

© КОНОНОВА Т. Е., УРАЗОВА О. И., НОВИЦКИЙ В. В., ЗАХАРОВА П. А.

УДК 571.27:577.27.053-616.24-002.5

DOI: 10.20333/2500136-2017-6-57-62

## ЦИТОКИН-СЕКРЕТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ Т-ЛИМФОЦИТОВ-ХЕЛПЕРОВ 17 И Т-ЛИМФОЦИТОВ-ХЕЛПЕРОВ 1 / Т-ЛИМФОЦИТОВ-ХЕЛПЕРОВ 17 ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ ЛЕГКИХ

Т. Е. Кононова, О. И. Уразова, В. В. Новицкий, П. А. Захарова

Сибирский государственный медицинский университет, Томск 634050, Российская Федерация

**Цель исследования.** Оценить секрецию Th17- и Th1/Th17-ассоциированных цитокинов – IL-17A, IL-22 и IFN $\gamma$  in vitro у больных туберкулезом легких (ТЛ).

**Материал и методы.** Обследовано 115 пациентов с впервые выявленным ТЛ, находившихся на лечении в ОГАУЗ «Томский фтизиопульмонологический медицинский центр». Из обследованных лиц сформированы группы с инфильтративной (лекарственно-чувствительной (ЛЧ), лекарственно-устойчивой (ЛУ)) и диссеминированной (ЛЧ, ЛУ) клиническими формами заболевания. Контрольную группу составили 45 здоровых добровольцев. Материалом для исследования служила венозная кровь. Мононуклеарные лейкоциты выделяли из крови методом градиентного центрифугирования. Th17- и Th1/Th17-лимфоциты типировали методом проточной цитофлуориметрии. Концентрацию IL-17A, IL-22 и IFN $\gamma$  в супернатантах культуральных суспензий определяли иммуноферментным методом. Полученные результаты подвергали статистическому анализу, используя пакет прикладных программ «Statistica for Windows» Version 8.0 («StatSoft Inc.», США).

**Результаты.** У пациентов с инфильтративным ТЛ повышается содержание Th1/Th17- и Th17-лимфоцитов (наиболее выраженное при лекарственной устойчивости возбудителя) в крови. Указанные изменения сочетаются с увеличением базальной секреции Th17- и Th1/Th17-ассоциированных цитокинов – IL-17A, IL-22 и IFN $\gamma$ , что свидетельствует об активации клеток. Отсутствие повышения секреции цитокинов в условиях дополнительной стимуляции клеток BCG указывает на истощение функционального резерва и снижение антиген-индуцированной реактивности Th17- и Th1/Th17-лимфоцитов.

**Заключение.** Изменения цитокин-секреторной активности Th17- и Th1/Th17-лимфоцитов у больных ТЛ носят однонаправленный характер с наибольшим повышением секреции IL-17A при диссеминированном лекарственно-устойчивом варианте болезни, а IFN $\gamma$  – при диссеминированном ТЛ вне зависимости от варианта заболевания. Они могут рассматриваться как реакция, направленная на компенсацию нарушений Th1-иммунного ответа.

**Ключевые слова:** Th17-лимфоциты, Th1/Th17-лимфоциты, цитокины, IL-17A, IL-22, IFN $\gamma$ , туберкулез легких.

**Для цитирования:** Кононова ТЕ, Уразова ОИ, Новицкий ВВ, Захарова ПА. Цитокин-секреторная активность Т-лимфоцитов-хелперов 17 и Т-лимфоцитов-хелперов 1/Т-лимфоцитов-хелперов 17 при туберкулезе легких. *Сибирское медицинское обозрение.* 2017;(6): 57-62. DOI: 10.20333/2500136-2017-6-57-62

## CYTOKINE-SECRETORY ACTIVITY OF T-LYMPHOCYTES-HELPERS 17 AND T-LYMPHOCYTES-HELPERS 1 / T-LYMPHOCYTES-HELPERS 17 IN PULMONARY TUBERCULOSIS

T. E. Kononova, O. I. Urazova, V. V. Novitskii, P. A. Zakharova

Siberian State Medical University, Tomsk 634050, Russian Federation

**The aim of the research.** To assess the secretion of Th17 and Th1 / Th17-associated cytokines-IL-17A, IL-22 and IFN $\gamma$  in vitro in patients with pulmonary tuberculosis (TB).

