

НАРУШЕНИЯ В СУБПОПУЛЯЦИОННОМ СОСТАВЕ Т-ХЕЛПЕРОВ 17 И ФОЛЛИКУЛЯРНЫХ Т-ХЕЛПЕРОВ У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

И.В. Кудрявцев^{1,2,3}, М.К. Серебрякова², А.А. Старшинова¹, Ю.С. Зинченко^{1,4}, Н.Ю. Басанцова^{1,4}, Е.Н. Беляева^{4,5}, М.В. Павлова⁴, П.К. Яблонский^{1,4}

¹ ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербурга, Россия

³ ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербурга, Россия

⁴ ФГБУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

⁵ СПбГБУЗ Городская многопрофильная больница № 2, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Туберкулез (ТБ) является одним из самых распространенным среди всех современных инфекционных заболеваний в мире. *Mycobacterium tuberculosis* — внутриклеточный патоген, для эффективной элиминации которого необходима активация Т-хелперов 1 типа (Th1), синтезирующих IFN γ для активации функциональной активности тканевых макрофагов. Помимо Th1, в элиминации бактериальных патогенов могут принимать участие различные субпопуляции Th17 и фолликулярных Т-хелперов (Tfh), способных к продукции широкого спектра цитокинов, включая IFN γ . Поэтому целью данного исследования являлся анализ субпопуляционного состава Th клеток при ТБ. При помощи многоцветной проточной цитометрии у больных ТБ (n = 40) и условно здоровых добровольцев (n = 30) были выявлены основные субпопуляции CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов. Было показано, что при ТБ в циркуляции снижался уровень CD45RA⁻CCR7⁺ Th центральной памяти (СМ). В пределах СМ у больных ТБ достоверно (p = 0,012) возрастало относительное содержание Th2 клеток с 7,21% (5,64; 9,84) до 9,11% (6,95; 13,77), а уровень Th17 достоверно (p = 0,016) снижался с 40,39% (35,41; 47,79) до 35,92% (27,72; 41,06), тогда как Th1 и Tfh достоверно не изменялись. Среди CCR6⁺ СМ Th при ТБ выявлено снижение CCR4⁻CXCR3⁺ Th17.1 клеток с 52,26% (46,45; 56,95) до 42,87% (33,64; 49,45) при p < 0,001, тогда как уровни «классических» CCR4⁺CXCR3⁻ Th17 и CCR6⁺DP Th17 в периферической крови больных достоверно возрастали (p = 0,005 и p = 0,002). Более того, при инфицировании *M. tuberculosis* наблюдалось изменение субпопуляционного состава Tfh, связанное с увеличением (p = 0,021) уровня в циркуляции Tfh2 с фенотипом CXCR3⁻CCR6⁻ на фоне снижения относительного содержания Tfh1 клеток (p = 0,036). При изучении субпопуляционного состава CCR6⁺ Th17 эффекторной памяти (CD45RA⁻CCR7⁻) в периферической крови больных ТБ было обнаружено достоверное (p = 0,006) снижение Th17.1 лимфоцитов с 61,76% (54,01; 65,63) до 54,43% (41,19; 91,92), тогда как уровень «дважды позитивных» Th17 при инфицировании *M. tuberculosis* достоверно возрастал по сравнению с группой контроля (20,83% (15,12; 30,87) и 12,93% (9,80; 19,01) соответственно, при

Адрес для переписки:

Кудрявцев Игорь Владимирович
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12,
ФГБНУ Институт экспериментальной медицины.
Тел.: 8 (812) 234-29-29.
E-mail: igorek1981@yandex.ru

Contacts:

Igor V. Kudryavtsev
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Akademika Pavlova str., 12,
Scientific Research Institute of Experimental Medicine.
Phone: +7 (812) 234-29-29.
E-mail: igorek1981@yandex.ru

Библиографическое описание:

Кудрявцев И.В., Серебрякова М.К., Старшинова А.А., Зинченко Ю.С., Басанцова Н.Ю., Беляева Е.Н., Павлова М.В., Яблонский П.К. Нарушения в субпопуляционном составе Т-хелперов 17 и фолликулярных Т-хелперов у больных туберкулезом легких // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 2. С. 304–314. doi: 10.15789/2220-7619-2019-2-304-314

Citation:

Kudryavtsev I.V., Serebryakova M.K., Starshinova A.A., Zinchenko Yu.S., Basantsova N.Yu., Belyaeva E.N., Pavlova M.V., Yablonskiy P.K. Altered peripheral blood Th17 and follicular T-helper subsets in patients with pulmonary tuberculosis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2019, vol. 9, no. 2, pp. 304–314. doi: 10.15789/2220-7619-2019-2-304-314

Работа поддержана грантом Правительства РФ (договор № 14.W03.31.0009 от 13.02. 2017 г.) о выделении гранта для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых

$p < 0,001$). Полученные результаты свидетельствуют о том, что при инфекционном процессе, вызванном *M. tuberculosis*, относительное содержание IFN γ -продуцирующих клеток среди Th17 и Tfh снижается по сравнению с контролем. Причем, эти изменения затрагивают как клетки центральной памяти, «патрулирующие» периферические органы иммунной системы, так и клетки эффекторной памяти, способные покидать кровоток и мигрировать в очаг проникновения патогена.

Ключевые слова: туберкулез, хемокиновые рецепторы, CD3⁺CD4⁺ центральной памяти, T-хелперы 17, Th17.1, фолликулярные T-хелперы.

ALTERED PERIPHERAL BLOOD Th17 AND FOLLICULAR T-HELPER SUBSETS IN PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS

Kudryavtsev I.V.^{a,b,c}, Serebryakova M.K.^b, Starshinova A.A.^a, Zinchenko Yu.S.^{a,d}, Basantsova N.Yu.^{a,d}, Belyaeva E.N.^{d,e}, Pavlova M.V.^d, Yablonskiy P.K.^{a,d}

^a St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

^b Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

^c Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

^d St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation

^e City Multi-Profile Hospital No. 2, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Tuberculosis (TB) is one of the most common infections worldwide. Eradication of an intracellular pathogen *M. tuberculosis* requires to induce a Th1 response by activating IFN γ -producing tissue macrophages. Along with Th1 cells, various subsets of Th17 and follicular T-helper cells (Tfh) able to secrete a broad range of cytokines, including IFN γ , can also be involved in eliminating bacterial pathogens. It justified analyzing in this study changes in percentage of various peripheral blood Th subsets, including Th1, Th2, Th17 and Tfh cells, in TB patients. For this, major CD3⁺CD4⁺ T cell subsets were assessed by using multicolor flow cytometry in TB patients (n = 40) and healthy volunteers (n = 30). It was found that in TB patients vs. control group percentage of peripheral blood CD45RA⁻CCR7⁺ central memory (CM) Th was decreased also affecting frequency of some functional T cell subsets, e.g. either lowering Th2 cells (9.11% (6.95; 13.77) vs. 7.21% (5.64; 9.84), $p = 0.012$) or elevating CCR6⁺ Th17 subsets (35.92% (27.72; 41.06) vs. 40.39% (35.41; 47.79; $p = 0.016$), respectively, but not influencing Th1 and Tfh subsets frequencies. Moreover, percentage of total CCR6⁺ CM Th cells in TB patients vs. control was decreased in CCR4⁻CXCR3⁺ Th17.1 cell subset (42.87% (33.64; 49.45) vs. 52.26% (46.45; 56.95), $p < 0.001$), whereas standard CCR4⁺CXCR3⁻ Th17 and CCR6⁺ DP Th17 subsets were elevated ($p = 0.005$ and $p = 0.002$, respectively). In addition, altered Tfh subset composition associated with the increased ($p = 0.021$) percentage of CXCR3⁻CCR6⁻ Tfh2 cells, but decreased CXCR3⁺CCR6⁻ Tfh1 cells ($p = 0.036$) was observed. Finally, frequency of peripheral blood Th subsets noted above was also analyzed within effector memory (CD45RA⁻CCR7⁻) cells. It was found that in TB patients vs. volunteers frequency of Th17.1 cells was also significantly lower ($p = 0.006$) in CCR6⁺ EM Th (54.43% (41.19; 91.92) vs. 61.76% (54.01; 65.63), whereas percentage of double-positive Th17 was significantly increased (20.83% (15.12; 30.87) and 12.93 % (9.80; 19.01), respectively, $p < 0.001$). Thus, it suggests that during *M. tuberculosis* infection percentage of IFN γ -producing Th17 and Tfh cells was reduced compared to control group also affecting both central memory Th cells patrolling peripheral lymphoid organs as well as effector memory Th cells able to exit to site of infection.

