 8. – P. 1252.
 199. IL-17 Production of Neutrophils Enhances Antibacteria Ability but Promotes Arthritis Development During Mycobacterium tuberculosis Infection / S. Hu, W. He, X. Du et al. // EBioMedicine. – 2017. – V. 23. – P. 88–99.
 200. IL-17RA in Non-Hematopoietic Cells Controls CXCL-1 and 5 Critical to Recruit Neutrophils to the Lung of Mycobacteria-Infected Mice during the Adaptive Immune Response / R. Lombard, E. Doz, F. Carreras // PLoS One. – 2016. – V. 11, N 2. – P. e0149455 (18 pages)..
 201. IL-21 and TGF-beta are required for differentiation of human T(H)17 cells / L. Yang, D.E. Anderson, C. Baecher-Allan et al. // Nature. – 2008. – V. 454, N 7202. – P. 350–352.
 202. IL-22 produced by type 3 innate lymphoid cells (ILC3s) reduces the mortality of type 2 diabetes mellitus (T2DM) mice infected with Mycobacterium tuberculosis / D. Tripathi, R.K. Radhakrishnan, Sivangala R. Thandi et al. // PLoS Pathog. – 2019. – V. 15, N 12. – P. e1008140 (21 pages).
 203. IL-23 and IL-17 in the establishment of protective pulmonary CD4⁺ T cell responses after vaccination and during *Mycobacterium tuberculosis* challenge / S.A. Khader, G.K. Bell, J.E. Pearl et al. // Nat. Immunol. – 2007. – V. 8, N 4. – P. 369–377.
 204. IL-23 past, present, and future: a roadmap to advancing IL-23 science and therapy / J.G. Krueger, K. Eyerich, V.K. Kuchroo et al. // Front. Immunol. – 2024. – V. 15. – P. 1331217 (15 pages).
 205. IL-23 stabilizes an effector T_{reg} cell program in the tumor microenvironment / T. Wertheimer, P. Zwicky, L. Rindlisbacher et al. // Nat. Immunol. – 2024. – V. 25, N 3. – P. 512–524.

206. IL-26 Is overexpressed in rheumatoid arthritis and Induces proinflammatory cytokine production and Th17 cell generation / M. Corvaisier, Y. Delneste, H. Jeanvoine et al. // PLoS Biol. – 2012. – V. 10, N 9. – P. e1001395 (15 pages).
207. Impact of BCG vaccination on the repertoire of human $\gamma\delta$ T cell receptors / M. Xia, A. Blazevic, A. Fiore-Gartland et al. // Front. Immunol. – 2023. – V. 14. – P. 1100490 (12 pages).
208. Imbalance of Th17 and Treg in peripheral blood mononuclear cells of active tuberculosis patients / J. Luo, M. Zhang, B. Yan et al. // Braz. J. Infect. Dis. – 2017. – V. 21, N 2. – P. 155–161.
209. Immune response to *Mycobacterium tuberculosis* infection in the parietal pleura of patients with tuberculous pleurisy / G. Caramori, L. Lasagna, A.G. Casalini et al. // PLoS One. – 2011. – V. 6, N 7. – P. e22637.
210. Immunoadjuvative Therapy against Bacterial Infections Using Herbal Medicines Based on Th17 Cell-mediated Protective Immunity / H. Tomioka, Y. Tatano, T. Shimizu et al. // Curr. Pharm. Des. – 2021. – V. 27, N 38. – P. 3949–3962.
211. Immunologic Role of Innate Lymphoid Cells against Mycobacterial tuberculosis Infection / W. Narinyan, N. Poladian, D. Orujyan et al. // Biomedicines. – 2022. – V. 10, N 11. – P. 2828 (10 pages).
212. Immunomodulatory effects of nanocurcumin on Th17 cell responses in mild and severe COVID-19 patients / S. Tahmasebi, M.A. El-Esawi, Z.H. Mahmoud et al. // J. Cell. Physiol. – 2021. – V. 236, N 7. – P. 5325–5338.
213. Impairment of Wnt/ β -catenin signaling in blood cells of patients with severe cavitary pulmonary tuberculosis / L. Fan, H. Shen, H. Huang et al. // PLoS One. – 2017. – V. 12, N 3. – P. e0172549.
214. Increased IFN- γ -producing Th17/Th1 cells and their association with lung function and current smoking status in patients with chronic obstructive pulmonary disease / X. Weihang, L. Ruimin, S. Yongchang // BMC Pulm Med. – 2019. – V. 19, N 1. – P. 137.
215. Increased plasticity of non-classic Th1 cells toward the Th17 phenotype / J. Leipe, F. Pirronello, H. Schoolze-Koops et al. // Mod. Rheumatol. – 2020. – V. 30, N 5. –

P. 930–936.

216. Individual intestinal symbionts induce a distinct population of ROR γ^+ regulatory T cells / E. Sefik, N. Geva-Zatorsky, S. Oh et al. // *Science*. – 2015. – V. 349, N 6251. – P. 993–997.
217. Inflammasome and Fas-Mediated IL-1 β Contributes to Th17/Th1 Cell Induction in Pathogenic Bacterial Infection In Vivo / R. Uchiyama, S. Yonehara, S. Taniguchi et al. // *J. Immunol.* – 2017. – V. 199, N 3. – P. 1122–1130.
218. Innate lymphoid cells exhibited IL-17-expressing phenotype in active tuberculosis disease / L. Pan, X. Chen, X. Liu et al. // *BMC Pulm. Med.* – 2021. – V. 21, N 1. – P. 318 (11 pages).
219. Integrated single-cell transcriptome and T cell receptor profiling reveals defects of T cell exhaustion in pulmonary tuberculosis / Z. Wen, L. Wang, H. Ma et al. // *J. Infect.* – 2024. – V. 88, N 6. – P. 106158 (11 pages).
220. Interleukin 17-producing CD4 $^+$ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages / L.E. Harrington, R.D. Hatton, P.R. Mangan // *Nat. Immunol.* – 2005. – V. 6, N 11. – P. 1123–1132.
221. Interleukin 17-producing gamma delta T cells increased in patients with active pulmonary tuberculosis / M.Y. Peng, Z.H. Wang, C.Y. Yao et al. // *Cell Mol. Immunol.* – 2008. – V. 5, N 3. – P. 203–208.
222. Interleukin-23-induced transcription factor blimp-1 promotes pathogenicity of T helper 17 cells / R. Jain, Y. Chen, Y. Kanno et al. // *Immunity*. – 2016. – V. 44, N 1. – P. 131–142.
223. Interleukin-17 regulates matrix metalloproteinase activity in human pulmonary tuberculosis / S. Singh, G. Maniakis-Grivas, U.K. Singh et al. // *J. Pathol.* – 2018. – V. 244, N 3. – P. 311–322.
224. Interleukin 22 inhibits intracellular growth of *Mycobacterium tuberculosis* by enhancing calgranulin A expression / R. Dhiman, S. Venkatasubramanian, P. Paidipally et al. // *J. Infect Dis.* – 2014. – V. 209. – P. 578–587.
225. Interleukin-22 receptor 1 is expressed in multinucleated giant cells: A study on intestinal tuberculosis and Crohn's disease / Z.Q. Yu, W.F. Wang, Y.C. Dai et al.