**Material and methods.** 115 patients with newly diagnosed TB who were on treatment at the Tomsk Phthisiopulmonologic Medical Center were examined. From the examined persons the groups with infiltrative (drug-sensitive (DS), drug-resistant (DR)) and disseminated (DS, DR) clinical forms of the disease were formed. The control group was consisted of 45 healthy volunteers. Venous blood was served as a material for the study. Mononuclear leukocytes were extracted from the blood by gradient centrifugation. Th17 and Th1 / Th17 lymphocytes were typed by flow cytofluorimetry. The concentration of IL-17A, IL-22 and IFN $\gamma$  in the supernatants cultural suspensions were determined by immunophenomenon method. The obtained results were subjected to statistical analysis using the «Statistica for Windows» software package, Version 8.0 («StatSoft Inc.», USA).

**Results.** In patients with infiltrative TB, the Th1 / Th17 and Th17-lymphocyte contents (most pronounced with drug resistance of the pathogen) in the blood is increased. These changes are combined with an increase basal secretion of Th17- and Th1 / Th17-associated cytokines-IL-17A, IL-22 and IFN $\gamma$ , that indicates the activation of cells. The absence of cytokine secretion increase in conditions of additional stimulation of BCG cells indicates depletion of the functional reserve and decrease of the antigen-induced reactivity of Th17 and Th1 / Th17 lymphocytes.

**The conclusion.** Changes in the cytokine-secretory activity of Th17- and Th1 / Th17-lymphocytes in patients with TB have unidirectional character with the greatest increase in IL-17A secretion in the disseminated drug-resistant variant of the disease, and IFN $\gamma$  - at disseminated TB regardless of the variant of the disease. It can be considered as a reaction aimed to compensate the violations of the Th1 immune response.

**Key words:** Th17-lymphocytes, Th1 / Th17-lymphocytes, cytokines, IL-17A, IL-22, IFN $\gamma$ , pulmonary tuberculosis.

**Citation:** Kononova TE, Urazova OI, Novitskii VV, Zakharova PA. Cytokine-secretory activity of T-Lymphocytes-Helpers 17 and T-Lymphocytes-Helpers 1 / T-Lymphocytes-Helpers 17 in pulmonary tuberculosis. *Siberian Medical Review.* 2017;(6): 57-62. DOI: 10.20333/2500136-2017-6-57-62

## Введение

По данным ВОЗ, в мире наблюдается снижение заболеваемости и смертности от туберкулеза легких (ТЛ). Вместе с тем, в последние годы отмечается устойчивый рост распространения множественно лекарственно-устойчивого туберкулеза, когда возбудитель заболевания резистентен как минимум к двум основным противотуберкулезным средствам – изониазиду и рифампицину [1, 2]. В связи с разработкой новых подходов к лечению ТЛ с применением иммунокорректирующих средств, большой интерес исследователей вызывает изучение механизмов формирования эффективного противотуберкулезного иммунитета и его нарушений.

Известно, что развитие протективного иммунного ответа на внутриклеточные инфекции, в частности *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*), определяется состоятельностью врожденных и адаптивных антигенспецифических иммунных реакций [3, 4]. В процессе реализации противоинфекционного иммунного ответа CD4<sup>+</sup> Т-лимфоциты дифференцируются в нескольких направлениях, в результате чего помимо Т-лимфоцитов-хелперов (Th) типа 1 развиваются и другие адаптивные субпопуляции Th-лимфоцитов, в частности Th17- и Th1/Th17-лимфоциты [5, 6]. Однако их роль в формировании иммунного ответа против внутриклеточных патогенов не до конца ясна.

В настоящее время установлено, что Th17-лимфоциты принимают участие в защите организма от различных бактерий, способствуя развитию противоинфекционного (в том числе антимикобактериального) иммунитета дыхательных путей. Продуцируя широкий спектр провоспалительных цитокинов (таких, как интерлейкин (IL) 17A, 22, 26, фактор некроза опухоли (TNF)  $\alpha$ ), Th17-лимфоциты способствуют привлечению иммунокомпетентных клеток в очаг воспаления и контролю инфекционного процесса [7, 8, 9]. В свою очередь гетерогенная субпопуляция Th1/Th17-лимфоцитов, помимо IL-17, способна продуцировать ключевой провоспалительный цитокин – интерферон (IFN)  $\gamma$  и тем самым вносить свой вклад в формирование противоинфекционного иммунитета [10]. В литературе имеется мало данных относительно иммунорегуляторных функций Th1/Th17-лимфоцитов и их роли в развитии инфекционных заболеваний.

В этой связи целью настоящего исследования явилась оценка секреции Th17- и Th1/Th17-ассоциированных цитокинов – IL-17A, IL-22 и IFN $\gamma$  *in vitro* у больных туберкулезом легких.