Key words: tuberculosis, chemokine receptors expression, central memory CD3⁺CD4⁺ T cells, Th17, Th17.1, follicular Th cells.

Туберкулез по-прежнему остается смертельно опасной инфекцией, унесшей 1 млн 300 тыс. жизней в 2017 г. [10]. Известно, что, несмотря на значительную долю инфицированных *Mycobacterium tuberculosis* людей, составляющую примерно одну треть населения земного шара, только в 5–10% случаев происходит развитие туберкулеза в той или иной клинической форме. У остальных инфекция носит латентный, бессимптомный характер. Взаимодействие *M. tuberculosis* с организмом хозяина, в результате которого происходит активация инфекции или, напротив, ее локализация, остается недостаточно понятным [10, 32]. Совместное действие механизмов врожденного и приобретенного иммунитета в большинстве случаев приводит либо к полному освобождению от инфекции, либо к подавлению ее активности с переходом инфекционного

процесса в латентную форму. В отдельных случаях возможны нарушения в этой цепи взаимодействий, следствием чего является развитие инфекции не только в легких, но и диссеминация *M. tuberculosis* с кровью в различные ткани организма. Очевидно, что предрасположенность к развитию клинических форм туберкулеза носит гетерогенный, многофакторный характер.

Считается, что циркулирующие в периферической крови и инфильтрирующие периферические ткани Т-хелперы (Th), обладающие фенотипом CD3⁺CD4⁺, играют ведущую роль в развитии эффективного ответа на патогены различной локализации. Так, в ответ на *M. tuberculosis* CD4⁺ Т-лимфоциты секретируют различные регуляторные молекулы — цитокины и хемокины, которые действуют либо аутокринно, обеспечивая активацию самих Th, либо паракринно, ре-

гулируя функциональную активность широкого спектра клеток врожденного и приобретенного иммунитета. Следует отметить, что CD3⁺CD4⁺ лимфоциты являются крайне гетерогенной популяцией клеток, среди которых выделяют Th1, Th2, Th17, а также фолликулярные (Tfh) и регуляторные Т-лимфоциты [5]. Более того, в результате исследований, проведенных в последнее десятилетие, общий пул Th17 [31] и Tfh [19] клеток периферической крови был разделен на несколько отдельных субпопуляций, которые различались по своим функциональным и фенотипическим особенностям.

Считается, что Th1 при туберкулезе играют ведущую роль в активации антимикробной защиты за счет продукции IFN γ и TNF α , что приводит к активации микробицидных свойства макрофагов соединительной ткани [4, 25], тогда как Т-хелперы 17 (Th17), способные к секреции цитокинов семейства IL-17, активируют нейтрофилы периферической крови, привлекают их в очаг проникновения патогена и, помимо защитных эффектов, вызывают повреждение окружающих тканей [17]. Вместе с тем данные литературы указывают на то, что подавляющее большинство Т-лимфоцитов, способных к распознаванию антигенов *M. tuberculosis* обладают фенотипом CCR6⁺CXCR3⁺CCR4⁻ [7], что позволяет рассматривать их в качестве Th17.1 клеток, обладающих целым спектром свойств как Th1, так и Th17.

Таким образом, клетки данного фенотипа при активации способны секретировать широкий спектр цитокинов, которые, помимо активации макрофагов, способны вызывать нейтрофильное воспаление, что в случае ТБ рассматривается в качестве фактора, вызывающего массивное повреждение тканей [13]. Поэтому целью исследования явилось выявление изменений в субпопуляционном составе циркулирующих Th17 и Tfh клеток у больных туберкулезом легких.

Материалы и методы

Проспективное сравнительное исследование было проведено за период с 2015 по 2017 гг. с подбором пациентов на базе ФГБУ Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии Минздрава РФ и СПб ГБУЗ Городская многопрофильная больница № 2. Исследование было одобрено независимым этическим комитетом ФГБУ СПб НИИФ Минздрава России (выписка из протокола № 34.2 от 19.01.2017) и Локальным Этическим Комитетом Санкт-Петербургского Государственного Университета (протокол № 01-126 30.06.17). Все участники исследования подписали информированное согласие на обработку индивидуальных данных. В данное исследование были включены 40 больных туберкулезом легких с бактериовыделением. В группу конт-

роля вошли образцы периферической крови 30 условно здоровых добровольцев аналогичного возрастного и полового состава, не имеющих факторов риска развития туберкулеза.

Имунофенотипирование основных субпопуляций Т-хелперов периферической крови проводилось в день взятия крови. Подготовку образцов периферической крови и настройку проточного цитофлуориметра проводили в соответствии с рекомендациями, изложенными Хайдуковым С.В. и соавт. [6]. Подбор оптимальных пар антитело–флуорохром осуществляли в соответствии с описанными в литературе принципами [3]. Для выявления основных субпопуляций Т-хелперов 200 мкл цельной ЭДТА-стабилизированной периферической крови окрашивали на поверхностные антигены при помощи следующей комбинации моноклональных антител, конъюгированных с флуорохромами: anti-CD183 (CXCR3) Alexa Fluor 488 (клон G025H7, изотип — Mouse IgG1, κ), anti-CD25 PE (клон B1.49.9, изотип — IgG2a Mouse), anti-CD185 (CXCR5) PE/Dazzle™ 594 (клон J252D4, изотип — Mouse IgG1, κ), anti-CD194 (CCR4) PerCP/Cy5.5 (клон L291H4, изотип — Mouse IgG1, κ), anti-CD196 (CCR6) PE/Cy7 (клон G034E3, изотип — Mouse IgG2b, κ), anti-CD4 APC (клон 13B8.2, изотип — IgG1 Mouse), anti-CD8 APC-AF700 (клон B9.11, изотип — IgG1 Mouse), anti-CD3 APC/Cy7 (клон HIT3a, изотип — Mouse IgG2a, κ), anti-CD197 (CCR7) Brilliant Violet 421 (клон G043H7, изотип — Mouse IgG2a, κ) и anti-CD45RA Brilliant Violet 510 (клон HI100, изотип — Mouse IgG2b, κ). Антитела против CD25, CD4 и CD8 производства Beckman Coulter Inc. (США), остальные — BioLegend Inc. (США). После инкубации с антителами при комнатной температуре в темноте в течение 15 мин проводился лизис эритроцитов при помощи 2 мл VersaLyse Lysing Solution (Beckman Coulter, Inc., США) с добавлением 50 мкл IOTest 3 Fixative Solution (Beckman Coulter, Inc., США) в течение 15 мин. После этого образцы дважды отмывали избытком забуференного фосфатами физиологического раствора (ЗФР) (центрифугирование 7 мин при 330g), содержащего 2% термоинактивированной сыворотки крупного рогатого скота (Sigma-Aldrich, США), полученный клеточный осадок ресуспендировали в 0,5 мл свежего ЗФР, содержащего 2% формалина (Sigma-Aldrich, США). Анализ образцов проводился при помощи проточного цитофлуориметра Navios (Beckman Coulter, Inc., США), оснащенного тремя лазерами с длинами волн излучения 405, 488 и 638 нм. Для каждого из образцов анализировалось не менее 40 000 CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов. Тактика «гейтирования» для выделения субпопуляций Т-клеток была описана ранее [2]. Полученные данные анализировались при помощи программного обеспечения Kaluza software (Beckman Coulter, Inc., США).

Статистическую обработку проводили при помощи программного обеспечения Statistica 8.0 (StatSoft, США) и GraphPad Prism 4.00 for Windows (GraphPad Prism Software Inc., США). Полученные результаты выражали в виде процента клеток от искомой популяции и приводили как медиану и интерквартильный размах (Med (Q25; Q75)). Нормальность распределения оценивали при помощи теста Шапиро–Вилка (во всех группах было менее 50 пациентов). Статистическое сравнение данных между группой больных туберкулезом и условно здоровых добровольцев проводилось с использованием непараметрического U-критерия Манна–Уитни.