- // World J. Gastroenterol. – 2019. – V. 25, N 20. – P. 2473–2488.
226. Interleukin-23 instructs protective multifunctional CD4 T cell responses after immunization with the Mycobacterium tuberculosis subunit vaccine H1 DDA/TDB independently of interleukin-17A / K. Ritter, J. Behrends, H. Erdmann et al. // J. Mol. Med. (Berl). – 2021. – V. 99, N 11. – P. 1585–1602.
 227. Interleukins 1 beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells / E.V. Acosta-Rodrigues, G. Napolitani, A. Lanzayecchia et al. // Nat. Immunol. – 2007. – V. 8, N 9. – P. 942–949.
 228. Interplay between alveolar epithelial and dendritic cells and Mycobacterium tuberculosis / T.S. Rodrigues, B.J. Conti, T.F.C. Fraga-Silva et al. / J. Leukoc. Biol. – 2020. – V. 108, N 4. – P. 1139–1156.
 229. Intranasal vaccination with engineered BCG expressing CCL2 induces a stronger immune barrier against Mycobacterium tuberculosis than BCG / S. Guo, J. Ouyang, Z. Hu et al. // Mol. Ther. – 2024. – V. 32, N 11. – P. 3990–4005.
 230. In Vitro Differentiation of Naive CD4⁺ T Cells into Pathogenic Th17 Cells in Mouse / H. Wang, X. Liu, W. Huang et al. // J. Vis. Exp. – 2024. – V. 212. – P. e66718 (16 pages).
 231. Involvement of IL-17A-producing TCR $\gamma\delta$ T cells in late protective immunity against pulmonary Mycobacterium tuberculosis infection / M. Umemura, Y. Okamoto-Yoshida, A. Yahagi et al. // Immun. Inflamm. Dis. – 2016. – V. 4, N 4. – P. 401–412.
 232. Involvement of JAK/STAT signaling in the pathogenesis of inflammatory bowel disease / M. Coskun, M. Salem, J. Pedersen et al. // Pharmacol. Res. – 2013. – V. 76. – P. 1–8.
 233. Ito, T. Bidirectional roles of IL-22 in the pathogenesis of allergic airway inflammation / T. Ito, K. Hirose, H. Nakajima // Allergol. Int. – 2019. – V. 68, N 1. – P. 4–8.
 234. IRF4 deficiency abrogates lupus nephritis despite enhancing systemic cytokine production / M. Lech, M. Weidenbusch, O.P. Kulkarni et al. // J. Am. Soc.

- Nephrol. – 2011. – V. 22, N 8. – P. 1443–1452.
235. IV BCG Vaccination and Aerosol BCG Revaccination Induce Mycobacteria-Responsive $\gamma\delta$ T Cells Associated with Protective Efficacy against *M. tb* Challenge / A.L. Morrison, C. Sarfas, L. Sibley et al. // *Vaccines* (Basel). – 2023. – V. 11, N 10. – P. 1604 (25 pages).
 236. Iwanaga, N. Updates on T helper type 17 immunity in respiratory disease / N. Iwanaga, J.K. Kolls // *Immunology*. – 2019. – V. 156, N 1. – P. 3–8.
 237. Jiang, H. Mycobacterium tuberculosis (MTB) antigen-induced upregulation of interleukin-35 expression in patients with MTB infection: In vitro blockade of the effects of interleukin-35 on T lymphocyte subsets / H. Jiang, B. Cui, J. Zhang // *Pathog. Dis.* – 2021. – V. 79, N 6. – P. ftab035 (9 pages).
 238. Key recent advances in TB vaccine development and understanding of protective immune responses against Mycobacterium tuberculosis / T.J. Scriba, M.G. Netea, A.M. Ginsberg et al. // *Semin. Immunol.* – 2020. – V. 50. – P. 101431 (11 pages).
 239. Khader, S.A. IL-17 in protective immunity to intracellular pathogens / S.A. Khader, R. Gopal // *Virulence*. – 2010. – V. 1, N 5. – P. 423–427.
 240. Khader, S.A. IL-23 and IL-17 in tuberculosis / S.A. Khader, A.M. Cooper // *Cytokine*. – 2008. – V. 41, N 2. – P. 79–83.
 241. Klf10 favors Mycobacterium tuberculosis survival by impairing IFN- γ production and preventing macrophages reprogramming to micropinocytosis / E. Madrid-Paulino, D. Mata-Espinosa, J.C. León-Contreras et al. // *J. Leukoc. Biol.* – 2022. – V. 112, N 3. – P. 475–490.
 242. Koenig, S.P. Update in Tuberculosis/Pulmonary Infections 2015 / S.P. Koenig, J. Furin // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* – 2016. – V. 194, N 2. – P. 142–146.
 243. Korn, T. Role of IL-6 in the commitment of T cell subsets / T. Korn, M. Hiltensperger // *Cytokine*. – 2021. – V. 146. – P. 155654 (17 pages).
 244. Korta, A. The Role of IL-23 in the Pathogenesis and Therapy of Inflammatory Bowel Disease / A. Korta, J. Kula, K. Gomulka // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – V. 24, N 12. – P. 10172 (23 pages).
 245. Kynurenine-AhR reduces T-cell infiltration and induces a delayed T-cell immune

- response by suppressing the STAT1-CXCL9/CXCL10 axis in tuberculosis / X. Liu, M. Yang, P. Xu et al. // *Cell. Mol. Immunol.* – 2024. – V. 21, N 12. – P. 1426–1440.
246. Lee, G.R. The Balance of Th17 versus Treg Cells in Autoimmunity / G.R. Lee // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – V. 19, N 3. – P. 730–743.
247. Leisching, G.R. PI3-Kinase dg Catalytic Isoforms Regulate the Th-17 Response in Tuberculosis / G.R. Leisching // *Front. Immunol.* – 2019. – V. 10. – P. 2583 (7 pages).
248. Le Menn, G. The effects of post-translational modifications on Th17/Treg cell differentiation / G. Le Menn, A. Jabłońska, Z. Chen // *Biochim. Biophys. Acta. Mol. Cell. Res.* – 2022. – V. 1869, N 6. – P. 119223 (12 pages).
249. Li, H. IL-23/IL-17 Axis in Inflammatory Rheumatic Diseases / H. Li, G.C. Tsokos // *Clin. Rev. Allergy. Immunol.* – 2021. – V. 60, N 1. – P. 31–45.
250. Local IL-23 is required for proliferation and retention of skin-resident memory TH17 cells / S.K. Whitley, M. Li, S.W. Kashem et al. // *Sci. Immunol.* – 2022. – V. 7, N 77. – P. eabq3254 (32 pages).
251. Lockhart, E. L. IL-17 production is dominated by $\gamma\delta$ T cells rather than CD4 T cells during Mycobacterium tuberculosis infection / E. Lockhart, A.M. Green, J. Flynn // *J. Immunol.* – 2006. – V. 177, N 7. – P. 4662–4669.
252. Lohoff, M. Roles of interferon-regulatory factors in T-helper-cell differentiation / M. Lohoff, T.W. Mak // *Nat. Rev. Immunol.* – 2005. – V. 5, N 2. – P. 125–135.
253. Low dose of IL-2 combined with rapamycin restores and maintains the long-term balance of Th17/Treg cells in refractory SLE patients / C. Zhao, Y. Chu, Z. Liang et al. // *BMC Immunology.* – 2019. – V. 20. – P. 32 (9 pages).
254. LPS restores protective immunity in macrophages against Mycobacterium tuberculosis via autophagy / F. Fang, Q. Ge, R. Li et al. // *Mol. Immunol.* – 2020. – V. 124. – P. 18–24.
255. Lung IL-17A-Producing CD4⁺T Cells Correlate with Protection after Intrapulmonary Vaccination with Differentially Adjuvanted Tuberculosis Vaccines / E.L. Stewart, C. Counoupas, D.H. Quan et al. // *Vaccines (Basel).* –