## Материал и методы

В исследование были включены 115 пациентов, имеющих распространенные (более 4 сегментов) деструктивные формы впервые выявленного туберкулеза легких (ТЛ) (87 мужчин и 28 женщин в возрасте от 20

до 55 лет, средний возраст 41,57±10,21 лет). Пациенты проходили стационарное лечение в ОГАУЗ «Томский фтизиопульмонологический медицинский центр». Постановку диагноза ТЛ осуществляли врачи медицинского центра. В зависимости от клинической формы заболевания пациенты были разделены на группы с инфильтративным (63 пациента) и диссеминированным (52 пациента) ТЛ.

Внутри данных групп были сформированы две подгруппы в зависимости от чувствительности возбудителя к средствам противотуберкулезной терапии – с лекарственно-чувствительным (ЛЧ) и лекарственно-устойчивым (ЛУ) ТЛ. Группу сравнения составили 45 здоровых добровольцев с аналогичным группой исследования распределением по полу и возрасту. Материалом для исследования являлась венозная кровь пациентов с ТЛ и здоровых добровольцев. Взятие крови (в количестве 10 мл) осуществляли утром натощак из локтевой вены. Все методы исследования у больных ТЛ проводили однократно, до начала проведения противотуберкулезной терапии.

Выделение мононуклеарных лейкоцитов из крови проводили методом центрифугирования на градиенте плотности фиколла ( $\rho=1077$  кг/м<sup>3</sup>) (ООО «БиолоТ», Россия). Экспрессию поверхностных рецепторных молекул – CD4, CD161, и внутриклеточных цитокинов – IL-17A, IFN $\gamma$  в лимфоцитах периферической крови определяли методом проточной лазерной трехцветной цитофлуориметрии, используя моноклональные антитела, меченные флуоресцентными метками (PerCP, FITC, PE; «Becton Dickinson», США). Для количественного определения CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup>IL-17A<sup>+</sup> (Th17) и CD4<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup>IL-17A<sup>+</sup> (Th1/Th17) лимфоцитов в культуры мононуклеарных лейкоцитов вносили коктейль для стимуляции клеток, содержащий ФМА (4-форбол-12-миристат-13-ацетат) и иономицин («eBioscience», США). Для предотвращения выхода цитокинов из клеток в пробы вносили блокатор транспорта протеинов, содержащий моненсин («Becton Dickinson», США). Далее суспензии клеток инкубировали в течение 4 ч при температуре 37°C и 5 % CO<sub>2</sub> и окрашивали согласно протоколам фирмы производителя («Becton Dickinson», США). Анализ образцов клеточных суспензий проводили при помощи проточного цитофлуориметра «FACS Calibur Flow cytometr BD» («Becton Dickinson», США). К каждому моноклональному антителу осуществляли окраску клеток изотипическими контролями, согласно которой выставляли положение квадрантного маркера. Полученные данные анализировали, используя программное приложение «BD CellQuest for Mac OS® X» («Becton Dickinson», США).

В качестве индуктора цитокинсекреторной активности мононуклеарных лейкоцитов использовали вакцинный штамм BCG (бацилла Кальметта-Герена,

Таблица 1

Количество Th17- и Th1/Th17-лимфоцитов в периферической крови у больных туберкулезом легких, Me (Q<sub>1</sub> – Q<sub>3</sub>)

| Группы обследованных лиц            |           | CD4 <sup>+</sup> CD161 <sup>+</sup> IL17A <sup>+</sup> Th17-лимфоциты                              | CD4 <sup>+</sup> IFN $\gamma$ <sup>+</sup> IL17A <sup>+</sup> Th1/Th17-лимфоциты |
|-------------------------------------|-----------|--|--|
|                                     |           | (в числителе – в %, в знаменателе – в абсолютных числах, $\times 10^9/\text{л}$ )                  |  |
| Здоровые доноры (n=45)              |           | 1,34 (1,09–2,80)<br>0,024 (0,020–0,049)  | 1,10 (0,70–2,85)<br>0,019 (0,013–0,053)  |
| Больные инфильтративным ТЛ (n=63)   | ЛЧ (n=34) | 3,58 (1,91–4,80)<br>$p_1=0,016$<br>0,058 (0,036–0,090)<br>$p_{12}=0,029$                           | 2,50 (1,40–6,25)<br>$p_1=0,009$<br>0,068 (0,044–0,091)<br>$p_{12}=0,005$         |
|                                     | ЛУ (n=29) | 5,60 (2,39–10,50)<br>$p_1<0,001$ ; $p_3=0,043$<br>0,123 (0,050–0,410)<br>$p_1<0,001$ ; $p_3=0,031$ | 2,40 (1,60–2,70)<br>$p_1=0,021$<br>0,059 (0,031–0,079)<br>$p_1=0,034$            |
| Больные диссеминированным ТЛ (n=52) | ЛЧ (n=27) | 2,80 (1,40–3,10)<br>0,042 (0,021–0,056)  | 1,35 (0,75–3,08)<br>0,020 (0,012–0,049)  |
|                                     | ЛУ (n=25) | 1,50 (0,75–2,40)<br>$p_2=0,025$<br>0,030 (0,013–0,043)<br>$p_2=0,008$                              | 1,27 (0,80–2,90)<br>0,017 (0,014–0,061)  |