Результаты

Относительное содержание $CD3^+CD4^+$ клеток в рамках общей популяции Т-лимфоцитов периферической крови достоверно не различалось ($p = 0,275$) между группами и составля-

ло 63,03% (58,65; 68,80) у больных ТБ и 64,32% (61,19; 71,29) в группе сравнения. При анализе основных стадий созревания Th клеток применяли антитела против поверхностных CD45RA и CCR7, что позволяло выявить «наивные» клетки с фенотипом $CD45RA^+CCR7^+$, Th клетки центральной и эффекторной памяти (СМ и ЕМ с фенотипами $CD45RA^-CCR7^+$ и $CD45RA^-CCR7^-$ соответственно), а также «терминально-дифференцированные» $CD45RA^+$ -позитивные Th клетки эффекторной памяти (TEMRA, фенотип $CD45RA^+CCR7^-$). В периферической крови как больных ТБ, так и условно здоровых добровольцев доминировали «наивные» Th, уровень которых находился в пределах 50% и достоверно не различался между группами (рис. 1). Вместе с тем было показано, что у больных ТБ достоверно снижалось процентное содержание СМ Th клеток по сравнению с группой контроля (25,15% (19,63; 36,20) и 34,27% (30,40; 48,93) соответственно, при $p = 0,002$). Кроме того, отмечено увеличе-

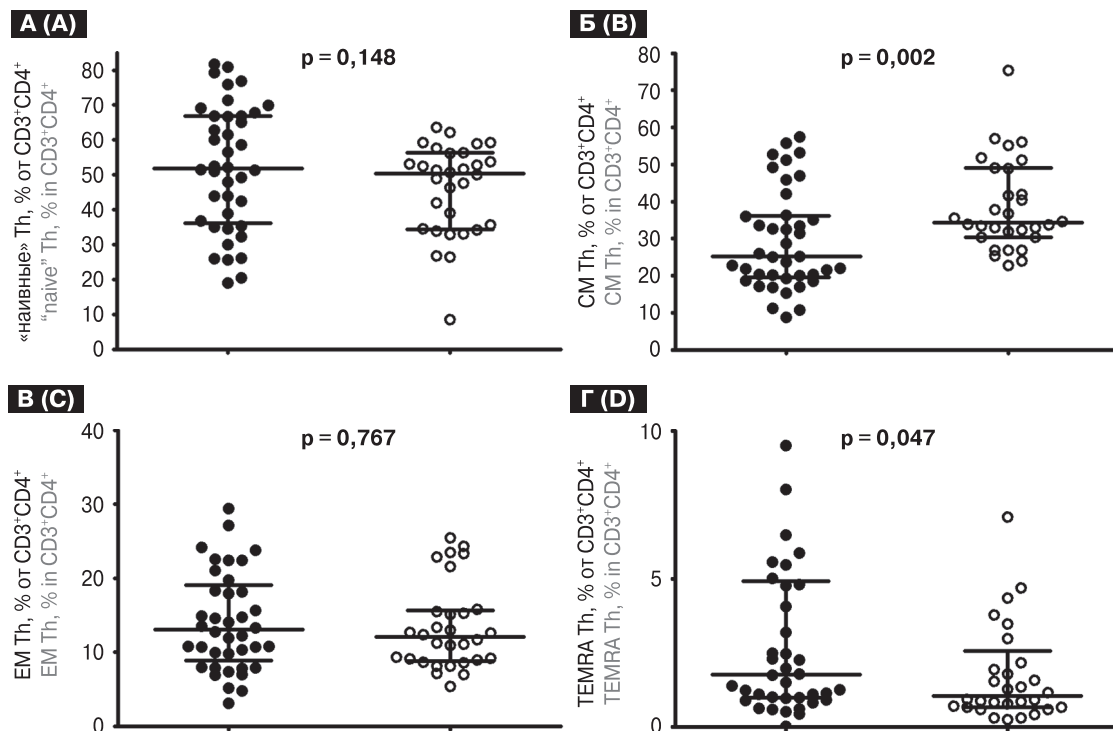


Рисунок 1. Распределение Т-хелперов периферической крови больных ТБ по основным популяциям, выявленным на основании анализа коэкспрессии CD45RA и CD62L

Figure 1. Frequency of major peripheral blood CD45RA and CD62L co-expressing Th subsets in TB patients

Примечания. Гистограммы А–Г — относительное содержание «наивных» Th, Th центральной и эффекторной памяти, а также Th лимфоцитов популяции TEMRA соответственно.

Здесь и далее на рисунках 2–5: черным — больные ТБ ($n = 40$); белым — условно здоровые добровольцы ($n = 30$).

Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного размаха [Med (Q25; Q75)]. Для сравнения выборок использовался непараметрический критерий Манна–Уитни.

Notes. A, B, C and D: scatter plots showing percentage of peripheral blood “naive” cells ($CD45RA^+CCR7^+$), central ($CD45RA^-CCR7^+$) and effector ($CD45RA^-CCR7^-$) as well as TEMRA ($CD45RA^+CCR7^-$) Th cells, respectively, in TB patients and healthy control subjects. Percentage of indicated Th subsets out of total $CD3^+CD4^+$ T cells is shown.

Hereinafter, the following groups in Figure 1–5 are denoted by symbols: black circles — TB patients ($n = 40$); white circles — healthy subjects ($n = 30$). Each dot represents an individual subject, horizontal bars represent group medians and quartile ranges [Med (Q25; Q75)]. Statistical analysis was performed by using Mann–Whitney U test.

ние уровня TEMRA Th в периферической крови больных (рис. 1).

В ходе дальнейших исследований был проведен анализ коэкспрессии хемокиновых рецепторов CCR4, CCR6, CXCR3 и CXCR5 на поверхности Th клеток центральной и эффекторной памяти, что позволяло выявить основные субпопуляции «поляризованных» Т-хелперов. На первом этапе исследований особое внимание было уделено CM Th, так как данный пул клеток был способен к рециркуляции в пределах лимфоидной ткани, что позволяло охарактеризовать процессы дифференцировки и «поляризации» CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов, протекавшие в периферических лимфоидных органах. В рамках общей популяции CM Th были выявлены следующие субпопуляции клеток: Th1 с фенотипом CXCR5⁻CXCR3⁺CCR6⁻CCR4⁻, Th2 с фенотипом CXCR5⁻CXCR3⁻CCR6⁻CCR4⁺, общая популяция Th17 (CXCR5⁻CCR6⁺), а также общая популяция фолликулярных клеток (Tfh) с фенотипом CXCR5⁺CD4⁺CD3⁺. На рисунке 2 показано, что достоверных различий между группами не было отмечено в случае Th1 и Tfh клеток центральной памяти ($p = 0,176$ и $p = 0,427$ соответ-

ственно). Вместе с тем у больных ТБ в периферической крови достоверно ($p = 0,012$) возрастало относительное содержание Th2 клеток с 7,21% (5,64; 9,84) до 9,11% (6,95; 13,77), тогда как уровень Th17 достоверно ($p = 0,016$) снижался с 40,39% (35,41; 47,79) до 35,92% (27,72; 41,06).

В настоящее время среди CCR6⁺ Th17 лимфоцитов можно выделить четыре независимые субпопуляции клеток, которые различаются по уровням экспрессии хемокиновых рецепторов CCR4 и CXCR3 и обладают различными функциональными свойствами [21, 31]. Так, выделяют «классические» CCR4⁺CXCR3⁻ Th17, «дважды позитивные» CCR4⁺CXCR3⁺ или CCR6⁺DP Th17, «неклассические» CCR4⁻CXCR3⁺ или Th17.1, а также «дважды негативные» CCR4⁻CXCR3⁻ или CCR6⁺DN Th17 лимфоциты.