2024. – V. 12, N 2. – P. 128 (19 pages).
256. Lyadova, I. Cell Differentiation Degree as a Factor Determining the Role for Different T-Helper Populations in Tuberculosis Protection / I. Lyadova, I. Nikitina // *Front. Immunol.* – 2019. – V. 10. – P. 972 (10 pages).
 257. Ma, L. A close look at current $\gamma\delta$ T-cell immunotherapy / L. Ma, Y. Feng, Z. Zhou // *Front. Immunol.* – 2023. – V. 14. – P. 1140623 (20 pages).
 258. Maintenance and recall of memory T cell populations against tuberculosis: Implications for vaccine design / X. Liu, H. Li, S. Li et al. // *Front. Immunol.* – 2023. – V. 14. – P. 1100741 (9 pages).
 259. March of Mycobacterium: miRNAs intercept host cell CD40 signalling / P. Chauhan, J. Dandapat, A. Sarkar, B. Saha // *Clin. Transl. Immunology.* – 2020. – V. 9, N 10. – P. e1179 (24 pages).
 260. Massagué, J. TGF- β signaling in health and disease / J. Massagué, D. Sheppard // *Cell.* – 2023. – V. 186, N 19. – P. 4007–4037.
 261. Mast cells express IL17A, IL17F and RORC, are activated and persist with IL-17 production in resolved skin of patients with chronic plaque-type psoriasis / T. Benezeder, N. Bordag, J. Woltsche et al. // *Res. Sq.* – 2024. – V. 16. – P. 3958361 (28 pages).
 262. McAleer, J.P. Directing traffic: IL-17 and IL-22 coordinate pulmonary immune defense / J.P. McAleer, J.K. Kolls // *Immunol. Rev.* – 2014. – V. 260, N 1. – P. 129–144.
 263. Mease, P. IL-23 and axial disease: do they come together? / P. Mease, F. van den Bosch // *Rheumatology (Oxford).* – 2021. – V. 60 (Suppl 4). – P. iv28–iv33.
 264. Metabolic control of TH17 and induced Treg cell balance by an epigenetic mechanism / T. Xu, K.M. Stewart, X. Wang et al. // *Nature.* – 2017. – V. 548. – P. 228–233.
 265. Metabolic Disturbance and Th17/Treg Imbalance Are Associated With Progression of Gingivitis / W. Wang, X. Wang, S. Lu et al. // *Front. Immunol.* – 2021. – V 12. – P. 670178 (15 pages).
 266. Mickael, M.E. Retinoid-related orphan receptor ROR γ in CD4⁺T cell-

- mediated intestinal homeostasis and inflammation / M.E. Mickael, S. Bhaumik, R. Basu // *Am. J. Pathol.* – 2020. – V. 190, N 10. – P. 1984–1999.
267. MIF promotes Th17 cell differentiation in rheumatoid arthritis through ATF6 signal pathway / G. Yan, R. Song, J. Zhang et al. // *Mol. Med.* – 2024. – V. 30, N 1. P. 237 (11 pages).
268. Miossec, P. Targeting IL-17 and TH17 cells in chronic inflammation / P. Miossec, J.K. Kolls // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2012. – V. 11, N 10. – P. 763–776.
269. Mitochondrial Transplantation Promotes Protective Effector and Memory CD4⁺ T Cell Response During Mycobacterium Tuberculosis Infection and Diminishes Exhaustion and Senescence in Elderly CD4⁺ T cells / C.A. Headley, S. Gautam, A. Olmo-Fontanez et al. // *Adv. Sci. (Weinh).* – 2024. – V. 11, N 36. – P. e2401077 (14 pages).
270. Mittal, S.K. Suppression of antigen presentation by IL-10 / S.K. Mittal, P.A. Roche // *Curr. Opin. Immunol.* – 2015. – V. 34. – P. 22–27.
271. Modulation of cytokine receptors by IL-2 broadly regulates differentiation into helper T cell lineages / W. Liao, J.-X. Lin, L. Wang et al. // *Nat. Immunol.* – 2011. – V. 12, N 6. – P. 551–559.
272. Molecular mechanisms underlying FOXP3 induction in human T cells / P.-Y. Mantel, N. Ouaked, B. Rückert et al. // *J. Immunol.* – 2006. – V. 176, N 6. – P. 3593–3602.
273. *M. tuberculosis* antigen-responsive IL17⁺ CD4 T cells are disproportionately spared in ART-suppressed HIV / P. Ogongo, A. Tran, F. Marzan et al. // *bioRxiv.* – 2023. – V. 111 – P. e23 (26 pages).
274. Much More Than IL-17A: Cytokines of the IL-17 Family Between Microbiota and Cancer / A. Brevi, L.L. Cogrossi, G. Grazia et al. // *Front. Immunol.* – 2020. – V. 11. – P. 565470 (19 pages).
275. Multi-Dimensionality Immunophenotyping Analyses of MAIT Cells Expressing Th1/Th17 Cytokines and Cytotoxic Markers in Latent Tuberculosis Diabetes Comorbidity / G.R. Kathamuthu, N. Pavan Kumar, K. Moideen et al. // *Pathogens.* – 2022. – V. 11, N 1. – P. 87 (14 pages).

276. Multifunctional T cell response in active pulmonary tuberculosis patients / S. Qin, R. Chen, Y. Jiang et al. // Int. Immunopharmacol. – 2021. – V. 99. – P. 107898 (11 pages).
277. Multimodally profiling memory T cells from a tuberculosis cohort identifies cell state associations with demographics, environment and disease / A. Nathan, J.I. Beynor, Y. Baglaenko et al. // Nat. Immunol. – 2021. – V. 22, N 6. – P. 781–793.
278. Murine cytomegalovirus promotes renal allograft inflammation via Th1/17 cells and IL-17A / R. Dhital, S. Anand, B. Graber et al. // Am. J. Transplant. – 2022. – V. 22, N 10. – P. 2306–2322.
279. Muro, R. T cell receptor signaling for $\gamma\delta$ T cell development / Muro R., Takayanagi H., Nitta T. // Inflammation and Regeneration. – 2019. – V. 39, N 6. – P. 11 (11 pages).
280. Mycobacterial-specific secretion of cytokines and chemokines in healthcare workers with apparent resistance to infection with *Mycobacterium tuberculosis* / M.S. Shey, A. Balfour, N. Masina et al. // Front. Immunol. – 2023. – V. 14. – P. 1176615 (10 pages).
281. Mycobacterium bovis and BCG induce different patterns of cytokine and chemokine production in dendritic cells and differentiation patterns in CD4⁺ T cells / X. Zhang, S. Li, Y. Luo et al. // Microbiology (Reading). – 2013. – V. 159. – P. 366–379.
282. *Mycobacterium tuberculosis* impedes CD40-dependent notch signaling to restrict Th₁₇polarization during infection / A.B. Enriquez, J.K. Sia, H.K. Dkhar et al. // Science. – 2022. – V. 25, N 5. – P. 104305 (28 pages).
283. Mycobacterium tuberculosis Load in Host Cells and the Antibacterial Activity of Alveolar Macrophages Are Linked and Differentially Regulated in Various Lung Lesions of Patients with Pulmonary Tuberculosis / E.G. Ufimtseva, N.I. Ereemeeva, T.V. Umpeleva et al. // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – V. 22, N 7. – P. 3452 (23 pages).
284. Mycobacterium tuberculosis low molecular weight T-cell antigen Mtb8.4 has heme-binding and fiber-forming properties / R. Singh, P. Kundu, G. Bhattacharje