Примечание:  $p_1$  – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у здоровых доноров;  $p_2$  – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у больных с инфильтративным ТЛ;  $p_3$  – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у больных с лекарственно-чувствительным ТЛ; ТЛ – туберкулез легких; ЛЧ – лекарственно-чувствительный; ЛУ – лекарственно-устойчивый.

вакцинный штамм *M. bovis*) (ФГУП «НПО Микроген», Россия) в дозе 50 мкг/мл. Суспензии клеток инкубировали в полной питательной среде, содержащей 90 % RPMI-1640 (ООО «БиолоТ», Россия), 10% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки (ООО «БиолоТ», Россия), 0,3 мг/мл L-глутамин, 50 мкг/мл гентамицин в течение 48 ч при температуре 37°C и 5 % CO<sub>2</sub>. Концентрацию цитокинов (IL-17A, IL-22 и IFN $\gamma$ ) в супернатантах культуральных суспензий мононуклеарных лейкоцитов определяли твердофазным иммуноферментным «сэндвичевым» методом (ELISA) согласно инструкциям, предлагаемым производителем тест-систем («R&D Systems», США). Измерение оптической плотности содержимого ячеек планшета осуществляли при помощи медицинского анализатора Multiskan EX («Thermo electron corporation», Финляндия).

Статистический анализ результатов проводили, используя пакет прикладных программ «Statistica for Windows» Version 8.0 («StatSoft Inc.», США). Для проверки гипотезы о нормальном законе распределения признака использовали критерий Шапиро-Уилка. В связи с тем, что все количественные признаки в группах сравнения не подчинялись нормальному распределению, результаты представляли в виде медианы (Me), верхнего (75 %) и нижнего (25 %) квартилей (Me (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>)). Для оценки достоверности различий выборок, не подчиняющихся критерию нормального распределения, использовали непараметрический критерий Вилкоксона для зависимых выборок и непараметрический U критерий Манна-Уитни для независимых выборок. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p<0,05$ .

#### Результаты и обсуждение

В результате настоящего исследования у пациентов с инфильтративным туберкулезом легких установлено повышение количества Th17-лимфоцитов (CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup>IL-17A<sup>+</sup>) в крови (приблизительно в 3,6 раза,  $p_1<0,05$ ), наиболее выраженное при лекарственно-резистентном варианте заболевания. У больных с диссеминированной клинической формой ТЛ содержание CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup>IL-17A<sup>+</sup> клеток соответствовало норме, а при лекарственно-устойчивом варианте заболевания оказалось ниже соответствующего параметра у пациентов с инфильтративным ЛУ ТЛ (в 3,9 раза,  $p_2<0,05$ ) (табл. 1).

В результате исследования гетерогенной субпопуляции Th1/Th17-лимфоцитов у пациентов с инфильтративным ТЛ установлено статистически значимое увеличение количества CD4<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup>IL-17A<sup>+</sup> клеток в крови ( $p_1<0,05$ ) по сравнению с аналогичным показателем у здоровых доноров, в то время как у больных с диссеминированным ЛЧ ТЛ и ЛУ ТЛ оно сохранялось в пределах нормы (табл. 1).

В настоящее время предполагается, что при инфекционных заболеваниях, вызванных внутриклеточными патогенами, в частности *M. tuberculosis*, Th17-ответ лежит в основе формирования механизмов, обуславливающих защиту бронхоальвеолярного тракта. Продуцируя провоспалительные цитокины – IL-17A, IL-17E, IL-22, IL-26, фактор некроза опухоли (TNF)  $\alpha$  – Th17-лимфоциты реализуют иммунорегуляторную функцию: способствуют активации и привлечению иммунокомпетентных клеток в очаг воспаления, отграничению зоны повреждения в ткани легкого с последующей элиминацией *M. tuberculosis* [11, 12, 13, 14, 15].