На рисунке 3 приведены результаты сравнения относительного содержания указанных выше популяций Th17 у больных ТБ и условно здоровых добровольцев. Так, при ТБ наблюдается снижение в циркуляции Th17.1 клеток с 52,26% (46,45; 56,95) до 42,87% (33,64; 49,45) при $p < 0,001$, тогда как уровни «классических» и CCR6⁺DP Th17 в периферической крови больных достовер-

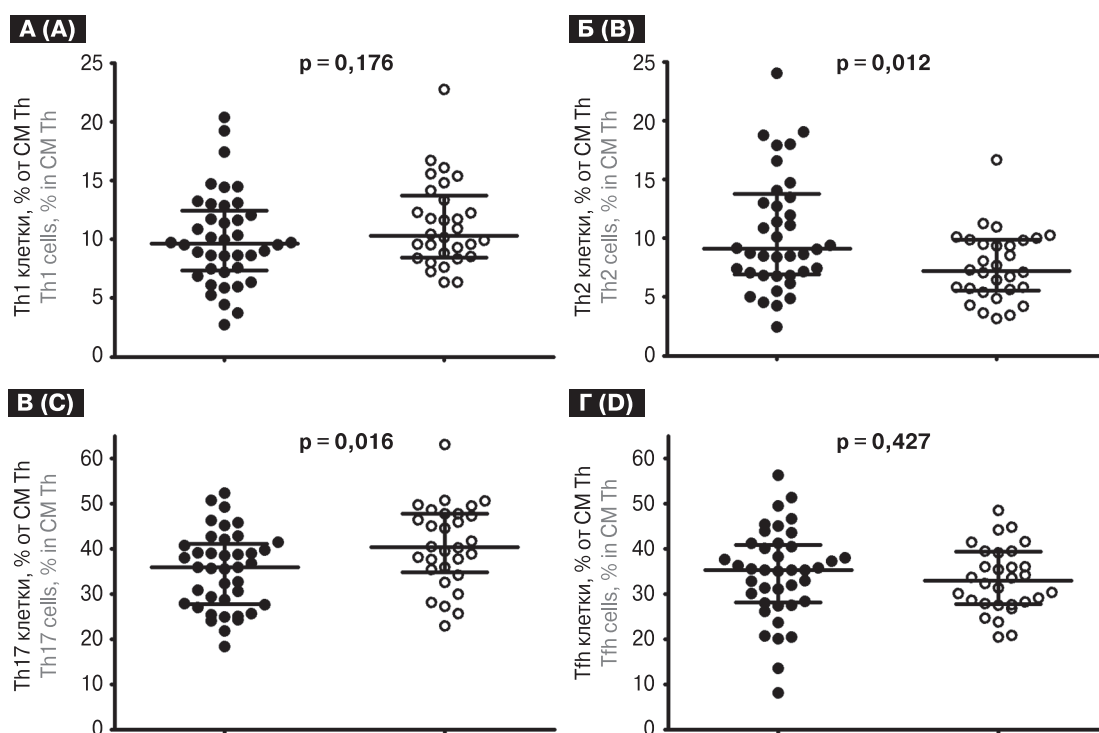


Рисунок 2. Относительное содержание основных субпопуляций Th лимфоцитов среди клеток с фенотипом CD45RA⁻CCR7⁺

Figure 2. Percentage of major “polarized” Th subsets within peripheral blood central memory CD3⁺CD4⁺ T cells samples in TB patients

Примечания. Гистограммы А–Г — относительное содержание Th1 клеток с фенотипом CXCR5⁻CXCR3⁺CCR6⁻CCR4⁻, Th2 с фенотипом CXCR5⁻CXCR3⁻CCR6⁻CCR4⁺, общей популяции Th17 (CXCR5⁻CCR6⁺), а также общей популяции Tfh с фенотипом CXCR5⁺CD4⁺CD3⁺ соответственно.

Notes. A, B, C and D: scatter plots demonstrate the percentage of Th1 (CXCR5⁻CXCR3⁺CCR6⁻CCR4⁻), Th2 (CXCR5⁻CXCR3⁻CCR6⁻CCR4⁺), Th17 (CXCR5⁻CCR6⁺) and Tfh (CXCR5⁺CD4⁺CD3⁺) cells, respectively, within total CD45RA⁻CCR7⁺ CD3⁺CD4⁺ T cell population.

но возрастают по сравнению с группой контроля (14,30% (10,44; 18,73) и 10,75% (7,60; 14,64) при $p = 0,005$ и 28,40% (19,96; 35,69) и 21,01% (18,05; 25,94) при $p = 0,002$).

Еще одной важнейшей субпопуляцией Т-хелперов, подавляющее большинство клеток которой находится в пределах $CD4^+$ лимфоцитов центральной памяти, являются фолликулярные Т-хелперы (Tfh). Следует отметить, что в настоящее время единая панель для анализа субпопуляционного состава Tfh отсутствует. В литературе можно найти описания нескольких подходов для выявления различных типов Tfh, которые могут быть основаны, во-первых, на оценке уровня экспрессии хемокиновых рецепторов CXCR3 и CCR6, во-вторых, на анализе наличия PD-1 (CD279) и CCR7 (CD197), или, в-третьих, PD-1 (CD279) и ICOS (CD278) [30]. В ходе собственных экспериментов нами был использован первый из упомянутых выше подходов, позволяющий оценить уровни CXCR3⁺CCR6⁻ Tfh1-, CXCR3⁻CCR6⁻ Tfh2-, CXCR3⁻CCR6⁺ Tfh17-подобных клеток [19], а также пока еще детально не охарактеризованных так называемых «дважды позитивных» Tfh. Результаты данного исследования приведены на рисунке 4. Так, при

инфицировании *M. tuberculosis* наблюдалось изменение субпопуляционного состава Tfh, связанное с увеличением ($p = 0,021$) уровня в циркуляции Tfh2 с фенотипом CXCR3⁻CCR6⁻ с 16,48% (16,06; 26,07) до 20,31% (16,06; 26,07) на фоне снижения относительного содержания Tfh1 клеток (с 30,27% (24,34; 36,59) до 26,52% (21,43; 30,32) при $p = 0,036$). Достоверных изменений в процентном содержании оставшихся двух типов Tfh — Tfh17 и «дважды позитивных» Tfh — отмечено не было.

Следующий этап исследования был связан с анализом основных субпопуляций «поляризованных» $CD4^+$ лимфоцитов в пределах EM клеток, способных покидать кровотоки и мигрировать в воспаленные периферические ткани. Так, нами не было отмечено достоверных различий между больными ТБ и группой сравнения по уровням Th1 (29,00% (20,77; 37,55) и 24,22% (18,91; 41,67) соответственно, при $p = 0,553$), Th2 (3,63% (2,75; 5,39) и 3,16% (2,31; 3,97) соответственно, при $p = 0,109$), общей популяции CCR6⁺ Th17, относительное содержание которых в обеих группах составляло около 50% от общего числа CM Т-хелперов (49,02% (33,73; 56,17) и 54,84% (37,19; 61,99) соответственно, при $p = 0,173$), а так-

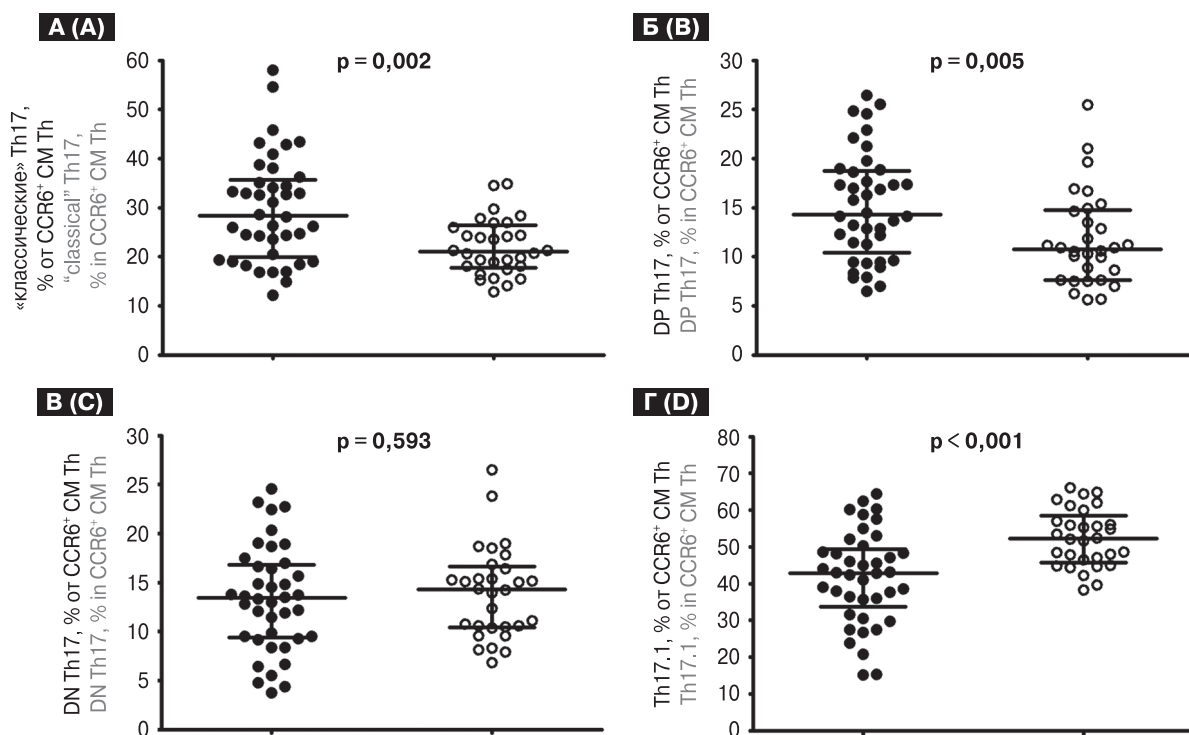


Рисунок 3. Относительное содержание различных субпопуляций Th17 в периферической крови больных ТБ среди CCR6⁺ Т-хелперов центральной памяти

Figure 3. Percentage of various peripheral blood Th17 cell subsets within CCR6⁺CD45RA⁻CCR7⁺ Th cell population in TB patients

Примечания. Гистограммы А–Г — относительное содержание «классических», DP Th17, DN Th17 и Th17.1 соответственно, в рамках общей популяции CCR6⁺ Т-хелперов центральной памяти у больных ТБ (черным) и условно здоровых добровольцев (белым).