- et al. // FEBS Lett. – 2022. – V. 596, N 20. – P. 2678–2695.
285. *Mycobacterium tuberculosis* Methyltransferase Rv1515c Can Suppress Host Defense Mechanisms by Modulating Immune Functions Utilizing a Multipronged Mechanism / A. Rani, A. Alam, F. Ahmad et al. // Front. Mol. Biosci. – 2022. – V. 9. – P. 906387 (20 pages).
 286. *Mycobacterium tuberculosis* RpfE-Induced Prostaglandin E2 in Dendritic Cells Induces Th1/Th17 Cell Differentiation / H.S. Park, S. Choi, Y.W. Back et al. // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – V. 22, N 14. – P. 7535 (17 pages).
 287. *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD4 T-cell scoring discriminates tuberculosis infection from disease / A. Mantei, T. Meyer, M. Schürmann et al. // Eur. Respir J. – 2022. – V. 60, N 1. – P. 2101780 (14 pages).
 288. Nanda, N., From Host Defense to Metabolic Signatures: Unveiling the Role of $\gamma\delta$ T Cells in Bacterial Infections / N. Nanda, M.P. Alphonse // Biomolecules. – 2024. – V. 14, N 2. – P. 225 (16 pages).
 289. Neurath, M.F. IL-23 in inflammatory bowel diseases and colon cancer / M.F. Neurath // Cytokine Growth Factor Rev. – 2019. – V. 45. – P. 1–8.
 290. New Insights Into TGF- β /Smad Signaling in Tissue Fibrosis / H.H. Hu, D.Q. Chen, Y.N. Wang et al. // Chem. Biol. Interact. – 2018. – V. 292. – P. 76–83.
 291. Neobaicalein Inhibits Th17 Cell Differentiation Resulting in Recovery of Th17/Treg Ratio through Blocking STAT3 Signaling Activation / J.Y. Chen, Y.J. Yang, X.Q. Ma et al. // Molecules. – 2022. – V. 28, N 1. – P. 18 (15 pages).
 292. NFAT primes the human RORC locus for ROR γ t expression in CD4⁺ T cells / H. Yahia-Cherbal, M. Rybczynska, D. Lovecchio et al. // Nat. Commun. – 2019. – N 10. – P. 4698.
 293. Nikoopour, E. IL-22, cell regeneration and autoimmunity / E. Nikoopour, S.M. Bellemore, B. Singh // Cytokine. – 2015. – V. 74, N 1. – P. 35–42.
 294. Nicotine Impairs the Response of Lung Epithelial Cells to IL-22 / H.M. Nguyen, J.A. Torres, S. Agrawal et al. // Mediators Inflamm. – 2020. – V. 2020. – P. 6705428 (9 pages).
 295. NK-like CD8⁺ $\gamma\delta$ T cells are expanded in persistent *Mycobacterium*

- tuberculosis* infection / R. Roy Chowdhury, J.R. Valainis, M. Dubey et al. // *Sci. Immunol.* – 2023. – V. 8, N 81. – P. eade3525 (33 pages).
296. Novel role for IL-22 in protection during chronic *Mycobacterium tuberculosis* HN878 infection / P. Treerat, O. Prince, A. Cruz-Lagunas et al. // *Mucosal Immunol.* – 2017. – V. 10, N 4. – P. 1069–1081.
 297. Ohue, Y. Regulatory T (Treg) cells in cancer: Can Treg cells be a new therapeutic target? / Y. Ohue, H. Nishikawa // *Cancer Sci.* – 2019. – V. 110, N 7. – P. 2080–2089.
 298. Old age-associated enrichment of peripheral T regulatory cells and altered redox status in pulmonary tuberculosis patients / M. Namdeo, R. Kandel, P.K. Thakur et al. // *Eur. J. Immunol.* – 2020. – V. 50, N 8. – P. 1195–1208.
 299. Optimal induction of T helper 17 cells in humans requires T cell receptor ligation in the context of Toll-like receptor activated monocytes / H.G. Evans, T. Suddason, I. Jackson et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2007. – V. 104, N 43. – P. 17034–17039.
 300. Optimization of human Th17 cell differentiation in vitro: evaluating different polarizing factors / M. Ganjalikhani Hakemi, K. Ghaedi, A. Andalib et al. // *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.* – 2011. – V. 47, N 8. – P. 581–592.
 301. Oxidative stress controls regulatory T cell apoptosis and suppressor activity and PD-L1-blockade resistance in tumor / T. Maj, W. Wang, J. Crespo et al. // *Nat. Immunol.* – 2017. – V. 18, N 12. – P. 1332–1341.
 302. Parigi, T.L. Blockade of IL-23: What is in the Pipeline? / T.L. Parigi, M. Iacucci, S. Ghosh // *J. Crohns. Colitis.* – 2022. – V. 16 (Suppl 2). – P. ii64–ii72.
 303. Peng, Y.F. Pulmonary tuberculosis and diabetes mellitus: Epidemiology, pathogenesis and therapeutic management (Review) / Y.F. Peng // *Med. Int. (Lond).* – 2023. – V. 4, N 1. – P. 4 (7 pages).
 304. Pharmacological inhibition of RORC2 enhances human Th17-Treg stability and function / D.A. Boardman, R.V. Garcia, S.M. Ivison et al. // *Eur. J. Immunol.* – 2020. – V. 50, N 9. – P. 1400–1411.
 305. Phenotype and function of peripheral blood $\gamma\delta$ T cells in HIV infection with

- tuberculosis / S. Zou, Y. Xiang, W. Guo et al. // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2022. – V. 12. – P. 1071880 (10 pages).
306. Phosphoenolpyruvate regulates the Th17 transcriptional program and inhibits autoimmunity / T.Y. Huang, M. Hirota, D. Sasaki et al. // *Cell. Rep.* – 2023. – V. 42, N 3. – P. 112205 (21 pages).
307. Pin1 maintains the effector program of pathogenic Th17 cells in autoimmune neuroinflammation / G. Fan, G. Li, L. Li et al. // *J. Autoimmun.* – 2024. – V. 147. – P. 103262 (19 pages).
308. PIM1 kinase phosphorylates the human transcription factor FOXP3 at serine 422 to negatively regulate its activity under inflammation / Z. Li, F. Lin, C. Zhuo et al. // *J. Biol. Chem.* – 2014. – V. 289, N 39. – P. 26872–26881.
309. PKM2 promotes Th17 cell differentiation and autoimmune inflammation by fine-tuning STAT3 activation / L.E.A. Damasceno, D.S. Prado, F.P. Veras et al. // *J. Exp. Med.* – 2020. – V. 217, N 10. – P. e20190613 (16 pages).
310. Plasma interleukin-23 and circulating IL-17A⁺IFN γ ⁺ex-Th17 cells predict opposing outcomes of anti-TNF therapy in rheumatoid arthritis / M.J. Millier, N.C. Fanning, C. Frampton et al. // *Arthritis Res. Ther.* – 2022. – V. 24, N 1. – P. 57 (10 pages).
311. Preferential differential gene expression within the WC1.1⁺ $\gamma\delta$ T cell compartment in cattle naturally infected with *Mycobacterium bovis* / S.A. Bhat, M. Elnaggar, T.J. Hall et al. // *Front. Immunol.* – 2023. – V. 14. – P. 1265038 (13 pages).
312. Prognostic values of serum IP-10 and IL-17 in patients with pulmonary tuberculosis / Y.C. Chen, C.H. Chin, S.F. Liu et al. // *Dis. Markers.* – 2011. – V. 31, N 2. – P. 101–110.
313. Profiling the pattern of the human T-cell receptor gammadelta complementary determinant region 3 repertoire in patients with lung carcinoma via high-throughput sequencing analysis / H. Chen, M. Zou, D. Teng et al. // *Cell. Mol. Immunol.* – 2018. – V. 14. – P. 1–10.
314. Pro-inflammatory human Th17 cells selectively express P-glycoprotein and are