В результате оценки секреции Th17-ассоциированных цитокинов *in vitro* у больных ТЛ зарегистрировано повышение концентрации IL-17A и IL-22 по сравнению с аналогичными показателями в группе здоровых добровольцев (табл. 2).

Таблица 2

Концентрация IL-17A, IL-22 и IFN $\gamma$  в супернатантах культуральных суспензий мононуклеарных лейкоцитов крови у больных туберкулезом легких, Me (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>)

| Исследуемые цитокины, пг/мл |                          | Группы обследованных лиц              |   |   |   |   |
|-----------------------------|--------------------------|---------------------------------------|---|---|---|---|
|                             |                          | Здоровые доноры (n=45)                | Больные инфильтративным ТЛ (n=63)                       |   | Больные диссеминированным ТЛ (n=52)                     |   |
|                             |                          |                                       | ЛЧ (n=34)   | ЛУ (n=29)   | ЛЧ (n=27)   | ЛУ (n=25)   |
| IL-17A                      | Без индукции (базальная) | 21,11<br>(18,86–24,85)                | 35,89<br>(25,22–49,58)<br>$p_1=0,013$                   | 26,72<br>(22,79–32,33)<br>$p_1=0,043$                   | 63,58<br>(46,43–101,82)<br>$p_1<0,001$                  | 209,11<br>(57,87–322,89)<br>$p_1<0,001$<br>$p_2=0,001$                |
|                             | При индукции BCG         | 27,09<br>(25,22–30,08)<br>$p_4=0,015$ | 34,57<br>(26,71–37,57)                                  | 32,89<br>(21,86–34,01)                                  | 57,09<br>(40,24–69,04)<br>$p_1=0,009$                   | 292,79<br>(89,54–324,85)<br>$p_1<0,001$<br>$p_2=0,001$<br>$p_3=0,004$ |
| IL-22                       | Без индукции (базальная) | 21,04<br>(10,71–30,29)                | 44,32<br>(21,71–55,78)<br>$p_1=0,049$                   | 55,36<br>(33,87–71,00)<br>$p_1=0,021$                   | 43,33<br>(32,39–51,75)<br>$p_1=0,021$                   | 42,87<br>(36,34–66,48)<br>$p_1=0,008$                                 |
|                             | При индукции BCG         | 62,16<br>(50,75–82,89)<br>$p_4=0,003$ | 52,40<br>(34,78–97,24)                                  | 44,81<br>(26,97–62,52)                                  | 35,79<br>(17,42–53,25)<br>$p_1=0,012$                   | 66,87<br>(46,71–142,2)  |
| IFN $\gamma$                | Без индукции (базальная) | 30,20<br>(26,75–37,18)                | 122,10<br>(75,82–140,03)<br>$p_1<0,001$                 | 120,86<br>(98,17–147,30)<br>$p_1<0,001$                 | 139,69<br>(108,22–168,53)<br>$p_1<0,001$<br>$p_2=0,043$ | 145,60<br>(111,13–163,20)<br>$p_1<0,001$<br>$p_2=0,037$               |
|                             | При индукции BCG         | 60,86<br>(53,55–68,37)<br>$p_4<0,001$ | 192,80<br>(163,95–245,75)<br>$p_1<0,001$<br>$p_4=0,008$ | 156,91<br>(142,40–203,30)<br>$p_1<0,001$<br>$p_4=0,035$ | 134,82<br>(96,11–164,59)<br>$p_1=0,005$<br>$p_2=0,016$  | 147,18<br>(111,43–195,12)<br>$p_1<0,001$                              |

Примечание:  $p_1$  – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у здоровых доноров;  $p_2$  – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у больных с инфильтративным ТЛ;  $p_3$  – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у больных с лекарственно-чувствительным ТЛ;  $p_4$  – по сравнению с базальным уровнем секреции; ТЛ – туберкулез легких; ЛЧ – лекарственно-чувствительный; ЛУ – лекарственно-устойчивый.