Notes. A, B, C and D: scatter plots demonstrate percentage of peripheral blood “classical” Th17, DP Th17, DN Th17 and Th17.1 cells, respectively, out of total CCR6⁺ central memory (CD45RA⁻CCR7⁺) Th cells.

же общей популяции Tfh клеток, составлявших минорную фракцию от всех CD3⁺CD4⁺ клеток эффекторной памяти (3,30% (2,41; 4,35) и 2,71% (1,56; 3,79) соответственно, при $p = 0,296$).

При изучении субпопуляционного состава Th17 эффекторной памяти (рис. 5) в периферической крови больных ТБ было обнаружено достоверное ($p = 0,006$) снижение Th17.1 лимфоцитов с 61,76% (54,01; 65,63) до 54,43% (41,19; 91,92), тогда как уровень «дважды позитивных» Th17 при инфицировании *M. tuberculosis* достоверно возрастал по сравнению с группой контроля (20,83% (15,12; 30,87) и 12,93% (9,80; 19,01) соответственно, при $p < 0,001$). Следует также отметить, что изменение характера распределения Th17 по отдельным субпопуляциям в пределах СМ и ЕМ Т-хелперов примерно совпадало, хотя в последнем случае нам не удалось увидеть достоверных различий по «классическим» Th17. Что же касается Tfh клеток, обнаруженных в составе CD4⁺ лимфоцитов эффекторной памяти, то в пределах данной популяции наблюдались еще более выраженные (по сравнению с СМ Th) изменения. Так, относительное содержание Tfh1 у больных ТБ достоверно ($p = 0,002$) снижалось

с 68,12% (51,74; 73,41) до 50,93% (41,56; 59,96) от общего числа CXCR5⁺ лимфоцитов. При этом, доля Tfh2 возрастала ($p = 0,004$) с 14,35% (10,58; 22,26) до 22,09% (16,40; 30,04) в пределах общего пула CXCR5⁺ ЕМ Tfh.

Обсуждение

Среди клеток приобретенного иммунитета Т-хелперы играют ведущую роль в элиминации бактериальных патогенов, имеющих как внеклеточную, так и внутриклеточную локализацию. Вместе с тем при инфекционных процессах, вызванных *M. tuberculosis*, относительное и абсолютное содержание этих клеток в периферической крови больных существенно не изменяется, что подтверждается как результатами собственного исследования, так и данными литературы [27]. Кроме того, соотношение ключевых субпопуляций Т-лимфоцитов (CD4/CD8) также достоверно не изменяется при сравнении больных ТБ и условно здоровых добровольцев [1]. С использованием тактики «гейтирования», основанной на оценке уровней экспрессии костимуляционных молекул CD27 и CD28 Th клетками, с по-

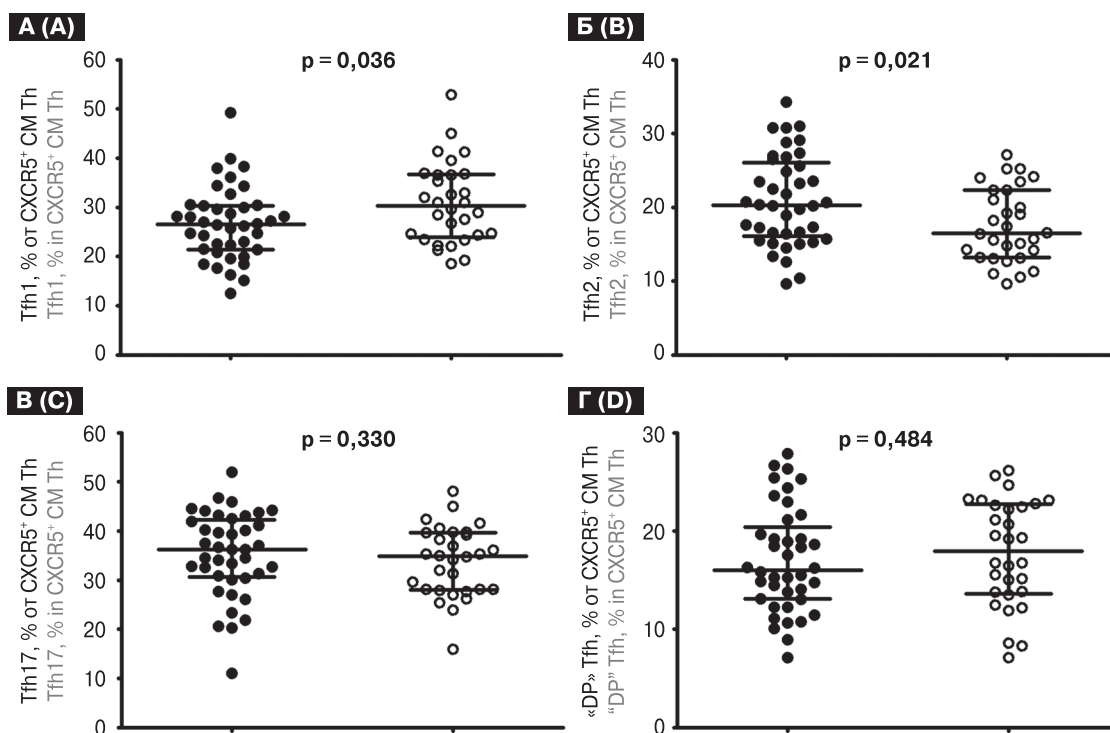


Рисунок 4. Сравнительный анализ субпопуляционного состава циркулирующих Tfh центральной памяти (CXCR5⁺CD45RA⁻CCR7⁺) у пациентов с ТБ

Figure 4. A comparative analysis of peripheral blood memory Tfh cell subsets within CXCR5⁺CD45RA⁻CCR7⁺ Th cell population in TB patients

Примечания. Гистограммы А–Г — относительное содержание CXCR3⁺CCR6⁻ Tfh1⁻, CXCR3⁻CCR6⁻ Tfh2⁻, CXCR3⁻CCR6⁺ Tfh17-подобных клеток, а также «дважды позитивных» Tfh соответственно.

Notes. A, B, C and D: scatter plots demonstrate percentage of peripheral blood CXCR3⁺CCR6⁻ Tfh1⁻, CXCR3⁻CCR6⁻ Tfh2⁻, CXCR3⁻CCR6⁺ Tfh17-like cells as well as CXCR3⁺CCR6⁺ «double-positive» Tfh cells, respectively, in TB patients and healthy control subjects within CXCR5⁺CD45RA⁻CCR7⁺ Th cells.

следующим анализом уровней CD45RA и CD62L на CD27⁺CD28⁺ лимфоцитах, было показано, что в периферической крови больных ТБ увеличился уровень Th клеток «зрелых» фенотипов [1]. В то же время в ходе проведенного исследования с применением антител против CD45RA и CCR7 нами было отмечено снижение уровня CM Th на фоне прироста клеток популяции TEMRA.