- refractory to glucocorticoids / R. Ramesh, L. Kozhaya, K. McKevitt et al. // J. Exp. Med. – 2014. – V. 211, N 1. – P. 89–104.
315. Properties and origin of human Th17 cells / S. Romagnani, E. Maggi, F. Liotta et al. // Mol. Immunol. – 2009. – V. 47, N 1. – P. 3–7.
316. Pulmonary Mycobacterium tuberculosis control associates with CXCR3- and CCR6-expressing antigen-specific Th1 and Th17 cell recruitment / U. Shanmugasundaram, A.N. Bucsan, S.R. Ganatra et al. // JCI Insight. – 2020. – V. 5, N 14. – P. e137858 (18 pages).
317. Pyrazinamide enhances persistence of T-cell memory induced by tuberculosis subunit vaccine LT70 / H. Niu, C. Bai, F. Li et al. // Tuberculosis (Edinb). – 2022. – V. 135. – P. 102220 (11 pages).
318. Qin, Y. Metabolism Characteristics of Th17 and Regulatory T Cells in Autoimmune Diseases / Y. Qin, C. Gao, J. Luo // Front. Immunol. – 2022. – V. 13. – P. 828191 (15 pages).
319. Rarity of human T helper 17 cells is due to retinoic acid orphan receptor-dependent mechanisms that limit their expansion / V. Santarlasci, L. Maggi, M. Capone et al. // Immunity. – 2012. – V. 36, N 2. – P. 201–214.
320. Raveslout-Chávez, M.M. The Innate Immune Response to Mycobacterium tuberculosis Infection / M.M. Raveslout-Chávez, E. Van Dis, S.A. Stanley // Annu. Rev. Immunol. – 2021. – N 39. – P. 611–637.
321. Reduced Th17 Response in patients with tuberculosis correlates with IL-6R expression on CD4⁺ T cells / X. Chen, M. Zhang, M. Liao et al. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2010. – V. 181, N 7. – P. 734–742.
322. Recovery of the immune balance between Th17 and regulatory T cells as a treatment for systemic lupus erythematosus / J. Yang, X. Yang, H. Zou et al. // Rheumatology. – 2011. – V. 50, N 8. – P. 1366–1372.
323. Regulation and function of proinflammatory TH17 cells / G.J. Martinez, R.I. Nurieva, X.O. Yang, C. Dong // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 2008. – V. 1143, N. 6. – P. 188–211.
324. Regulation of Interferon- γ receptor (IFN- γ R) expression in macrophages during

- Mycobacterium tuberculosis infection / G. Kak, B.K. Tiwari, Y. Singh et al. // Biomol. Concepts. – 2020. – V. 11, N 1. – P. 76–85.
325. Regulation of the IL-21 gene by the NF-kappaB transcription factor c-Rel / G. Chen, K. Hardy, K. Bunting et al. // J. Immunol. – 2010 – V. 185, N 4. – P. 2350–2359.
326. Regulation of Th1/Th2 and Th17/Treg by pDC/mDC imbalance in primary immune thrombocytopenia / Q. Li, Y. Liu, X. Wang et al. // Exp. Biol. Med. (Maywood). – 2021. – V. 246, N 15. – P. 1688–1697.
327. Regulatory T cells antagonize proinflammatory response of IL-17 during cutaneous tuberculosis / C. Saini, P. Kumar, M. Tarique et al. // J. Inflamm. Res. – 2018. – N 11. – P. 377–388.
328. Regulatory T-cell suppressor program co-opts transcription factor IRF4 to control T(H)2 responses / Y. Zheng, A. Chaudhry, A. Kas et al. // Nature. – 2009. – V. 458, N 7236. – P. 351–356.
329. Reinvestigation of Classic T Cell Subsets and Identification of Novel Cell Subpopulations by Single-Cell RNA Sequencing / X. Wang, X. Shen, S. Chen et al. // J. Immunol. – 2022. – V. 208, N 2. – P. 396–406.
330. Relationship between expression mRNA gene Treg, Treg, CD4⁺, and CD8⁺ protein levels with TST in tuberculosis children: A nested case-control / R. Farsida, R. Shabariah, M. Hatta et al. // Ann. Med. Surg. (Lond). – 2020. – V. 61. – P. 44–47.
331. Relationship between Th17 immune response and cancer / H.S. Marques, B.B. de Brito, F.A.F. da Silva et al. // World J. Clin. Oncol. – 2021. – V. 12, N 10. – P. 845–867.
332. Reprogrammed FoxP3⁺ T regulatory cells become IL-17⁺ antigen-specific autoimmune effectors *in vitro* and *in vivo* / S. Radhakrishnan, R. Cabrera, E.L. Schenk et al. // J. Immunol. – 2008. – V. 181, N 5. – P. 3137–3147.
333. Requirement of interleukin-17A for systemic anti-*Candida albicans* host defense in mice / W. Huang, L. Na, P. L. Fidel, P. Schwarzenberger // J. Infect. Dis. – 2004. – V. 190, N 3. – P. 624–631.

334. Ribot, J.C. $\gamma\delta$ T cells in tissue physiology and surveillance / J.C. Ribot, N. Lopes, B. Silva-Santos // Nat. Rev. Immunol. – 2021. – V. 21, N 4. – P. 221–232.
335. Robert, M. The Th17 Pathway in Vascular Inflammation: Culprit or Consort? / M. Robert, P. Miossec, A. Hot // Front. Immunol. – 2022. – V. 13. – P. 888763 (16 pages).
336. Role of Interleukin-17 in Acute Pancreatitis / G. Li, H. Chen, L. Liu et al. // Front. Immunol. – 2021. – V. 12. – P. 674803 (13 pages).
337. Role of interleukin-22 in tuberculosis patients / S. Gupta, M. Banerjee, K. Gauba et al. // J. Basic. Clin. Physiol. Pharmacol. – 2022. – V. 34, N 1. – P. 83–89.
338. Role of NF- κ B during *Mycobacterium tuberculosis* Infection / N. Poladian, D. Orujyan, W. Narinyan et al. // Int. J. Mol Sci. – 2023. – V. 24, N 2. – P. 1772 (12 pages).
339. Role of the IL-23/IL-17 Pathway in Rheumatic Diseases: An Overview / C. Schinocca, C. Rizzo, S. Fasano et al. // Front. Immunol. – 2021. – V. 22, N 12. – P. 637829 (17 pages).
340. Ronacher, K. IL-22: An Underestimated Player in Natural Resistance to Tuberculosis? / K. Ronacher, R. Sinha, M. Cestari // Front. Immunol. – 2018. – V. 25, N 9. – P. 2209 (7 pages).
341. RORC2 is involved in T cell polarization through interaction with the FoxP3 promoter / S. Burgler, P.Y. Mantel, C. Bassin et al. // J. Immunology. – 2010. – V. 184, N 11. – P. 6161–6169.
342. Salminen, A. Increased immunosuppression impairs tissue homeostasis with aging and age-related diseases / A. Salminen // J. Mol. Med. – 2021. – V. 99, N 1. – P. 1–20.
343. Sanjabi, S. Regulation of the Immune Response by TGF- β : From Conception to Autoimmunity and Infection / S. Sanjabi, S.A. Oh, M.O. Li // Cold Spring Harb. Perspect Biol. – 2017. – V. 9, N 6. – P. a022236 (33 pages).
344. Saravia, J. Helper T cell differentiation / J. Saravia, N.M. Chapman, H. Chi // Cell. Mol. Immunol. – 2019. – V. 16, N 7. – P. 634–643.
345. Schmidt, A. Molecular mechanisms of Treg-mediated T cell suppression / A.