При этом наиболее значительное увеличение секреции в случае IL-17A в культуре мононуклеарных лейкоцитов крови отмечалось у пациентов с диссеминированным ЛУ ТЛ (в 9,9 раза,  $p_1<0,001$ ) (табл. 2). Индукция клеток вакцинным штаммом BCG сопровождалась повышением секреции IL-17A и IL-22 *in vitro* лишь в группе здоровых доноров (табл. 2). Отсутствие увеличения секреции данных цитокинов на действие BCG у пациентов с ТЛ свидетельствует об истощении функционального резерва иммунокомпетентных клеток и снижении их антиген-индуцированной реактивности (табл. 2). Вместе с тем, BCG-стимулированная секреция IL-17A мононуклеарными лейкоцитами периферической крови у пациентов с диссеминированным ТЛ оказалась выше таковой в группе здоровых

лиц, а при лекарственно-устойчивом варианте заболевания также превышала значения у пациентов с лекарственно-чувствительной формой заболевания и с инфильтративным ЛУ ТЛ (табл. 2).

При исследовании базальной секреции мононуклеарными лейкоцитами крови одного из ключевых провоспалительных цитокинов – IFN $\gamma$  – у пациентов с ТЛ отмечалось значительное ее повышение (наиболее выраженное при диссеминированной форме заболевания) в среднем в 4,4 раза ( $p_1<0,001$ ) относительно соответствующего показателя у здоровых добровольцев (табл. 2). Индукция клеток вакцинным штаммом BCG сопровождалась повышением секреции IFN $\gamma$  у здоровых доноров и пациентов с инфильтративным ТЛ ( $p_4<0,001$  и  $p_4<0,001$  соответственно) (табл. 2).

Опосредованный Th-лимфоцитами иммунный ответ является необходимой составляющей эффективного контроля над туберкулезной инфекцией. Снижение количества Th1-лимфоцитов способствует патологическому течению противоинфекционного иммунитета и экспансии *M. tuberculosis*. В этой связи, повышение содержания Th17- и (у больных инфильтративным ТЛ) Th1/Th17-лимфоцитов при туберкулезной инфекции может рассматриваться как реакция, направленная на компенсацию нарушений Th1-иммунного ответа. Происходящие под действием цитокинов, секретируемых этими лимфоцитами, процессы – привлечение в очаг воспаления иммунокомпетентных клеток, стабилизация структуры гранулемы, активация регенерации ткани легкого и элиминация *M. tuberculosis* – являются важным механизмом защиты бронхоальвеолярного тракта и поддержания его барьерных функций.

#### Заключение

1. Содержание Th17-лимфоцитов (CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup>IL-17A<sup>+</sup>) в крови у пациентов с инфильтративным туберкулезом легких повышается в разной степени в зависимости от лекарственной чувствительности возбудителя, достигая максимальных значений при лекарственно-устойчивом варианте заболевания.

2. Течение инфильтративного туберкулеза легких сопровождается повышением количества CD4<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup>IL-17A<sup>+</sup> Th1/Th17-лимфоцитов в крови.

3. Гиперсекреция *in vitro* IL-17A, IL-22 и IFN $\gamma$  в сочетании с увеличением IL-17A<sup>+</sup> и IFN $\gamma$ <sup>+</sup>IL-17A<sup>+</sup> лимфоцитов свидетельствует об активации Th17- и Th1/Th17-клеток при туберкулезе легких. При этом наиболее высокий уровень секреции IL-17A в условиях *in vitro* обнаруживается у пациентов с лекарственно-устойчивым диссеминированным туберкулезом легких, а IFN $\gamma$  – с диссеминированным туберкулезом легких независимо от варианта заболевания.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента РФ для поддержки ведущих научных школ № НШ-7906.2016.7.

#### Литература

1. Uplekar M, Weil D, Lonnroth K, Jaramillo E, Lienhardt C, Dias HM, Falzon D, Floyd K, Gargioni G, Getahun H, Gilpin C, Glaziou P, Grzemska M, Mirzayev F, Nakatani H, Raviglione M. WHO's Global TB Programme. WHO's new end TB strategy. *Lancet*. 2015;2(385):1799-1801. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)60570-0.

2. Равильоне МК, Коробицын АА. Ликвидация туберкулеза – новая стратегия ВОЗ в эру целей устойчивого развития, вклад Российской Федерации. *Туберкулез и болезни лёгких*. 2016;94(11):7-15. DOI: 10.21292/2075-1230-2016-94-11-7-15.

3. Kamath AT, Mastelic B, Christensen D, Rochat AF,

Agger EM, Pinschewer DD, Andersen P, Lambert PH, Siegrist CA. Synchronization of Dendritic Cell Activation and Antigen Exposure Is Required for the Induction of Th1/Th17 Responses. *The Journal of Immunology*. 2012(188):4828-37. DOI: 10.4049/jimmunol.1103183.