При анализе субпопуляционного состава Th периферической крови при ТБ с применением методов неспецифической стимуляции в условиях *in vitro* было показано, что уровень на фоне инфекции в циркуляции снижается уровень CD4⁺IL-17A⁺ клеток, тогда как содержание CD4⁺IL-4⁺ лимфоцитов у больных достоверно возрастало [27]. Использование панели антител против хемокиновых рецепторов в ходе проведенного нами исследования позволило не только подтвердить эти результаты, но и оценить изменения в субпопуляционном составе Th17 без длительной стимуляции *in vitro* и трудоемкой пробоподготовки. Вместе с тем иногда в литературе можно встретить диаметрально противоположные данные о роли Th17 при ТБ. Так, у больных ТБ Wang и соавт. обнаружили повышенное, по сравнению с контролем, содержание IL-17⁺CD4⁺ кле-

ток в циркуляции [32], что подтверждало ранее опубликованные данные о повышенном уровне мРНК IL-17 в лимфоцитах периферической крови больных активной формой ТБ [11]. С другой стороны, двумя независимыми группами исследователей было отмечено снижение уровня Th17 в периферической крови больных [8, 26]. Более того, снижение уровня IL-17 в периферической крови больных ТБ было тесно связано с низкой эффективностью применяемой терапии и неблагоприятным исходом данного заболевания [9]. Особый интерес также представляют литературные данные о том, что более половины IFN γ -секретирующих *M. tuberculosis*-специфических Th клеток обладают фенотипом CXCR3⁺CCR6⁺ [20], что еще раз указывает на важную роль Th17.1 клеток в развитии иммунного ответа при туберкулезе.

Существует гипотеза, что баланс между Th1 и Th17.1 лимфоцитами с более высоким содержанием Th1 клеток по сравнению с Th17.1 может способствовать развитию эффективного иммунного ответа на проникновение *M. tuberculosis* [14]. Более того, было показано, что снижение уровня *M. tuberculosis*-специфических CD4⁺IFN γ ⁺IL-17⁺ тесно связано с увеличением длительности за-

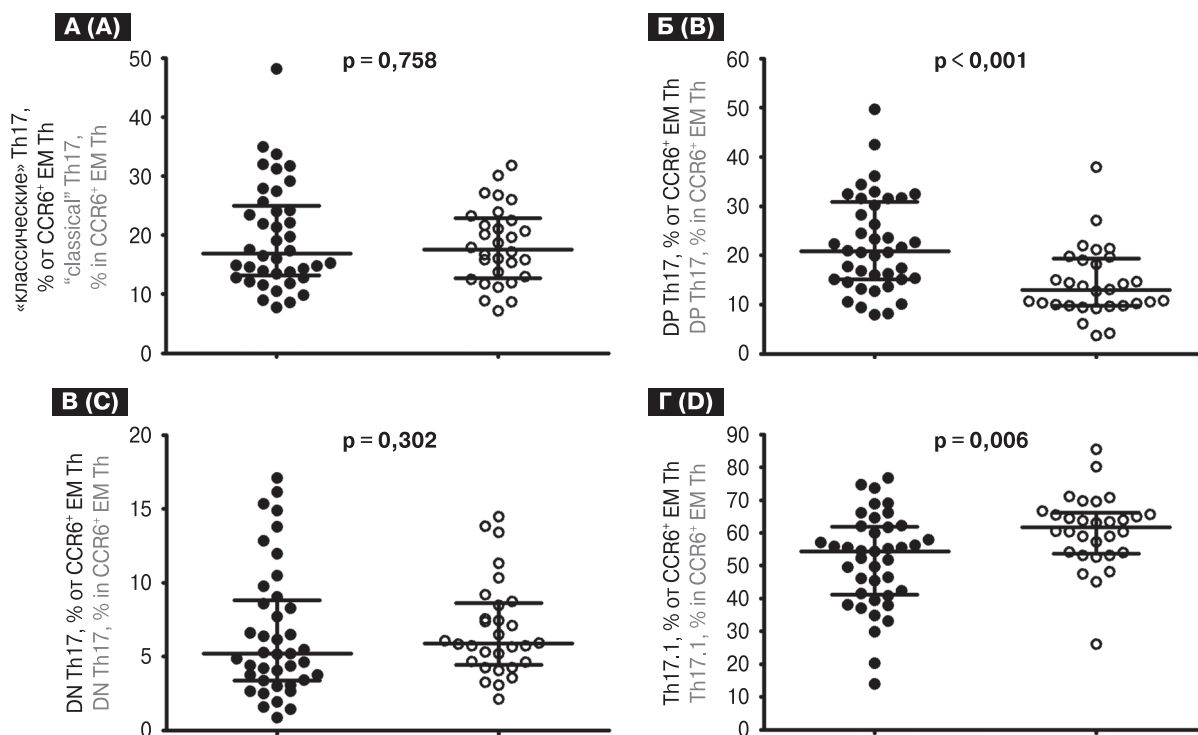


Рисунок 5. Относительное содержание различных субпопуляций Th17 в периферической крови больных ТБ среди CCR6⁺ Т-хелперов эффекторной памяти

Figure 5. Percentage of various peripheral blood Th17 cell subsets out of total CCR6⁺CD45RA⁺CCR7⁻ Th cells in TB patients

Примечания. Гистограммы А–Г — относительное содержание «классических», DP Th17, DN Th17 и Th17.1 соответственно, в рамках общей популяции CCR6⁺ Т-хелперов эффекторной памяти у больных ТБ (черным) и условно здоровых добровольцев (белым).

Notes. A, B, C and D: scatter plots demonstrate percentage of peripheral blood “classical” Th17, DP Th17, DN Th17 and Th17.1 cells, respectively, out of total CCR6⁺ effector memory (CD45RA⁺CCR7⁻) Th cell population.

болевания и снижение уровня продукции $IFN\gamma$ *in vitro*, а высокое содержание этих клеток в крови было характерно для больных с высоким уровнем рентгенологических поражений легких [14]. По-видимому, в случае обследованных нами больных с первично выявленным ТБ снижение относительного содержания $Th17.1$ на фоне достоверно не отличавшегося от контроля содержания $Th1$ клеток может рассматриваться в качестве благоприятного признака успешного развития иммунного ответа. Кроме того, данные литературы свидетельствуют о том, что именно $Th17.1$ являются основными продуцентами $GM-CSF$ [23], уровень которого в периферической крови является одним из перспективных биологических маркеров, позволяющих выявлять ТБ при скрининговых обследованиях [24].

Однако, в пределах обследованной группы больных нами было также отмечено увеличение доли $CCR6^+DP$ $Th17$ лимфоцитов как среди CM , так и среди EM Th клеток. Было показано, что $CCR6^+DP$ $Th17$ в зависимости от цитокинового микроокружения, воссозданного в условиях *in vitro*, обладали способность эффективно дифференцироваться как в сторону « $Th17$ » или « $Th1$ » [31]. Так, инкубация этих клеток в присутствии $IL-1\beta$, $IL-6$ и $IL-23$ (на фоне внесения в культуральную среду антител, блокирующих $IL-4$ и $IFN\gamma$) сопровождалась усилением синтеза и секреции $IL-17A$, $IL-17F$, $IL-22$ и $TNF\alpha$, а также еще и $IFN\gamma$. С другой стороны, наличие в культуральной среде $IL-12$ и анти- $IL-4$ антител приводило к увеличению продукции $TNF\alpha$ и $IFN\gamma$ [31]. Именно поэтому, в зависимости от цитокинового профиля, механизмы формирования которого в ткани гранулемы до настоящего времени остаются мало исследованными [12], $CCR6^+DP$ $Th17$ будут способны изменять свою функциональную активность.

С применением экспериментальных моделей на лабораторных животных было показано, что $IFN\gamma$ -секретирующие $Th17$ негативно влияют на формирование долговременной иммунной защиты от повторных проникновений *M. tuberculosis*, тогда как накопление $CXCR5^+$ $Th17$ в ткани легкого повышает эффективность защитных реакций по крайней мере у мышей [18]. Иммуногистологический анализ гранулем при экспериментальном заражении лабораторных животных [15], а также образцов, полученных от приматов [22] и инфицированных *M. tuberculosis* пациентов [29], выявил наличие

в их составе оформленных скоплений лимфоцитов, в составе которых обнаруживались не только $CD3^+$, но и $CD19^+$ лимфоциты, формировавшие структуры, напоминавшие зародышевые центры лимфатического узла и содержавшие пролиферирующие В-клетки. Более того, формирование в составе гранулем высокоорганизованных эктопических лимфоидных скоплений, содержащих $CXCR5^+$ Т-клетки, было тесно связано с благоприятным исходом в случае латентного ТБ, тогда как слабо организованные или диффузные лимфоидные образования с низким уровнем Tfh клеток формировались при активной форме ТБ и обладали слабо выраженными защитными свойствами в отношении микобактерий [28]. В рамках последнего из упомянутых исследований также было показано, что $CD4^+CXCR5^+$ лимфоциты обладали способностью к продукции $IFN\gamma$, что позволяло рассматривать их в качестве $Tfh1$.