- Schmidt, N. Oberle, P.H. Krammer // *Front. Immunol.* – 2012. – V. 3. – P. 20 (20 pages).
346. Schumertl, T. IL-6 Signaling in Immunopathology: From Basic Biology to Selective Therapeutic Intervention / T. Schumertl, J. Lokau, C. Garbers // *Immunotargets Ther.* – 2025. – V. 14. – P. 681–695.
 347. Serum CA-125 for the diagnosis of pulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis / P. Zhao, Q. Yu, A. Zhang et al. // *BMC Infect. Dis.* – 2021. – V. 21, N 1. – P. 1091.
 348. Sha, Y. Activated IL-1RI Signaling Pathway Induces Th17 Cell Differentiation via Interferon Regulatory Factor 4 Signaling in Patients with Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis / Y. Sha, S. Markovic-Plese // *Front. Immunol.* – 2016. – V. 7. – P. 543 (9 pages).
 349. Shen, H. The crucial roles of Th17-related cytokines/signal pathways in M. tuberculosis infection / H. Shen, Z.W. Chen // *Cell. Mol. Immunol.* – 2018 – V. 15, N 3. – P. 216–225.
 350. Single-cell profiling identifies T cell subsets associated with control of tuberculosis dissemination / J. Jiang, Z. Cao, L. Xiao et al. // *Clin. Immunol.* – 2023. – V. 248. – P. 109266 (13 pages).
 351. Single-cell RNA-sequencing reveals heterogeneity and intercellular crosstalk in human tuberculosis lung / L. Wang, H. Ma, Z. Wen et al. // *J. Infect.* – 2023. – V. 87, N 5. – P. 373–384.
 352. Smear-positive pulmonary tuberculosis patients with previously abnormal chest radiographs: missed opportunities for early diagnosis / L.C. Galamay, C.B.E. Chee, K.W. Khin Mar et al. // *Singapore Med. J.* – 2021. – V. 62, N 6. – P. 296–299.
 353. SOCS3 ablation enhances DC-derived Th17 immune response against *Candida albicans* by activating IL-6/STAT3 in vitro / D. Shi, J. Yang, Q. Wang et al. // *Life Sci.* – 2019. – V. 222. – P. 183–194.
 354. Specific CD4⁺ T cell phenotypes associate with bacterial control in people who «resist» infection with *Mycobacterium tuberculosis* / M. Sun, J.M. Phan, N.S.

- Kieswetter et al. // Nat. Immunol. – 2024. – V. 25, N 8. – P. 1411–1421.
355. STAT3 regulates cytokine-mediated generation of inflammatory helper T cells / X. O. Yang, A. D. Panopoulos, R. Nurieva et al. // J. Biol. Chem. – 2007. – V. 282, N 13. – P. 9358–9363.
356. STAT3 regulation of Mtb-specific T cell function in active pulmonary tuberculosis patients / R. Chen, M. Li, S. Qin et al. // Int. Immunopharmacol. – 2023. – V. 116. – P. 109748 (17 pages).
357. Synchronization of Dendritic Cell Activation and Antigen Exposure Is Required for the Induction of Th1/Th17 Responses / A. T. Kamath, B. Mastelic, D. Christensen et al. // J. Immunol. – 2012. – V. 188, N 10. – P. 4828–4837.
358. Synergistic Induction of Macrophage Inflammatory Protein-3 α /CCL20 Production by Interleukin-17A and Tumor Necrosis Factor- α ; in Nasal Polyp Fibroblasts / M. Nonaka, N. Ogihara, A. Fukumoto et al. // World Allergy Organ. J. – 2009. – V. 2, 10. – P. 218–223.
359. Systemic immune dysregulation in severe tuberculosis patients revealed by a single-cell transcriptome atlas / Y. Wang, Q. Sun, Y. Zhang et al. // J. Infect. – 2023. – V. 86, N 5. – P. 421–438.
360. Tang, M. Interleukin-17A Interweaves the Skeletal and Immune Systems / M. Tang, L. Lu, X. Yu // Front. Immunol. – 2021. – V. 11. – P. 625034 (11 pages).
361. Targeting TGF- β signal transduction for fibrosis and cancer therapy / D. Peng, M. Fu, M. Wang et al. // Mol. Cancer. – 2022. – V. 21, N 1. – P. 104 (20 pages).
362. Targeting Unconventional Host Components for Vaccination-Induced Protection Against TB / E. Nemes, S.A. Khader, R.V. Swanson et al. // Front. Immunol. – 2020. – V. 11. – P. 1452 (9 pages).
363. T-bet represses T(H)17 differentiation by preventing Runx1-mediated activation of the gene encoding ROR γ / V. Lazarevic, X. Chen, J.H. Shim et al. // Nat. Immunol. – 2011. – V. 12, N 1. – P. 96–104.
364. T-cell signature cytokines distinguish pulmonary sarcoidosis from pulmonary tuberculosis / R. Jain, R. Kumari, S. Chakraborty et al. // Eur. J. Immunol. – 2023. – V. 53, N 10. – P. e2250255 (11 pages).

365. T cells in health and disease / L. Sun, Y. Su, A. Jiao et al. // *Signal Transduct. Target. Ther.* – 2023. – V. 8, N 1. – P. 235 (50 pages).
366. T cell receptor repertoire deciphers anti-tuberculosis immunity / H. Bo, H. Jiang, J. Xiong et al. // *Int. Immunopharmacol.* – 2024. – V. 138. – P. 112252 (8 pages).
367. TCR signaling induces STAT3 phosphorylation to promote TH17 cell differentiation / Z. Qin, R. Wang, P. Hou et al. // *J. Exp. Med.* – 2024. – V. 221, N 3. – P. e20230683 (16 pages).
368. TGF- β signaling in health, disease, and therapeutics / Z. Deng, T. Fan, C. Xiao et al. // *Signal. Transduct. Target. Ther.* – 2024. – V. 9, N 1. – P. 61 (40 pages).
369. TGF- β signaling in Th17 cells promotes IL-22 production and colitis-associated colon cancer / L.G. Perez, J. Kempinski, H.M. McGee et al. // *Nat. Commun.* – 2020. – V. 11, N 1. – P. 2608 (14 pages).
370. The heterogeneous human memory CCR6⁺ T helper-17 populations differ in T-bet and cytokine expression but all activate synovial fibroblasts in an IFN γ -independent manner / W. Dankers, H. den Braanker, S.M.J. Paulissen et al. // *Arthritis. Res. Ther.* – 2021. – V. 23, N 1. – P 157 (14 pages).
371. The IL-17/IL-23 Axis and Its Genetic Contribution to Psoriatic Arthritis / M. Vecellio, V.X. Hake, C. Davidson et al. // *Front. Immunol.* – 2021. – V. 11. – P. 596086 (10 pages).
372. The IL-23/IL-17 Pathway in Inflammatory Skin Diseases: From Bench to Bedside / T. Liu, S. Li, S. Ying et al. // *Front. Immunol.* – 2020. – V. 11. – P. 594735 (13 pages).
373. T helper 17 lineage differentiation is programmed by orphan nuclear receptor ROR alpha and ROR gamma / X.O. Yang, B.P. Pappu, R. Nurieva et al. // *Immunity.* – 2008. – V. 28, N 1. – P. 29–39.
374. The neutrophil antimicrobial peptide cathelicidin promotes Th17 differentiation / D. Minns, K.J. Smith, V. Alessandrini et al. // *Nat Commun.* – 2021. – V. 12, N 1. P. 1285 (16 pages).
375. Therapeutic role of interferon- γ in experimental autoimmune encephalomyelitis is mediated through a tolerogenic subset of splenic CD11b⁺ myeloid cells / G.

- Arellano, E. Acuña, E. Loda et al. // J. Neuroinflammation. – 2024. – V. 21, N 1. – P. 144 (17 pages).
376. The Role of IL-23 Inhibitors in Crohn's Disease / J. Fanizza, F. D'Amico, F. Lusetti et al. // J. Clin. Med. – 2023. – V. 13, N 1. – P. 224 (19 pages).
377. The role of Th17 cells in inflammatory bowel disease and the research progress / L. Chen, G. Ruan, Y. Cheng et al. // Front. Immunol. – 2023. – V. 13. – P. 1055914 (17 pages).
378. Th1 and Th17 Cells in Tuberculosis: Protection, Pathology, and Biomarkers / I.V. Lyadova, A.V. Panteleev // Mediators of Inflamm. – 2015. – V. 2015. – P. 854507.
379. Th1, Th17, and Th1Th17 Lymphocytes during Tuberculosis: Th1 Lymphocytes Predominate and Appear as Low-Differentiated CXCR3⁺CCR6⁺ Cells in the Blood and Highly Differentiated CXCR3⁺CCR6⁻ Cells in the Lungs / I.Yu. Nikitina, A.V. Panteleev, G.A. Kosmiadi et al. // J. Immunol. – 2018. – V. 200, N 6. – P. 2090–2103.
380. Th1Th17_{CM} lymphocyte subpopulation as a predictive biomarker of disease activity in multiple sclerosis patients under dimethyl fumarate or fingolimod treatment / B. Quirant-Sanchez, S. Presas-Rodriguez, M.J. Mansilla et al. // Mediators Inflamm. 2019. V. 2019. P. 8147803 (9 pages).
381. Th17 and Th1 cells in systemic lupus erythematosus with focus on lupus nephritis / R. Fakhfakh, Z. Zian, N. Elloumi et al. // Immunol. Res. – 2022. – V. 70, N 5. – P. 644–653.
382. Th17/1 and ex-Th17 cells are detected in patients with polyarticular juvenile arthritis and increase following treatment / S. Wood, J. Branch, P. Vasquez et al. // Pediatr. Rheumatol. Online J. – 2024. – V. 22, N 1. – P. 32 (11 pages).
383. Th17 cells: A new target in kidney disease research / T. Zhang, H. Huo, Y. Zhang et al. // Int. Rev. Immunol. – 2024. – V. 43, N 5. – P. 263-279.
384. TH17 cells and corticosteroid insensitivity in severe asthma / Y. Xie, P.W. Abel, T.B. Casale, Y. Tu // J. Allergy. Clin. Immunol. – 2022. – V. 149, N 2. – P. 467–479.
385. Th17 cells and inflammation in neurological disorders: Possible mechanisms of