4. Кононова ТЕ, Уразова ОИ, Новицкий ВВ, Чурина ЕГ. Опосредованная Т-лимфоцитами-хелперами типа 17 регуляция антибактериального (противотуберкулезного) иммунитета. *Молекулярная биология*. 2013;47(6):883-90. DOI: 10.1134/S0026893313050087.

5. Li Q, Li J, Tian J, Zhu B, Zhang Y, Yang K, Ling Y, Hu Y. IL-17 and IFN- $\gamma$  production in peripheral blood following BCG vaccination and Mycobacterium tuberculosis infection in human. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2012;16(14):2029-36.

6. Zheng SG. Regulatory T cells vs Th17: differentiation of Th17 versus Treg, are the mutually exclusive? *American Journal of Clinical and Experimental Immunology*. 2013;2(1):94-106.

7. Bystrom J, Taher TE, Muhyaddin MS, Clanchy FI, Mangat P, Jawad AS, Williams RO, Mageed RA. Harnessing the Therapeutic Potential of Th17 Cells. *Mediators of Inflammation*. 2015(2015):205156. DOI: 10.1155/2015/205156.

8. Lyadova IV, Pantelev AV. Th1 and Th17 Cells in Tuberculosis: Protection, Pathology, and Biomarkers. *Mediators of Inflammation*. 2015(2015):854507. DOI: 10.1155/2015/854507.

9. Trentini MM, de Oliveira FM, Kipnis A, Junqueira-Kipnis AP. The Role of Neutrophils in the Induction of Specific Th1 and Th17 during Vaccination against Tuberculosis. *Frontiers of Microbiology*. 2016;(7):898. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00898.

10. Nanke Y, Kobashigawa T, Yago T, Kawamoto M, Yamanaka H, Kotake S. Detection of IFN- $\gamma$ +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. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi*. 2016;39(5):473-77. DOI: 10.2177/jsci.39.473.

11. Martinez NE, Sato F, Kawai E, Omura S, Chervenak RP, Tsunoda I. Regulatory T cells and Th17 cells in viral infections: implications for multiple sclerosis and myocarditis. *Future Virology*. 2012(7):593-608. DOI: 10.2217/fvl.12.44.

12. Basu R, Hatton RD, Weaver CT. The Th17 family: flexibility follows function. *Immunological Reviews*. 2013;252(1):89-103. DOI: 10.1111/imr.12035.

13. Inoue N, Akazawa T. IL17A (interleukin 17A). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology Haematology*. 2014;19(1):18-27. DOI: 10.4267/2042/55373.

14. Heidarnezhad F, Asnaashari A, Rezaee SA, Ghezelsofla R, Ghazvini K, Valizadeh N, Basiri R, Ziaemehr A, Sobhani S, Rafatpanah H. Evaluation of

Interleukin17and Interleukin 23 expression in patients with active and latent tuberculosis infection. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2016;19(8):844-50.

15. Mourik BC, Lubberts E, de Steenwinkel JEM, Ottenhoff THM, Leenen PJM. Interactions between Type 1 Interferons and the Th17 Response in Tuberculosis: Lessons Learned from Autoimmune Diseases. *Frontiers in Immunology*. 2017(8):294. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00294.

### References

1. Uplekar M, Weil D, Lonnroth K, Jaramillo E, Lienhardt C, Dias HM, Falzon D, Floyd K, Gargioni G, Getahun H, Gilpin C, Glaziou P, Grzemska M, Mirzayev F, Nakatani H, Raviglione M. WHO's Global TB Programme. WHO's new end TB strategy. *Lancet*. 2015;2(385):1799-1801. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)60570-0.

2. Raviglione MK, Korobytsin AA. TB liquidation – new WHO strategy in the sustainable development goals era and the contribution of the Russian Federation. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2016;94(11):7-15. DOI: 10.21292/2075-1230-2016-94-11-7-15. (In Russian)

3. Kamath AT, Mastelic B, Christensen D, Rochat AF, Agger EM, Pinschewer DD, Andersen P, Lambert PH, Siegrist CA. Synchronization of Dendritic Cell Activation and Antigen Exposure Is Required for the Induction of Th1/Th17 Responses. *The Journal of Immunology*. 2012;(188):4828-37. DOI: 10.4049/jimmunol.1103183.

4. Kononova TE, Urazova OI, Novitskiy VV, Churina EG. Regulation of antibacterial (antitubercular) immunity mediated by T-lymphocytes-helpers type 17. *Molecular Biology*. 2013;47(6):769-775. DOI: 10.1134/S0026893313050087. (In Russian)

5. Li Q, Li J, Tian J, Zhu B, Zhang Y, Yang K, Ling Y, Hu Y. IL-17 and IFN- $\gamma$  production in peripheral blood following BCG vaccination and Mycobacterium tuberculosis infection in human. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2012;16(14):2029-36.

6. Zheng SG. Regulatory T cells vs Th17: differentiation of Th17 versus Treg, are the mutually exclusive? *American Journal of Clinical and Experimental Immunology*. 2013;2(1):94-106.

7. Bystrom J, Taher TE, Muhyaddin MS, Clanchy FI, Mangat P, Jawad AS, Williams RO, Mageed RA. Harnessing the Therapeutic Potential of Th17 Cells. *Mediators of Inflammation*. 2015(2015):205156. DOI: 10.1155/2015/205156.

8. Lyadova IV, Panteleev AV. Th1 and Th17 Cells in Tuberculosis: Protection, Pathology, and Biomarkers. *Mediators of Inflammation*. 2015(2015):854507. DOI: 10.1155/2015/854507.

9. Trentini MM, de Oliveira FM, Kipnis A, Junqueira-Kipnis AP. The Role of Neutrophils in the Induction of Specific Th1 and Th17 during Vaccination against

Tuberculosis. *Frontiers of Microbiology*. 2016(7):898. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00898.

10. Nanke Y, Kobashigawa T, Yago T, Kawamoto M, Yamanaka H, Kotake S. Detection of IFN- $\gamma$ +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. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi*. 2016;39(5):473-77. DOI: 10.2177/jsci.39.473.

11. Martinez NE, Sato F, Kawai E, Omura S, Chervenak RP, Tsunoda I. Regulatory T cells and Th17 cells in viral infections: implications for multiple sclerosis and myocarditis. *Future Virology*. 2012(7):593-608. DOI: 10.2217/fvl.12.44.

12. Basu R, Hatton RD, Weaver CT. The Th17 family: flexibility follows function. *Immunological Reviews*. 2013;252(1):89-103. DOI: 10.1111/imr.12035.

13. Inoue N, Akazawa T. IL17A (interleukin 17A). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology Haematology*. 2014;19(1):18-27. DOI: 10.4267/2042/55373.

14. Heidarneshad F, Asnaashari A, Rezaee SA, Ghezelsofla R, Ghazvini K, Valizadeh N, Basiri R, Ziaemehr A, Sobhani S, Rafatpanah H. Evaluation of Interleukin17and Interleukin 23 expression in patients with active and latent tuberculosis infection. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2016;19(8):844-50.

15. Mourik BC, Lubberts E, de Steenwinkel JEM, Ottenhoff THM, Leenen PJM. Interactions between Type 1 Interferons and the Th17 Response in Tuberculosis: Lessons Learned from Autoimmune Diseases. *Frontiers in Immunology*. 2017(8):294. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00294.

### Сведения об авторах

Кононова Татьяна Евгеньевна, Сибирский государственный медицинский университет; адрес: Российская Федерация, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2; тел: +7(923)4038005; e-mail: kononova.te@gmail.com

Уразова Ольга Ивановна, Сибирский государственный медицинский университет; адрес: Российская Федерация, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2; тел: +7(903)9131483; e-mail: urazova72@yandex.ru

Новицкий Вячеслав Викторович, Сибирский государственный медицинский университет; адрес: Российская Федерация, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2; тел: +7(906)9513837; e-mail: patfizssmu@yandex.ru

Захарова Пелагея Анатольевна, Сибирский государственный медицинский университет; адрес: Российская Федерация, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2; тел: +7(906)9513837; e-mail: polina\_zaharova@mail.ru

### Author information

Tatyana E. Kononova, Siberian State Medical University; Address: 2, Moskovsky trakt, Tomsk, Russian Federation, 634050; Phone: +7(923)4038005; e-mail: kononova.te@gmail.com

Olga I. Urazova, Siberian State Medical University; Address: 2, Moskovsky trakt, Tomsk, Russian Federation, 634050; Phone: +7(903)9131483; e-mail: urazova72@yandex.ru

Vyacheslav V. Novitskii, Siberian State Medical University; Address: 2, Moskovsky trakt, Tomsk, Russian Federation, 634050; Phone: +7(906)9513837; e-mail: patfizssmu@yandex.ru

Pelageya A. Zakharova, Siberian State Medical University; Address: 2, Moskovsky trakt, Tomsk, Russian Federation, 634050; Phone: +7(906)9513837; e-mail: polina\_zaharova@mail.ru

Поступила 30.04.2017 г.

Принята к печати 10.10.2017 г.