Нарушения в функциональной активности циркулирующих Tfh клеток отмечались в рамках исследования, проведенного Kumag и соавт. на периферической крови больных с активной формой ТБ [16]. Было показано, что не только уровень $IL-21$ -продуцирующих клеток в крови больных был снижен относительно контрольных значений, но и концентрации данного цитокина в системном кровотоке в случае инфицирования микобактериями были ниже таковых группы сравнения. Более того, уровень $IFN\gamma$, продукция которого традиционно связывается с популяцией $Tfh1$ клеток, также у больных был снижен, что подтверждает наши данные по изменениям в субпопуляционном составе Tfh лимфоцитов у больных ТБ.

Таким образом, полученные нами результаты указывают на то, что в инфекционном процессе, вызванном *M. tuberculosis*, относительное содержание $IFN\gamma$ -продуцирующих клеток среди $Th17$ и Tfh снижается по сравнению с контролем. Причем эти изменения затрагивают как клетки центральной памяти, «патрулирующие» периферические органы иммунной системы, так и клетки эффекторной памяти, способные покидать кровотоки и мигрировать в очаг проникновения патогена. Все это позволяет поставить вопрос об участии $Th17$ и Tfh в формировании эффективного иммунного ответа против *M. tuberculosis*, а также рассматривать эти популяции клеток в качестве потенциальных мишеней диагностики и при проведении терапии.

Список литературы/References

1. Васильева Е.В., Кудрявцев И.В., Максимов Г.В., Вербов В.Н., Серебрякова М.К., Ткачук А.П., Тотолян А.А. Влияние ВИЧ-инфекции и туберкулеза на степень дифференцировки Т-лимфоцитов периферической крови // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 2. С. 151–161. [Vasilyeva E.V., Kudryatsev I.V., Maksimov G.V., Verbov V.N., Serebryakova M.K., Tkachuk A.P., Totolian A.A. Impact of HIV infection and tuberculosis on the degree of differentiation peripheral blood T lymphocytes. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2017, vol. 7, no. 2, pp. 151–161. doi: 10.15789/2220-7619-2017-2-151-161 (In Russ.)]

2. Кудрявцев И.В., Борисов А.Г., Кробинец И.И., Савченко А.А., Серебрякова М.К., Тоголян А.А. Хемокиновые рецепторы на Т-хелперах различного уровня дифференцировки: основные субпопуляции // Медицинская иммунология. 2016. Т. 18, № 3. С. 239–250. [Kudryavtsev I.V., Borisov A.G., Krobinec I.I., Savchenko A.A., Serebriakova M.K., Totolian A.A. Chemokine receptors at distinct differentiation stages of T-helpers from peripheral blood. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2016, vol. 18, no. 3, pp. 239–250. doi: 10.15789/1563-0625-2016-3-239-250 (In Russ.)]
3. Кудрявцев И.В., Субботовская А.И. Опыт измерения параметров иммунного статуса с использованием шестичетного цитофлуориметрического анализа // Медицинская иммунология. 2015. Т. 17, № 1. С. 19–26. [Kudryavtsev I.V., Subbotovskaya A.I. Experience in measuring the parameters of the immune status using six-color cytofluorimetric analysis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2015, vol. 17, no. 1, pp. 19–26. doi: 10.15789/1563-0625-2015-1-19-26 (In Russ.)]
4. Никонова А.А., Хаитов М.Р., Хаитов Р.М. Характеристика и роль различных популяций макрофагов в патогенезе острых и хронических заболеваний легких // Медицинская иммунология. 2017. Т. 19, № 6. С. 657–672. [Nikonova A.A., Khaitov M.R., Khaitov R.M. Characteristics and role of macrophages in pathogenesis of acute and chronic lung diseases. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2017, vol. 19, no. 6, pp. 657–672 doi: 10.15789/1563-0625-2017-6-657-672 (In Russ.)]
5. Соколов Д.И., Степанова О.И., Сельков С.А. Роль различных субпопуляций CD4+ Т-лимфоцитов при беременности // Медицинская иммунология. 2016. Т. 18, № 6. С. 521–536. [Sokolov D.I., Stepanova O.I., Selkov S.I. The role of the different subpopulations of CD4+ T lymphocytes during pregnancy. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2016, vol. 18, no. 6, pp. 521–536. doi: 10.15789/1563-0625-2016-6-521-536 (In Russ.)]
6. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тоголян Арег А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» (проект) // Медицинская иммунология. 2012. Т. 14, № 3. С. 255–268. [Khaydukov S.V., Baydun L.A., Zurochka A.V., Totolian Areg A. Standardized technology «Research of lymphocytes subpopulation composition in peripheral blood using flow cytometry analyzers» (Draft). *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, vol. 14, no. 3, pp. 255–268. doi: 10.15789/1563-0625-2012-3-255-268 (In Russ.)]
7. Arlehamn C.L., Seumois G., Gerasimova A., Huang C., Fu Z., Yue X., Sette A., Vijayanand P., Peters B. Transcriptional profile of tuberculosis antigen-specific T cells reveals novel multifunctional features. *J. Immunol.*, 2014, vol. 193, no. 6, pp. 2931–2940. doi: 10.4049/jimmunol.1401151
8. Chen X., Zhang M., Liao M., Graner M.W., Wu C., Yang Q., Liu H., Zhou B. Reduced Th17 response in patients with tuberculosis correlates with IL-6R expression on CD4+ T cells. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2010, vol. 181, no. 7, pp. 734–742. doi: 10.1164/rccm.200909-1463OC
9. Chen Y.C., Chin C.H., Liu S.F., Wu C.C., Tsen C.C., Wang Y.H., Chao T.Y., Lie C.H., Chen C.J., Wang C.C., Lin M.C. Prognostic values of serum IP-10 and IL-17 in patients with pulmonary tuberculosis. *Dis. Markers*, 2011, vol. 31, no. 2, pp. 101–110. doi: 10.3233/DMA-2011-0808
10. Churchyard G., Kim P., Shah N.S., Rustomjee R., Gandhi N., Mathema B., Dowdy D., Kasmar A., Cardena V. What we know about tuberculosis transmission: an overview. *J. Infect. Dis.*, 2017, vol. 216, no. 6, pp. S629–S635. doi: 10.1093/infdis/jix362
11. Dheda K., Chang J.S., Lala S., Huggett J.F., Zumla A., Rook G.A. Gene expression of IL17 and IL23 in the lungs of patients with active tuberculosis. *Thorax*, 2008, vol. 63, no. 6, pp. 566–568. doi: 10.1136/thx.2007.092205
12. Domingo-Gonzalez R., Prince O., Cooper A., Khader S.A. Cytokines and chemokines in Mycobacterium tuberculosis Infection. *Microbiol. Spectr.*, 2016, vol. 4, no. 5. doi: 10.1128/microbiolspec.TB2-0018-2016
13. Dorhoi A., Reece S.T., Kaufmann S.H. For better or for worse: the immune response against Mycobacterium tuberculosis balances pathology and protection. *Immunol. Rev.*, 2011, vol. 240, no. 1, pp. 235–251. doi: 10.1111/j.1600-065X.2010.00994.x
14. Jurado J.O., Pasquinelli V., Alvarez I.B., Peña D., Rovetta A.I., Tateosian N.L., Romeo H.E., Musella R.M., Palmero D., Chuluyán H.E., García V.E. IL-17 and IFN γ expression in lymphocytes from patients with active tuberculosis correlates with the severity of the disease. *J. Leukoc. Biol.*, 2012, vol. 91, no. 6, pp. 991–1002. doi: 10.1189/jlb.1211619
15. Kahnert A., Höpken U.E., Stein M., Bandermann S., Lipp M., Kaufmann S.H. Mycobacterium tuberculosis triggers formation of lymphoid structure in murine lungs. *J. Infect. Dis.*, 2007, vol. 195, no. 1, pp. 46–54. https://doi.org/10.1086/508894
16. Kumar N.P., Sridhar R., Hanna L.E., Banurekha V.V., Nutman T.B., Babu S. Decreased frequencies of circulating CD4+ T follicular helper cells associated with diminished plasma IL-21 in active pulmonary tuberculosis. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 10: e111098. doi: 10.1371/journal.pone.0111098
17. Lyadova I.V., Panteleev A.V. Th1 and Th17 Cells in tuberculosis: protection, pathology, and biomarkers. *Mediators Inflamm.*, 2015, vol. 2015, pp. 854507. doi: 10.1155/2015/854507
18. Monin L., Griffiths K.L., Slight S., Lin Y., Rangel-Moreno J., Khader S.A. Immune requirements for protective Th17 recall responses to Mycobacterium tuberculosis challenge. *Mucosal Immunol.*, 2015, vol. 8, no. 5, pp. 1099–1109.
19. Morita R., Schmitt N., Bentebibel S.E., Ranganathan R., Bourdery L., Zurawski G., Foucat E., Dullaers M., Oh S., Sabzghabaei N., Lavecchio E.M., Punaro M., Pascual V., Banchereau J., Ueno H. Human blood CXCR5(+)CD4(+) T cells are counterparts of T follicular cells and contain specific subsets that differentially support antibody secretion. *Immunity*, 2011, vol. 34, no. 1, pp. 108–121. doi: 10.1016/j.immuni.2010.12.012
20. Nikitina I.Y., Panteleev A.V., Kosmiadi G.A., Serdyuk Y.V., Nenasheva T.A., Nikolaev A.A., Gorelova L.A., Radaeva T.V., Kiseleva Y.Y., Bozhenko V.K., Lyadova I.V. 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. *J. Immunol.*, 2018, vol. 200, no. 6, pp. 2090–2103. doi: 10.4049/jimmunol.1701424
21. Paulissen S.M., van Hamburg J.P., Dankers W., Lubberts E. The role and modulation of CCR6+ Th17 cell populations in rheumatoid arthritis. *Cytokine*, 2015, vol. 74, pp. 43–53. doi: 10.1016/j.cyto.2015.02.002
22. Phuah J.Y., Mattila J.T., Lin P.L., Flynn J.L. Activated B cells in the granulomas of nonhuman primates infected with Mycobacterium tuberculosis. *Am. J. Pathol.*, 2012, vol. 181, no. 2, pp. 508–514. doi: 10.1016/j.ajpath.2012.05.009