- action / Y. Shi, B. Wei, L. Li et al. // *Front. Immunol.* – 2022. – V. 13. – P. 932152 (12 pages).
386. Th17 Cells and IL-17A in Ischemic Stroke / J. Wang, Y. Gao, Y. Yuan et al. // *Mol. Neurobiol.* – 2024. – V. 61, N 4. – P. 2411–2429.
387. Th17 Cell-Derived Amphiregulin Promotes Colitis-Associated Intestinal Fibrosis Through Activation of mTOR and MEK in Intestinal Myofibroblasts / X. Zhao, W. Yang, T. Yu et al. // *Gastroenterology.* – 2023. – V. 164, N 1. – P. 89–102.
388. Th17 cells in human disease. / L.A. Tesmer, S.K. Lundy, S. Sarkar, D.A. Fox // *Immunol. Rev.* – 2008. – V. 223. – P. 87–113.
389. Th17 cytokines and factors modulating their activity in patients with pernicious anemia / D. Kajdaniuk, W. Foltyn, E. Morawiec-Szymonik et al. // *Immunol. Res.* – 2023. – V. 71, N 6. – P. 873–882.
390. TH17 lineage differentiation is programmed by orphan nuclear receptors ROR α and ROR γ / X.O. Yang, B.P. Pappu, R. Nurieva, et al. // *Immunity.* – 2008. – V. 28, N 1. – P. 29–39.
391. Th17/Treg Imbalance in Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Clinical and Experimental Evidence / J.D. Lourenço, J.T. Ito, M.A. Martins et al. // *Front. Immunol.* – 2021. – V. 12. – P. 804919 (11 pages).
392. Th22 response induced by Mycobacterium tuberculosis strains is closely related to severity of pulmonary lesions and bacillary load in patients with multi-drug-resistant tuberculosis / B.R. Imperiale, A. García, A. Minotti et al. // *Clin. Exp. Immunol.* – 2021. – V. 203, N 2. – P. 267–280.
393. The Alterations in and the Role of the Th17/Treg Balance in Metabolic Diseases / S. Zhang, X. Gang, S. Yang et al. // *Front. Immunol.* – 2021. – V. 12. – P. 678355 (14 pages).
394. The development of inflammatory T(H)-17 cells requires interferon-regulatory factor 4 / A. Brustle, S. Heink, M. Huber et al. // *Nat. Immunol.* – 2007. – V. 8, N 9. – P. 958–966.
395. The divergent outcome of IL-4R α signalling on Foxp3 T regulatory cells in listeriosis and tuberculosis / J.E. Chia, R.P. Rousseau, M. Ozturk et al. // *Front.*

- Immunol. – 2024. – V. 15. – P. 1427055 (16 pages).
396. The effect of adjuvants and delivery systems on Th1, Th2, Th17 and Treg cytokine responses in mice immunized with Mycobacterium tuberculosis-specific proteins / H.A. Safar, A.S. Mustafa, H.A. Amoudy et al. // PLoS One. – 2020. – V. 15, N 2. – P. e0228381 (17 pages).
 397. The Function and Role of the Th17/Treg Cell Balance in Inflammatory Bowel Disease / J.-B. Yan, M.-M. Luo, Z.-Y. Chen et al. // J. Immunol. Res. – 2020. – V. 2020. – P. 8813558.
 398. The heterogeneous human memory CCR6⁺ T helper-17 populations differ in T-bet and cytokine expression but all activate synovial fibroblasts in an IFN γ -independent manner / W. Dankers, H. den Braanker, S.M.J. Paulissen et al. // Arthritis Res. Ther. – 2021. – V. 23, N 1. – P. 157 (14 pages).
 399. The immune landscape in tuberculosis reveals populations linked to disease and latency / E. Esaulova, S. Das, D.K. Singh et al. // Cell Host Microbe. – 2021. – V. 29, N 2. – P. 165–178.
 400. The Immunoregulation of Th17 in Host against Intracellular Bacterial Infection / Y. Li, C. Wei, H. Xu et al. // Mediators Inflamm. – 2018. – V. 2018. – P. 6587296 (13 pages).
 401. The involvement of TH17 cells in the pathogenesis of IBD / P. Jiang, C. Zheng, Y. Xiang et al. // Cytokine Growth Factor Rev. – 2023. – V. 69. – P. 28–42.
 402. The IRF family transcription factors in immunity and oncogenesis / T. Tamura, H. Yanai, D. Savitsky et al. // Annu. Rev. Immunol. – 2008. – V. 26, N 1. – P. 535–584.
 403. The microbiota regulates type 2 immunity through ROR γ t⁺ T cells / C. Ohnmacht, J.H. Park, S. Cording et al. // Science. – 2015. – V. 349, N 6251. – P. 989–993.
 404. The Mincle-activating adjuvant TDB induces MyD88-dependent Th1 and Th17 responses through IL-1R signaling / C. Desel, K. Werninghaus, M. Ritter et al. // PLoS One. – 2013. – V. 8, N 1. – P. e53531.
 405. The NF-kappaB transcription factor c-Rel is required for Th17 effector cell development in experimental autoimmune encephalomyelitis / G. Chen, K.

- Hardy, E. Pagler et al. // J. Immunol. – 2011. – V. 187, N 9. – P. 4483–4491.
406. The polarization of immune cells in the tumour environment by TGF β / R.A. Flavell, S. Sanjabi, S.H. Wrzesinski, P. Licona-Limon // Nat. Rev. Immunol. – 2010. – V. 10. – P. 554–567.
407. The Role of Dendritic Cells in TB and HIV Infection / R. Abraham, E. Chiang, J. Haquang et al. // J. Clin. Med. – 2020. – V. 9, N 8. – P. 2661 (15 pages).
408. The role of IL-17 and anti-IL-17 agents in the immunopathogenesis and management of autoimmune and inflammatory diseases / G. Berry, S. Dossou, C. Kashif et al. // Int. Immunopharmacol. – 2022. – V. 102. – P. 108402–108403.
409. The role of interferon-gamma and interferon-gamma receptor in tuberculosis and nontuberculous mycobacterial infections / J. Ghanavi, P. Farnia, P. Farnia et al. // Int. J. Mycobacteriol. – 2021. – V. 10, N 4. – P. 349–357.
410. The Role of Neutrophils in the Induction of Specific Th1 and Th17 during Vaccination against Tuberculosis / M.M. Trentini, F.M. de Oliveira, A. Kipnis, A.P. Junqueira-Kipnis // Front Microbiol. – 2016. – V. 7. – P. 898 (13 pages).
411. The role of TH17 cells in multiple sclerosis: Therapeutic implications / T. Moser, K. Akgün, U. Proschmann et al. // Autoimmun. Rev. – 2020. – V. 19, N 10. – P. 102647 (15 pages).
412. The TGF- β superfamily cytokine Activin-A is induced during autoimmune neuroinflammation and drives pathogenic Th17 cell differentiation / B. Wu, S. Zhang, Z. Guo et al. // Immunity. – 2021. – V. 54, N 2. – P. 308–323.
413. The Th17 immune response is controlled by the Rel-RORgamma-RORgamma T transcriptional axis / Q. Ruan, V. Kameswaran, Y. Zhang et al. // J. Exp. Med. – 2011. – V. 208, N 11. – P. 2321–2333.
414. The T helper type 17/regulatory T cell imbalance was associated with Ras-GTPase overexpression in patients with pulmonary hypertension associated with chronic obstructive pulmonary disease / R. Zhu, X. Xie, N. Wang et al. // Immunology. – 2019. – V. 157, N 4. – P. 304–311.
415. The Treatment with Interleukin 17 Inhibitors and Immune-Mediated Inflammatory Diseases / L. Țiburcă, M. Bembea, D.C. Zaha et al. // Curr. Issues

- Mol. Biol. – 2022. – V. 44, N 5. – P. 1851–1866.
416. Thomas, R. Th17/Treg Imbalance: Implications in Lung Inflammatory Diseases / R. Thomas, S. Qiao, X. Yang // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – V. 24, N 5. – P. 4865 (11 pages).
 417. Tissue-resident-like CD4⁺ T cells secreting IL-17 control *Mycobacterium tuberculosis* in the human lung / P. Ogongo, L.B. Tereza, A. Ardian et al. // J. Clin. Invest. – 2021. – V. 131, N 10. – P. 142014 (14 pages).
 418. Torrado, E. IL-17 and Th17 cells in tuberculosis / E. Torrado, A.M. Cooper // Cytokine Growth Factor Rev. – 2010. – V. 21, N 6. – P. 455–462.
 419. Transcription Factor IRF4 Dysfunction Affects the Immunosuppressive Function of Treg Cells in Patients with Primary Immune Thrombocytopenia / M. Tang, L. Cheng, F. Li et al. // Biomed. Res. Int. – 2019. – V. 2019. – P. 11 (11 pages).
 420. Transcriptional analysis of human peripheral blood mononuclear cells stimulated by *Mycobacterium tuberculosis* antigen / J. Wei, Guo F., Song Y. et al. // Front. Cell. Infect. Microbiol. – 2023. – V. 13. P. 1255905 (14 pages).
 421. Transcriptional and posttranslational regulation of Th17/Treg balance in health and disease / W. Zhang, X. Liu, Y. Zhu et al. // Eur. J. Immunol. – 2021. – V. 51, N 9. – P. 2137–2150.
 422. Transcription factor ROR α enforces stability of the Th17 cell effector program by binding to a Rorc cis-regulatory element / J.A. Hall, M. Pokrovskii, L. Kroehling et al. // Immunity. – 2022. – V. 55, N 11. – P. 2027–2043.
 423. Transforming growth factor- β 1 in regulatory T cell biology / J.M. Moreau, M. Velegraki, C. Bolyard et al. // Sci. Immunol. – 2022. – V. 7, N 69. – P. eabi4613 (31 pages).
 424. Transforming growth factor- β regulation of immune responses / M.O. Li, Y.Y. Wan, S. Sanjabi et al. // Annu. Rev. Immunol. – 2006. – V. 24. – P. 99–146.
 425. Tuberculosis and T cells: Impact of T cell diversity in tuberculosis infection / D. Vats, G. Rani, A. Arora et al. // Tuberculosis (Edinb). – 2024. – V. 149. – P. 102567 (9 pages).
 426. Tumor metabolite lactate promotes tumorigenesis by modulating MOESIN

- lactylation and enhancing TGF- β signaling in regulatory T cells / J. Gu, J. Zhou, Q. Chen et al. // *Cell. Rep.* – 2022. – V. 39, N 12. – P. 110986 (18 pages).
427. Upregulation of Cytokines and Differentiation of Th17 and Treg by Dendritic Cells: Central Role of Prostaglandin E2 Induced by *Mycobacterium bovis* / H. Liu, X. Xiong, W. Zhai et al. // *Microorganisms.* – 2020. – V. 8, N 2. – P. 195 (21 pages).
428. Vaccination with Mincle agonist UM-1098 and mycobacterial antigens induces protective Th1 and Th17 responses / V. Rungelrath, M. Ahmed, L. Hicks et al. // *NPJ Vaccines.* – 2024. – V. 9, N 1. – P. 100 (15 pages).
429. Vernal, R. Th17 and Treg cells, two new lymphocyte subpopulations with a key role in the immune response against infection / R. Vernal, J.A. Garcia-Sanz // *Infect. Disord. Drug Targets.* – 2008. – V. 8, N 4. – P. 207–220.
430. Waite, J.C. Th17 response and inflammatory autoimmune diseases / J.C. Waite, D. Skokos // *Int. J. Inflam.* – 2012. – V. 2012. – P. 819467 (10 pages).
431. Walsh, K.P., Dendritic cells and other innate determinants of T helper cell polarization / K.P. Walsh, K.H. Mills // *Trends Immunol.* – 2013. – V. 34, N 11. – P. 521–530.
432. Wang, J. Intricacies of TGF- β signaling in Treg and Th17 cell biology / J. Wang, X. Zhao, Y.Y. Wan // *Cell. Mol. Immunol.* – 2023. – V. 20, N 9. – P. 1002–1022.
433. When worlds collide: Th17 and Treg cells in cancer and autoimmunity / H.M. Knochelmann, C.J. Dwyer, S.R. Bailey et al. // *Cell. Mol. Immunol.* – 2018. – V. 15, N 5. – P. 458–469.
434. WHO's Global TB Programme. WHO's new end TB strategy / M. Uplekar, D. Weil, K. Lonnroth et al. // *Lancet.* – 2015. – V. 2, N 385. – P. 1799–1801.
435. Wik, J.A. T Cell Metabolism in Infection / J.A. Wik, B.S. Skålhegg // *Front. Immunol.* – 2022. – V. 13. – P. 840610 (17 pages).
436. Withaferin A Protects against Primary and Recurrent Tuberculosis by Modulating Mycobacterium-Specific Host Immune Responses / A. Kumari, I. Pahuja, K. Negi et al. // *Microbiol Spectr.* – 2023 – V. 11, N 2. – P. e0058323 (20 pages).
437. Wu, B. Molecular control of pathogenic Th17 cells in autoimmune diseases / B.

- Wu, Y. Wan // *Int. Immunopharmacol.* – 2020. – V. 80. – P. 106187 (17 pages).
438. Xie, Y. TH17 cells and corticosteroid insensitivity in severe asthma / Y. Xie, P.W. Abel, T.B. Casale, Y. Tu // *J. Allergy. Clin. Immunol.* – 2022. – V. 149, N 2. – P. 467–479.
439. Zhang, S. The role of transforming growth factor β in T helper 17 differentiation / S. Zhang // *Immunology.* – 2018. – V. 155, N 1. – P. 24–35.
440. Zhang, Y.E. Mechanistic insight into contextual TGF- β signaling / Y.E. Zhang // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 2017. – N 51. – P. 1–7.
441. Zhang, Y. Treg: A Promising Immunotherapeutic Target in Oral Diseases / Y. Zhang, J. Guo, R. Jia // *Front. Immunol.* – 2021. – V. 12. – P. 667862 (15 pages).
442. Zheng, S.G. Regulatory T cells vs Th17: differentiation of Th17 versus Treg, are the mutually exclusive / S.G. Zheng // *Am. J. of Clin Exp. Immunol.* – 2013. – V. 2, N 1. – P. 94–106.