23. Ramesh R., Kozhaya L., McKevitt K., Djuretic I.M., Carlson T.J., Quintero M.A., McCauley J.L., Abreu M.T., Unutmaz D., Sundrud M.S. Pro-inflammatory human Th17 cells selectively express P-glycoprotein and are refractory to glucocorticoids. *J. Exp. Med.*, 2014, vol. 211, pp. 89–104. doi: 10.1084/jem.20130301
24. Sariko M., Maro A., Gratz J., Houpt E., Kisona R., Mpagama S., Heysell S., Mmbaga B.T., Thomas T.A. Evaluation of cytokines in peripheral blood mononuclear cell supernatants for the diagnosis of tuberculosis. *J. Inflamm. Res.*, 2018, vol. 12, pp. 15–22. doi: 10.1371/journal.pone.0169118
25. Schaible U.E., Sturgill-Koszycki S., Schlesinger P.H., Russell D.G. Cytokine activation leads to acidification and increases maturation of Mycobacterium avium-containing phagosomes in murine macrophages. *J. Immunol.*, 1998, vol. 160, no. 3, pp. 1290–1296.
26. Scriba T.J., Kalsdorf B., Abrahams D.A., Isaacs F., Hofmeister J., Black G., Hassan H.Y., Wilkinson R.J., Walzl G., Gelderbloem S.J., Mahomed H., Hussey G.D., Hanekom W.A. Distinct, specific IL-17- and IL-22-producing CD4+ T cell subsets contribute to the human anti-mycobacterial immune response. *J. Immunol.*, 2008, vol. 180, no. 3, pp. 1962–1970.
27. Shu C.C., Wu M.F., Wang J.Y., Lai H.C., Lee L.N., Chiang B.L., Yu C.J. Decreased T helper 17 cells in tuberculosis is associated with increased percentages of programmed death ligand 1, T helper 2 and regulatory T cells. *Respir. Res.*, 2017, vol. 18, no. 1, pp. 128. doi: 10.1186/s12931-017-0580-3
28. Slight S.R., Rangel-Moreno J., Gopal R., Lin Y., Fallert Junecko B.A., Mehra S., Selman M., Becerril-Villanueva E., Baquera-Heredia J., Pavon L., Kaushal D., Reinhart T.A., Randall T.D., Khader S.A. CXCR5+ T helper cells mediate protective immunity against tuberculosis. *J. Clin. Invest.*, 2013, vol. 123, no. 2, pp. 712–726. doi: 10.1172/JCI65728
29. Tsai M.C., Chakravarty S., Zhu G., Xu J., Tanaka K., Koch C., Tufariello J., Flynn J., Chan J. Characterization of the tuberculous granuloma in murine and human lungs: cellular composition and relative tissue oxygen tension. *Cell. Microbiol.*, 2006, vol. 8, no. 2, pp. 218–232. doi: 10.1111/j.1462-5822.2005.00612.x
30. Ueno H., Banchereau J., Vinuesa C.G. Pathophysiology of T follicular helper cells in humans and mice. *Nat. Immunol.*, 2015, vol. 16, no. 2, pp. 142–152. doi: 10.1038/ni.3054
31. Wacleche V.S., Goulet J.P., Gosselin A., Monteiro P., Soudeyns H., Fromentin R., Jenabian M.A., Vartanian S., Deeks S.G., Chomont N., Routy J.P., Ancuta P. New insights into the heterogeneity of Th17 subsets contributing to HIV-1 persistence during antiretroviral therapy. *Retrovirology*, 2016, vol. 13, pp. 59. doi: 10.1186/s12977-016-0293-6
32. Wang T., Lv M., Qian Q., Nie Y., Yu L., Hou Y. Increased frequencies of T helper type 17 cells in tuberculous pleural effusion. *Tuberculosis (Edinb.)*, 2011, vol. 91, no. 3, pp. 231–237. doi: 10.1016/j.tube.2011.02.002

Авторы:

Кудрявцев И.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории общей иммунологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия; доцент кафедры иммунологии ФГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Серебрякова М.К., научный сотрудник отдела иммунологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

Старшинова А.А., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории мозаики аутоиммунитета ФГБУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

Зинченко Ю.С., младший научный сотрудник лаборатории мозаики аутоиммунитета ФГБУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; младший научный сотрудник ФГБУ НИИ фтизиопульмонологии МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Басанцова Н.Ю., младший научный сотрудник лаборатории мозаики аутоиммунитета, ассистент кафедры факультетской терапии ФГБУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; младший научный сотрудник ФГБУ НИИ фтизиопульмонологии МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Беляева Е.Н., к.м.н., младший научный сотрудник ФГБУ НИИ фтизиопульмонологии МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия; зав. отделением СПбГБУ Городская многопрофильная больница № 2, Санкт-Петербург, Россия;

Павлова М.В., д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник, руководитель направления «Фтизиопульмонология» ФГБУ НИИ фтизиопульмонологии МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Яблонский П.К., д.м.н., профессор, декан медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета; директор ФГБУ НИИ фтизиопульмонологии МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Kudryavtsev I.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation; Associate Professor, Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;

Serebriakova M.K., Researcher, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation;

Starshinova A.A., PhD, MD (Medicine), Leading Researcher, Autoimmunity Mosaic Laboratory, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation;

Zinchenko Yu.S., Junior Researcher, Autoimmunity Mosaic Laboratory, St. Petersburg State University, St. Petersburg; Junior Researcher, Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation;

Basantsova N.Yu., Junior Researcher, Autoimmunity Mosaic Laboratory, Assistant Professor, Department of Faculty Therapy, St. Petersburg State University; Junior Researcher, Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation;

Belyaeva E.N., PhD (Medicine), Junior Researcher, Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation; Head of the Department St. Petersburg City Hospital No. 2, St. Petersburg, Russian Federation;

Pavlova M.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Researcher, Head of Research Direction “Phthisiopulmonology”, Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation;

Yablonskii P.K., PhD, MD (Medicine), Professor, Dean of the Medicine Faculty, St. Petersburg State University; Director of the Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation.