

**ИЗМЕНЕНИЯ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА CD8+ Т-ЛИМФОЦИТОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ САРКОИДОЗОМ ЛЕГКИХ**

Рубинштейн А. А.<sup>1</sup>,

Кудрявцев И. В.<sup>1,2</sup>,

Лазарева Н. М.<sup>3</sup>,

Акишева Т. В.<sup>1</sup>,

Баранова О. П.<sup>2</sup>,

Сесь Т. П.<sup>2</sup>,

Илькович М. М.<sup>2</sup>,

Тотолян А. А.<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия.

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия.

<sup>3</sup> ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия.

**ALTERATIONS IN PERIPHERAL BLOOD CD8+ T CELL SUBSETS IN PATIENTS WITH LUNG SARCOIDOSIS**

Rubinstein A. A. <sup>a</sup>,

Kudryavtsev I. V. <sup>a, b</sup>,

Lazareva N. M. <sup>c</sup>,

Akischeva T. V. <sup>a</sup>,

Baranova O. P. <sup>b</sup>,

Ses' T. P. <sup>b</sup>,

Ilkovich M. M. <sup>b</sup>,

Totolian A. A. <sup>b, d</sup>

<sup>a</sup> Institute of Experimental Medicine, St.Petersburg, Russian Federation.

<sup>b</sup> First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St.Petersburg, Russian Federation.

<sup>c</sup> Federal State Budgetary Institution "Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medical and Biological Agency", St.Petersburg, Russian Federation.

<sup>d</sup> St. Petersburg Pasteur Institute, St.Petersburg, Russian Federation.

## Резюме

Саркоидоз это системное иммуноопосредованное гранулематозное заболевание неизвестной по настоящее время этиологии, характеризующееся инфильтрацией тканей макрофагами и лимфоцитами, включая CD8+ Т-лимфоциты, и сопутствующим образованием неказеозных гранул. Целью исследования являлось изучение различных субпопуляций CD8+ Т-клеток в периферической крови больных хроническим течением саркоидоза органов дыхания с применением маркеров созревания, «поляризации», дифференцировки и миграции Т-лимфоцитов. Образцы периферической венозной крови были получены от 34 пациентов с впервые выявленным хроническим саркоидозом органов дыхания на фоне естественного течения без применения иммуносупрессивной терапии. Диагноз саркоидоза был установлен на основе комплексного клиничко-лучевого исследования и подтвержден гистологически у 94,12% пациентов. В качестве контрольной группы использовалась периферическая венозная кровь условно-здоровых доноров (n=40), сопоставимых по полу и возрасту с пациентами с легочным саркоидозом. С применением многоцветной проточной цитометрии было показано, что саркоидозе снижалось как относительное, так и абсолютное содержание CD45RA+CD62L+ «наивных» CD8+ Т-клеток и CD45RA-CD62L+ CD8+ Т-клеток центральной памяти относительно значений группы контроля, а также EM1 клеток (CD45RA-CD62L-CD27+CD28+) и пре-эффекторов 1 типа (CD45RA+CD62L-CD27+CD28+). В ходе последующих исследований по экспрессии CXCR3 и CCR6 CD8+ Т-клеток были разделены на Tc1 (CCR6-CXCR3+), Tc2 (CCR6-CXCR3-), Tc17 (CCR6+CXCR3-) и «дважды-позитивные» Tc17.1 (CCR6+CXCR3+). В случае субпопуляций CD8+ Т-клеток, способных к экспрессии CXCR3 (Tc1 и Tc17.1), нами были отмечены достоверные снижения как относительного, так и абсолютного содержания этих клеток у пациентов с саркоидозом относительно значений условно здорового контроля. На фоне снижения Tc1 клеток нами было отмечено увеличение доли Tc2 клеток в периферической крови пациентов с саркоидозом. Более того, при саркоидозе относительное содержание Tc1 клеток находилось в обратной зависимости от уровня АПФ в сыворотке крови ( $r=-0,456$  при  $p=0,010$ ), а по мере роста АПФ в сыворотке крови больных отмечалось повышение доли Tc2 клеток ( $r=0,623$  при  $p<0,001$ ). Таким образом, полученные нами результаты указывают на то, что CD8+ Т-лимфоциты могут играть роль в патогенеза саркоидоза. Для дальнейшей систематизации полученных данных требуются более расширенные клиничко-иммунологические сопоставления.

**Ключевые слова:** саркоидоз, CD8+ Т-лимфоциты, дифференцировка Т-лимфоцитов, Tc1, Tc17, Tc17.1, проточная цитометрия.

### **Abstract**

Sarcoidosis is a systemic inflammatory disorder of unknown etiology characterized by tissue infiltration with macrophages and lymphocytes, including CD8+ T cells, and associated non-caseating granuloma formation. The aim of the study was to investigate various peripheral blood CD8+ T cells from patients with chronic respiratory sarcoidosis using markers of T cell maturation and 'polarization'. Peripheral blood samples were collected from 34 patients with newly diagnosed chronic sarcoidosis of the respiratory organs with the background of a natural course of disease and without immunosuppressive therapy history. The diagnosis of pulmonary sarcoidosis was performed according to the standard criteria and was confirmed by histological examination for 94,12% of patients. Peripheral venous blood samples from healthy volunteers (n=40), matched by gender and age with patients with pulmonary sarcoidosis, was used as a control group. Multicolor flow cytometry revealed that patients with sarcoidosis had decreased levels of CD45RA+CD62L+ 'naïve' and CD45RA-CD62L+ central memory CD8+ T cells if compared with healthy controls, as well as the frequencies of EM1 (CD45RA-CD62L-CD27+CD28+) и pre-effector type 1 (CD45RA+CD62L-CD27+CD28+) cells were also reduced. Next, to assess relevant 'polarized' CD8+ T cell subsets, we identified Tc1 (CCR6-CXCR3+), Tc2 (CCR6-CXCR3-), Tc17 (CCR6+CXCR3-), and double-positive Tc17.1 (CCR6+CXCR3+). We found that CXCR3-expressing CD8+ T cell subsets (Tc1 and Tc17.1) were significantly decreased both in relative and absolute numbers in patients with sarcoidosis if compared to healthy controls. Oppositely, Tc2 CD8+ T cell were significantly elevated. Furthermore, the relative numbers of Tc1 cells negatively correlated with serum ACE levels ( $r=-0,456$  with  $p=0,010$ ), while Tc2 levels positively correlated with serum ACE levels ( $r=0,623$  with  $p<0,001$ ). Thus, our results indicate that CD8+ T cells may play a role in the pathogenesis of sarcoidosis. More extensive clinical and immunological comparisons are required for further systematization of the obtained data.

**Keywords:** sarcoidosis, CD8+ T cells, T cell maturation, Tc1 cell subsets, Tc17, Th17.1, flow cytometry.

## 1 Введение

2 Саркоидоз представляет собой системное иммуноопосредованное  
3 гранулематозное заболевание с гетерогенными клиническими проявлениями,  
4 этиология которого по настоящее время остается до конца неизученной [35].  
5 Причинами развития данного заболевания могут быть инфекционные агенты  
6 [55], аутоиммунные процессы [51], различного рода внешние физические и  
7 химические воздействия [13], либо генетические факторы [11], влияющие на  
8 функционирование клеток системы врожденного и приобретенного  
9 иммунитета. При всем разнообразии причин, приводящих к развитию данного  
10 заболевания, саркоидоз характеризуется образованием гранулем, в котором  
11 задействованы многие факторы, включая иммунные клетки и их  
12 иммунорегуляторные цитокины [47]. В настоящее время ведущая роль в  
13 патогенезе саркоидоза отводится Th1 и Th17, а также относительно недавно  
14 описанной популяции так называемых Th17.1 лимфоцитов и основным  
15 цитокинам, которые синтезируются всеми этими клетками в очаге воспаления,  
16 включая, в первую очередь, IFN $\gamma$  и IL-17 [58].

17 Роль CD8+ Т-лимфоцитов в патогенезе саркоидоза остается мало  
18 изученной. Большинство работ посвящено изучению активности CD8+ Т-  
19 лимфоцитов при онкологии, вирусных инфекциях, в реакциях  
20 трансплантационного иммунитета, а также в репродуктологии [24; 45]. Вместе  
21 с тем, есть основание предполагать, что CD8+ Т-клетки принимают активное  
22 участие и в патогенезе саркоидоза, о чем свидетельствуют результаты  
23 многочисленных генетических исследований при саркоидозе. Так, при разных  
24 типах клинического течения саркоидоза описаны различные виды  
25 полиморфизма генов, кодирующих молекулы главного комплекса  
26 гистосовместимости (HLA) I класса, во взаимодействие с которым вступает  
27 молекула CD8, являющаяся ко-рецептором цитотоксических Т-клеток,  
28 включая аллели генов HLA-B8 и HLA-B13 [23,32]. Более того, показано, что  
29 аллели HLA-B15, -C4, -C7, -C12, -C15, -C16 и -C17 связаны с повышенным  
30 риском развития саркоидоза, тогда как наличие у пациентов HLA-A9, -A28, -  
31 B12 и -B17 существенно снижает вероятность развития саркоидоза [38].

32 Кроме того, при изучении клеточного состава в саркоидных гранулемах  
33 обнаруживаются клетки моноцитарно-макрофагального ряда и CD4+ Т-  
34 клетки, однако по периферии гранулемы располагаются CD8+ Т-лимфоциты  
35 [22]. причем, роль последних в патогенезе данного заболевания в настоящее  
36 время активно обсуждается. Возможно, CD8+ Т-лимфоциты за счет секреции  
37 перфорины и гранзимов разрушают функциональные клетки в нормальных  
38 тканях, тем самым, способствуя развитию соединительной ткани [39]. Следует  
39 помнить, что помимо цитолитической функции CD8+ Т-клетки синтезируют  
40 биологически активные молекулы, например, цитокины – IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$  [53],  
41 уровни таких цитокинов повышены в периферической крови и ЖБАЛ у  
42 пациентов с саркоидозом [6,54]. Известно, что цитотоксические CD8+ Т-  
43 лимфоциты неоднородны как по секреции перфоринов и гранзимов, так и по  
44 экспрессии различных цитокинов. Активация цитотоксических Т-лимфоцитов

45 у больных саркоидозом, по-видимому, может играть существенную роль не  
46 только в процессе формирования гранулем, но также влиять на характер  
47 клинического течения заболевания [39].

48 В настоящее время CD8+ Т-лимфоциты, по аналогии с CD4+ Т-  
49 лимфоцитами, подразделяются по экспрессии транскрипционных факторов,  
50 цитокиновых молекул и хемокиновых рецепторов (основным среди которых  
51 являются CCR6 и CXCR3) на Tc1, Tc2, Tc17, Tc17.1 и т.д. [34]. Лиганды для  
52 CCR6 и CXCR3 при данной патологии оцениваются в ЖБАЛ, периферической  
53 крови и в биопсийных образцах с целью выявления процесса миграции  
54 иммунокомпетентных клеток в пораженные ткани. Показано, что уровень  
55 лигандов для CXCR3 увеличивается в циркулирующей крови [2] и может быть  
56 тесно связан с системными проявлениями саркоидоза [9]. Взаимодействие  
57 CCL20 с CCR6 способствует привлечению CD3+CCR6+ клеток в гранулему  
58 [18]. В этой связи исследование различных субпопуляций CD8+ Т-  
59 лимфоцитов и их возможной роли в патогенезе саркоидоза представляется  
60 актуальной задачей.

61 Целью исследования являлось изучение различных субпопуляций CD8+  
62 Т-клеток в периферической крови больных хроническим течением саркоидоза  
63 органов дыхания с применением маркеров созревания, «поляризации»,  
64 дифференцировки и миграции цитотоксических Т-лимфоцитов.

## 65 2 Материалы и методы

66 Материалом (объектом) исследования служили образцы  
67 периферической венозной крови 34 больных с впервые выявленным  
68 хроническим саркоидозом органов дыхания на фоне естественного течения  
69 без применения иммуносупрессивной терапии. Пациенты наблюдались в  
70 клинике НИИ интерстициальных и орфанных заболеваний легких, ФГБОУ ВО  
71 «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет  
72 им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России. Диагноз саркоидоза был  
73 установлен на основе комплексного клинико-лучевого исследования и  
74 подтвержден гистологически у 32 (94,12%) пациентов в соответствии с  
75 отечественными и зарубежными рекомендациями [3,10,14]. Возраст  
76 пациентов (n=34) варьировал от 20-65 лет, в группу были включены 19 мужчин  
77 и 15 женщин. У большинства больных 21 (61,76%) была диагностирована 2  
78 стадия СОД, реже отмечалась 3 стадия (12 (35,30%) больных), и только у  
79 одного (2,94%) – 1 стадия. Системные проявления саркоидоза были выявлены  
80 у 15 (44,12%) больных и у 19 (55,88%) пациентов имели системные, тогда как  
81 страдали только внутригрудным саркоидозом. В качестве контрольной  
82 группы использовалась периферическая венозная кровь условно-здоровых  
83 доноров (n=40), сопоставимых по полу и возрасту с пациентами с легочным  
84 саркоидозом.

85 Все исследования были проведены после добровольного  
86 информированного согласия испытуемых, а также в соответствии с  
87 Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы  
88 проведения научных медицинских исследований с участием человека» с

89 поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской  
90 Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.  
91 Работа была одобрена Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Первый  
92 Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад.  
93 И.П. Павлова» Минздрава России (протокол № 245 от 15 февраля 2021 г.).

94 Все исследования проводились в день взятия крови (не более 6 часов  
95 после получения образцов). Для выявления ключевые стадии созревания  
96 CD8+ Т-клеток периферической крови использовали следующий набор  
97 антител, производства Beckman Coulter, США: CD57-FITC, CD56-PE, CD62L-  
98 ECD, CD28-PC5.5, CD27-PC7, CD4-APC, CD8-APC-AF700, CD3-APC-AF750,  
99 CD45RA-RacBlue и CD45-KromeOrange. Окраску антителами производили по  
100 инструкции производителя. Для удаления эритроцитов из образцов  
101 использовали лизирующий раствор VersaLyse (Beckman Coulter, США), к 975  
102 мкл которого *ex tempore* добавляли 25 мкл фиксирующего раствора IOTest 3  
103 Fixative Solution (Beckman Coulter, США). Для получения абсолютных  
104 значений популяций CD8+ Т-клеток использовали частицы для абсолютного  
105 подсчета клеток Flow-Count™ Fluorospheres (Beckman Coulter, США) согласно  
106 инструкции производителя. Алгоритм выявления клеточных популяций –  
107 «тактика гейтирования» – был описан нами ранее [26].

108 При разделении CD8+ Т-клеток периферической крови на отдельные  
109 «поляризованные» популяции применяли следующий набор антител,  
110 производства компании BioLegend (США): CD45RA-FITC, CD62L-PE,  
111 CXCR5-PerCP-Cy5.5, CCR6-Per/Cy7, CXCR3-APC, CD3-APC/Cy7, CD8-  
112 RacBlue и CCR4-BV510. Удаление эритроцитов производили с применением  
113 реагентов, описанных выше; после разрушения эритроцитов образцы  
114 однократно отмывали избытком физиологического раствора при 330g в  
115 течение 7 минут, клеточный осадок ресуспендировали в физиологическом  
116 растворе с pH 7,2-7,4, содержащем 2% параформальдегида (Sigma-Aldrich,  
117 США). Алгоритм выявления «поляризованных» популяций CD8+ Т-клеток –  
118 «тактика гейтирования» – был описан нами ранее [28].

119 Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре Navios™  
120 (Beckman Coulter, США), обработку данных проточной цитометрии  
121 осуществляли при помощи Kaluza™ v.2.0 (Beckman Coulter, США). Также  
122 результаты цитометрического анализа от пациентов с саркоидозом и контроля  
123 конкатенировались и анализировались при помощи tSNE (от англ. «t-  
124 Distributed Stochastic Neighbor Embedding») с применением пакета программ  
125 FlowJo™ v10 (BD Bioscience Inc., USA). Нормальность распределения  
126 проверяли по критерию согласия Пирсона хи-квадрат. Результаты выражали в  
127 виде % позитивных клеток от искомой популяции и приводили в виде медианы  
128 и интерквартильного размаха (Med (Q25%; Q75%)). Для сравнения групп  
129 использовали U-критерий Манна-Уитни. Статистическую обработку  
130 проводили при помощи программного обеспечения Statistica 8.0 (StatSoft,  
131 США) и GraphPad Prism 4.00 for Windows (GraphPad Prism Software Inc.,  
132 США).

133 **3 Результаты**

134 При анализе основных популяций лимфоцитов нами было отмечено  
135 достоверное снижение уровня относительного и абсолютного содержания  
136 CD3+ клеток у пациентов с хроническим саркоидозом относительно значений  
137 контрольной группы (69,88% (61,83; 75,15) против 78,29% (73,35; 81,20) и 936  
138 кл/1 $\mu$ L (724; 1185) против 1273 кл/1 $\mu$ L (11,36; 1570) при  $p < 0,001$  в обоих  
139 случаях). Снижение уровня Т-клеток было, в первую очередь, связано с  
140 уменьшением в периферической крови больных саркоидозом CD4+ Т-  
141 лимфоцитов (40,54% (32,47; 47,80) против 47,63% (44,92; 52,20) и 519 кл/1 $\mu$ L  
142 (441; 767) против 775 кл/1 $\mu$ L (679; 1041) при  $p = 0,001$  и  $p < 0,001$ ,  
143 соответственно). В случае CD8+ Т-клеток при саркоидозе было отмечено  
144 снижение только концентрации клеток данной популяции в крови (329 кл/1 $\mu$ L  
145 (208; 465) против 446 кл/1 $\mu$ L (349; 527) при  $p = 0,003$ ), тогда как относительное  
146 содержание CD8+ Т-лимфоцитов достоверно между группами не различалось  
147 (23,70% (18,66; 30,64) против 24,96% (21,03; 29,34) при  $p = 0,303$ ) (рисунок 1).

148 Далее, на основании ко-экспрессии CD45RA и CD62L общий пул CD8+  
149 Т-клеток был разделен на четыре основные субпопуляции, включая «наивные»  
150 клетки, клетки центральной и эффекторной памяти, а также зрелые  
151 эффекторные клетки популяции TEMRA (фенотипы CD45RA+CD62L+,  
152 CD45RA–CD62L+, CD45RA–CD62L– и CD45RA+CD62L–, соответственно).  
153 Как показано на рисунке 2, при саркоидозе в рамках общего пула  
154 циркулирующих CD8+ Т-клеток снижается относительное содержание  
155 «наивных» клеток и клеток центральной памяти (18,42% (5,44; 28,28) против  
156 27,94% (16,60; 35,54) и 6,64% (4,00; 9,68) против 11,04% (7,13; 13,32) при  
157  $p = 0,011$  и  $p = 0,001$ , соответственно), тогда как уровень эффекторных клеток  
158 популяции TEMRA достоверно возрастал (40,88% (22,34; 46,32) против  
159 25,89% (15,10; 35,79) при  $p = 0,009$ ). Более того, при анализе абсолютного  
160 содержания исследуемых популяций CD8+ Т-клеток у пациентов с  
161 саркоидозом отмечалось снижение уровня трех популяций клеток, включая  
162 «наивные» (50 кл/1 $\mu$ L (12; 95) против 118 кл/1 $\mu$ L (79; 153),  $p < 0,001$ ), клетки  
163 центральной (19 кл/1 $\mu$ L (114 33) против 39 кл/1 $\mu$ L (31; 63),  $p < 0,001$ ) и  
164 эффекторной памяти (114 кл/1 $\mu$ L (64; 152) против 149 кл/1 $\mu$ L (99; 200),  
165  $p = 0,044$ ) относительно значений контрольной группы.

166 Поскольку у пациентов с хроническим саркоидозом были отмечены  
167 нарушения в основных субпопуляциях CD8+ Т-клеток, находящихся на  
168 разных стадиях дифференцировки, в ходе дальнейших исследований мы  
169 оценивали субпопуляционный состав EM и TEMRA клеток. Известно, что  
170 экспрессия костимулирующих молекул CD27 и CD28 позволяет определить  
171 четыре различных типа клеток эффекторной памяти [44], включая EM1  
172 (CD27+CD28+), EM2 (CD27+CD28–), EM3 (CD27–CD28–) и EM4  
173 (CD27–CD28+). Было показано (рисунок 3), что при саркоидозе снижается как  
174 относительное, так и абсолютное содержание CD8+ Т-клеток популяции EM1  
175 (41,16% (27,15; 55,86) против 51,35% (41,89; 65,43) и 40 кл/1 $\mu$ L (21; 64) против  
176 65 кл/1 $\mu$ L (53; 99) при  $p = 0,10$  и  $p < 0,001$ , соответственно). Также нами было

177 отмечено снижение концентрации EM4 клеток у пациентов с саркоидозом  
178 относительно значений контрольной группы (4 кл/1 $\mu$ L (3; 7) против 7 кл/1 $\mu$ L  
179 (5; 9),  $p=0,027$ ).

180 В дальнейшем, анализируя экспрессии CD27 и CD28 на поверхности  
181 клеток популяции TEMRA, были выявлены три основные популяции клеток –  
182 пре-эффекторы 1 типа (pE1, CD27+CD28+), пре-эффекторы 2 типа (pE2,  
183 CD27+CD28–) и эффекторные клетки (Eff, CD27–CD28–), которые  
184 различались как своим фенотипическим, так и функциональным  
185 характеристикам [46]. Было показано (рисунок 4), что как относительное, так  
186 и абсолютное содержание CD8+ Т-клеток популяции pE1 у пациентов с  
187 саркоидозом было снижено относительно значений контроля (9,47% (3,49;  
188 19,00) против 13,02% (8,48; 21,22) и 9 кл/1 $\mu$ L (4; 15) против 13 кл/1 $\mu$ L (8; 20)  
189 при  $p=0,048$  и  $p=0,034$ , соответственно).

190 В ходе последующих исследований фенотипических особенностей  
191 CD8+ Т-клеток периферической крови у пациентов с саркоидозом легких,  
192 нами была предпринята попытка выявить «поляризованные» субпопуляции  
193 CD8+ Т-клеток, которые различались по экспрессии CXCR3 и CCR6 [34], что  
194 позволило разделить общий пул клеток на Tc1 (CCR6–CXCR3+), Tc2 (CCR6–  
195 CXCR3–), Tc17 (CCR6+CXCR3–) и «дважды-позитивные» Tc17.1  
196 (CCR6+CXCR3+). В случае CD8+ Т-клеток, способных к экспрессии CXCR3 –  
197 Tc1 и Tc17.1, нами были отмечены достоверные снижения как относительного  
198 (64,42% (53,55; 70,41) против 69,78% (64,88; 76,08) при  $p=0,004$  и 3,51% (2,42;  
199 6,67) против 7,41% (4,00; 12,37) при  $p=0,002$ , соответственно), так и  
200 абсолютного (176 кл/1 $\mu$ L (113; 294) против 325 кл/1 $\mu$ L (246; 467) при  $p<0,001$   
201 и 13 кл/1 $\mu$ L (8; 23) против 43 кл/1 $\mu$ L (17; 63) при  $p<0,001$ ) их содержания у  
202 пациентов с саркоидозом относительно значений условно здорово контроля  
203 (рисунок 5). На фоне снижения Tc1 клеток нами было отмечено увеличение  
204 доли Tc2 клеток в периферической крови пациентов с саркоидозом (25,95%  
205 (18,47; 32,50) против 16,98% (14,04; 22,43) при  $p<0,001$ ). Более того, при  
206 саркоидозе относительное содержание Tc1 клеток находилось в обратной  
207 зависимости от уровня АПФ в сыворотке крови ( $r=-0,456$  при  $p=0,010$ ), а по  
208 мере роста АПФ в сыворотке крови больных отмечалось повышение доли Tc2  
209 клеток ( $r=0,623$  при  $p<0,001$ ).

210 Применения многоцветной проточной цитометрии позволило нам  
211 проанализировать распределение различных «поляризованных» CD8+ Т-  
212 клеток на разных стадиях дифференцировки. Для начала мы определили  
213 уровень CCR6–CXCR3+ Tc1 в рамках популяций «наивных», CM, EM и  
214 TEMRA клеток (рисунок 6). Было показано, что снижение общего пула Tc1  
215 лимфоцитов при саркоидозе связано с уменьшением доли данной популяции  
216 в рамках CM (60,39% (50,23; 69,52) против 71,74% (64,94; 77,55),  $p=0,001$ ) и  
217 TEMRA (51,40% (40,98; 64,53) против 65,20% (53,83; 75,25),  $p=0,001$ ). Также  
218 для CM Tc1 и TEMRA Tc1 нами были отмечена обратные корреляционные  
219 взаимосвязи с уровнем АПФ в сыворотке крови ( $r=-0,415$  при  $p=0,020$  и  $r=-$   
220 0,487 при  $p=0,005$ , соответственно). Кроме того, уровень Tc2 CD8+ Т-клеток

221 при саркоидозе повышался во всех на «наивных» популяциях CD8+ Т-клеток,  
222 включая клетки центральной (16,99% (10,45; 22,81) против 7,41% (3,77; 14,37)  
223 при  $p < 0,001$ ) и эффекторной памяти (18,86% (10,82; 27,05) против 6,27% (3,45;  
224 11,14) при  $p < 0,001$ ), а также зрелых эффекторах популяции TEMRA (40,47%  
225 (26,03; 55,84) против 23,73% (16,18; 32,11) при  $p < 0,001$ ). Увеличение уровней  
226 Тс2 клеток в рамках популяций СМ, ЕМ и TEMRA было тесно связано с  
227 приростом АПФ в сыворотке крови пациентов с саркоидозом ( $r=0,453$  при  
228  $p=0,010$ ,  $r=0,397$  при  $p=0,027$  и  $r=0,619$  при  $p < 0,001$ , соответственно). В случае  
229 Тс17 клеток также было отмечено некоторое увеличение данной  
230 субпопуляции CD8+ Т-лимфоцитов у пациентов с саркоидозом в рамках  
231 «наивных» клеток (0,35% (0,16; 1,00) против 0,20% (0,13; 0,34) при  $p=0,021$ ) и  
232 популяции СМ (3,03% (1,73; 5,02) против 1,66% (1,06; 3,78) при  $p=0,013$ ). И,  
233 наконец, CCR6+CXCR3+ Тс17.1 клетки были снижены при саркоидозе по  
234 сравнению с группой контроля в рамках основных не «наивных» популяций,  
235 включая клетки центральной (8,52% (4,16; 13,77) против 1285% (6,64; 18,21)  
236 при  $p=0,007$ ) и эффекторной (11,37% (7,27; 22,44) против 27,82% (18,28; 41,32)  
237 при  $p < 0,001$ ) памяти, а также клетки TEMRA (2,98% (1,06; 4,31) против 4,75%  
238 (2,06; 9,51) при  $p=0,047$ ).

#### 239 4 Обсуждение

240 Таким образом, анализ циркулирующих CD8+ Т-клеток, находящихся  
241 на различных стадиях созревания, у пациентов с саркоидозом легких показал,  
242 что в кровотоке наблюдается снижение уровня клеток, способных к  
243 пролиферации в лимфоидной ткани («наивные», СМ, ЕМ1 и рЕ1), тогда как  
244 уровень клеток, обладающих выраженными эффекторными свойствами (ЕМ3,  
245 TEMRA, Eff) – продукцией цитокинов, дегрануляцией и уничтожением  
246 клеток-мишеней – сохраняется на высоком уровне, что особенно интересно на  
247 фоне общей лимфоцитопении, характерной для данного заболевания.

248 Следует отметить, что при саркоидозе общий пул циркулирующих в  
249 крови CD3+ Т-лимфоцитов может снижаться вследствие многих причин:  
250 компартментализации иммунных процессов - повышенной инфильтрации  
251 эффекторными Т-клетками органов-мишеней; усилением периферического  
252 апоптоза, вызванного гиперактивацией лимфоцитов под действием цитокинов  
253 и других факторов; в результате нарушений процесса созревания Т-клеток в  
254 тимусе (что может затрагивать формирования всех основных популяций Т-  
255 клеток, включая CD4+ Т-хелперы, CD8+ Т-клетки и регуляторные Т-  
256 лимфоциты). Так, например, Nato и соавторы в своем клиническом случае  
257 показали сочетание саркоидных гранулем в легочной паренхиме и  
258 внутригрудных лимфатических узлах с кальцифицированной тимомой [20].  
259 Кроме того, были описаны случаи, в которых на фоне саркоидоза у пациентов  
260 формировались тимомы [30]. Esendagli и соавторы в своем исследовании  
261 показали роль тимуса в развитии саркоидоза [17]. Так, в представленном  
262 авторами клиническом случае у 53-летней пациентки, имеющей саркоидные  
263 гранулемы в паренхиме легких, внутригрудных лимфатических узлах и коже,  
264 провели тимэктомию, после чего проявления саркоидоза разрешились. Кроме

265 того, при процессах иммунной дисрегуляции у больных хроническим  
266 саркоидозом также повышены уровни провоспалительных цитокинов и  
267 хемокинов, что может оказывать существенное влияние как на формирование  
268 Т-клеток в тимусе, так и на миграцию Т-лимфоцитов в очаги поражения,  
269 локализованные в периферических органах [15,16]. Следует отдельно  
270 упомянуть, что при саркоидозе в общем пуле «наивных» Т-клеток  
271 периферической крови была выявлена высокая экспрессия маркеров не-TCR-  
272 опосредованной активации клеток, белков, отвечающих за апоптоз, а также  
273 существенные нарушения регуляции дифференцировки Т-клеток [19].

274 При анализе «поляризованных» популяций CD8+ Т-лимфоцитов нами  
275 было отмечено снижение уровней клеток, экспрессирующих на своей  
276 поверхности хемокиновый рецептор CXCR3 – Tc1 и Tc17.1, на фоне  
277 увеличения доли Tc2 лимфоцитов. Причем эти изменения были тесно связаны  
278 с уровнем АПФ в сыворотке крови и касались, в первую очередь, не  
279 «наивных» популяций клеток, что может указывать на нарушения в процессах  
280 формирования CD8+ Т-клеток в периферических лимфоидных органах, а  
281 также их взаимосвязь с развитием заболевания. Подобно Th1 клеткам Tc1  
282 CD8+ Т-лимфоциты играют ведущую роль в реализации воспалительных  
283 реакций по I типу за счет наличия выраженных цитолитических свойств,  
284 основанных на способности накапливать в цитоплазматических гранулах  
285 перфорин и гранзимы, а также продукции эффекторных цитокинов - IFN $\gamma$  и  
286 TNF $\alpha$  [7]. Tc1 CD8+ Т-лимфоциты экспрессируют на своей поверхности CCR5  
287 и CXCR3, тогда как остальные хемокиновые рецепторы, свойственные Tc2,  
288 Tc17 и фолликулярным CD8+ Т-лимфоцитам (CCR4, CCR6 и CXCR5,  
289 соответственно), на их клеточной мембране отсутствуют [34].. Кроме того,  
290 CD3+CD8+IFN $\gamma$ + Tc1 высоко экспрессируют IL-18R, свойственный также и  
291 Th1 клеткам, причем этой особенностью обладали именно IFN $\gamma$ -  
292 продуцирующие CD8+ Т-лимфоциты [12]. С другой стороны, в  
293 циркулирующей крови также выявляют Tc2 и Tc17 CD8+ Т-лимфоциты,  
294 которые по спектру экспрессируемых транскрипционных факторов и  
295 секретируемых цитокинов схожи с Th2 и Th17, соответственно, но не  
296 обладают выраженными способностями уничтожать клетки-мишени [37]. Как  
297 известно, баланс между цитолитическими Tc1 и «цитокин-подуцирующими»  
298 популяциями Tc2 и Tc17 играет важную роль в развитии различных  
299 патологических состояний, включая аутоиммунитет и инфекции. При этом  
300 условия дифференцировки CD8+ Т-лимфоцитов формируются за счет  
301 различного характера микроокружения, в первую очередь, концентрации  
302 цитокинов. Известно, что тип активации различных субпопуляций Т-хелперов  
303 (Th1, Th17, Th17.1, Tregs) во многом определяет характер клинического  
304 течения саркоидоза. При остром течении характерна активация в основном  
305 Th1, при хроническом – Th17.1 [13,35].

306 В последнее время существует теория о том, что субпопуляция Th17.1  
307 способствует хронизации аутоиммунного воспаления при саркоидозе [36].  
308 Клетки Th17, мигрируя в легкие, переходят в фенотип Th17.1, который

способствует формированию гранулемы и поддержанию воспалительных реакций. Как было показано в наших предыдущих исследованиях, концентрация Th17.1 в периферической крови у пациентов с саркоидозом легких снижалась [31], что может быть связано с миграцией этих клеток в очаг воспаления. Действительно, Ramstein и соавторы в своем исследовании показали повышение Th17.1 в ЖБАЛ больных саркоидозом легких [43]. Также, при иммуногистохимическом исследовании саркоидных гранул обнаруживалось повышенное содержание Th17.1 как по их центру, так и по периферии [25,52]. Поскольку CD8+Т-лимфоциты, наряду с Т-хелперами, также могут вносить существенный вклад в формирование разных типов цитокинового микроокружения в пораженных органах и напрямую влиять на характер клинического течения саркоидоза, изучение активации различных субпопуляций CD8+ клеток может внести вклад в понимание иммунопатогенеза заболевания. Однако в настоящее время данные о роли различных субпопуляций CD8+ Т-лимфоцитов в патогенезе саркоидоза крайне ограничены и требуют систематизации.

Результаты нашего исследования, указывающие на снижение Tc17.1 в периферической крови у пациентов с хроническим течением саркоидозом, могут свидетельствовать о миграции Tc17.1 в легочную ткань, где помимо секреции IL-17A, IL-17F и IFN $\gamma$ , эта субпопуляция CD8+ Т-лимфоцитов вероятно способна к лизису клеток легочной ткани, что может способствовать длительному поддержанию воспаления и формированию фиброза. Согласно данным литературы, активация различных субпопуляций CD8+ Т лимфоцитов в ЖБАЛ может носить динамический характер. Так, количество IFN $\gamma$ +CD8+ Т-клеток до стимуляции фторболовым эфиром и иономицином было снижено по сравнению с группой здоровых [8]. Экспрессия перфорина в CD8+ Т-клетках у пациентов с саркоидозом в ЖБАЛ была также существенно снижена. После стимуляции экспрессия молекул адгезии (CD62L, CD71) была значительно выше на поверхности CD8+ Т-клеток у пациентов с саркоидозом по сравнению со здоровыми донорами [8]. Экспрессия хемокиновых рецепторов CXCR3 на поверхности CD8+ Т-клеток у больных саркоидозом была достоверно выше в ЖБАЛ по сравнению с периферической кровью. Следует отметить, что при саркоидозе отмечалось увеличение лигандов для CXCR3 как на системном, так и на местном уровнях, что также может оказывать существенное влияние на миграцию CXCR3+ CD8+ Т-клеток в очаги воспаления. Так, у пациентов с саркоидозом легких отмечалось увеличение CXCL9 и CXCL10, тогда как в сыворотке крови концентрация CXCL11 достоверно от контрольных значений не отличалась [1,2]. В составе гранул отмечалось накопление CXCL10, что, как считается, отражает важную роль данного хемокина в формировании гранул [4]. Также было показано, что CXCL9 более коррелировал с системным поражением органов, тогда как CXCL10 был более важным прогностическим фактором для исходов саркоидоза легких [9]. В свою очередь, Piotrowski и соавторы показали, что все три лиганда CXCR3 повышались в ЖБАЛ больных саркоидозом [41]. Таким

353 образом, можно предположить, что Tc1 мигрируют в пораженные  
354 саркоидными гранулемами ткани и способствуют их поддержанию в органах-  
355 мишенях.

356 Учитывая противовоспалительный профиль клеток Tc2 [29], увеличение  
357 в периферической крови процентного количества CM, EM и TEMRA Tc2  
358 клеток может носить компенсаторный характер, способствующий как  
359 предотвращению прогрессирования воспаления, так и развитию фиброза в  
360 легких. CD8+ T-клетки 2-го типа секретируют спектр цитокинов характерных  
361 для Th2, таких как IL-4, IL-5, IL-13 и IL-10 [29,56]. Эти цитокины [50] могут  
362 способствовать поляризации макрофагов в сторону M2, которые, в свою  
363 очередь, способствуют развитию легочного фиброза [49]. Действительно, в  
364 настоящее время можно обнаружить несколько исследований, которые  
365 указывают на важную роль при саркоидозе с легочным фиброзом именно M2  
366 макрофагов. Так, Shamaei et al. при помощи методов гистохимического  
367 анализа выявили повышенное содержание M2 клеток в гранулемах,  
368 локализованных в тканях легкого, у пациентов с саркоидозом [48].  
369 Моделирование гранулем в условиях *in vitro* также показало, что M2  
370 макрофаги под действием Th2-цитокинов способны формировать  
371 многоядерные гигантские клетки [33]. Также было показано, что при  
372 саркоидозе уровни Th2-цитокинов у пациентов саркоидозом достоверно  
373 повышались в циркуляции [1], причем при отсутствие фиброза они были ниже  
374 по сравнению с пациентами с фиброзом легких [21,40]. Таким образом, роль  
375 Tc2 при саркоидозе неоднозначна и требует дальнейшего изучения.

376 Стоит отметить, что при такой патологии как туберкулез легких,  
377 зачастую требующий проведения дифференциальной диагностики с  
378 саркоидозом, Tc1 (CCR6–CXCR3+) CD8+ T-клетки также снижены в  
379 периферической крови, тогда как уровень Tc2 (CCR6–CXCR3–) лимфоцитов  
380 достоверно повышен по сравнению со здоровыми [27]. Схожую картину  
381 показали Alduenda и соавторы, которые обнаружили снижение CXCR3+CD8+  
382 T-клеток в циркуляции у пациентов без терапии, тогда как проведение терапии  
383 сопровождалось восстановлением пула этих клеток в периферической крови  
384 [5]. Следует отметить, что в периферической крови пациентов с активной  
385 туберкулезной инфекцией определяются высокие уровни лигандов для  
386 CXCR3 – MIG, IP-10 и I-TAC [42]. Более того, CD8+ T-клетки обнаруживаются  
387 в стенках альвеол и легочных полостей на иммуногистохимическом  
388 исследовании биоптатов при туберкулезе легких [57], что может указывать на  
389 эффективную миграцию CXCR3+ T-клеток в очаг воспаления.

390 Таким образом, полученные нами данные о характере активации и  
391 дифференцировки различных субпопуляций CD8+ T-лимфоцитов (Tc1, Tc2,  
392 Tc17 и Tc17.1) наряду с известными данными о типах поляризации T-хелперов  
393 свидетельствуют о важной роли всех типов T-лимфоцитов в патогенезе  
394 саркоидоза. Результаты динамических наблюдений совместной активации и  
395 функционирования основных популяций не только T-хелперов, но также и  
396 CD8+ T-лимфоцитов в периферической крови больных хроническим

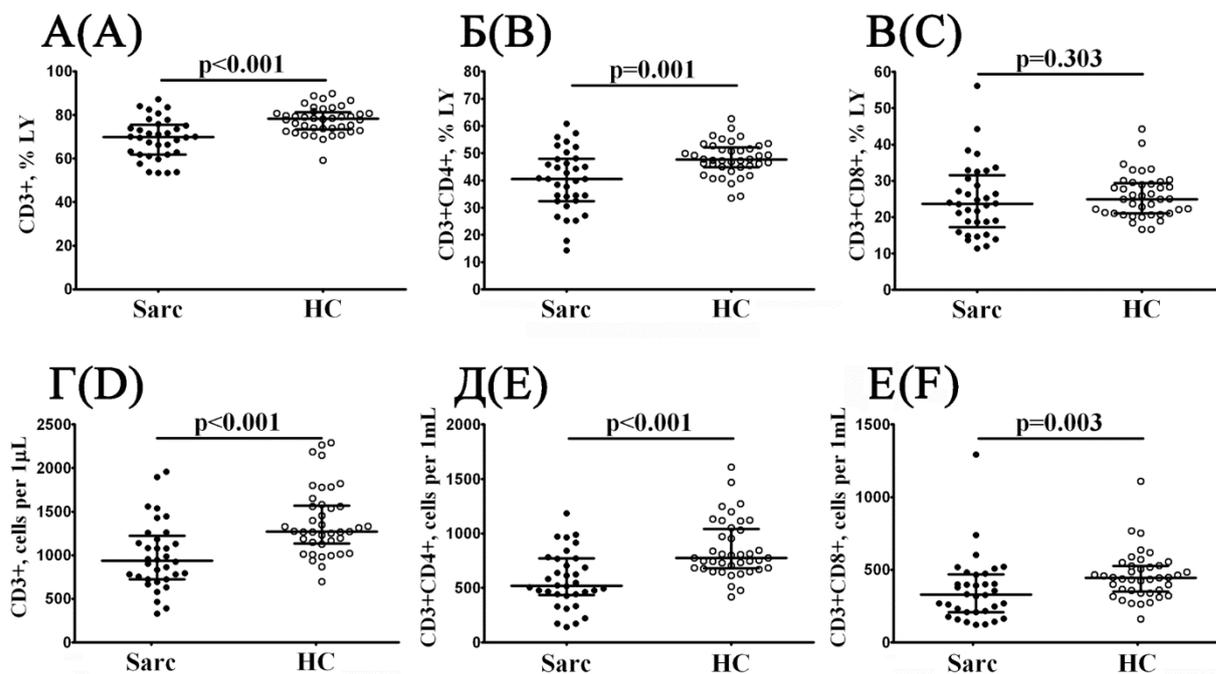
397 саркоидозом вносят существенный вклад в понимание клеточных механизмов  
398 патогенеза заболевания и возможную оценку его прогноза (затяжное  
399 хроническое течение с постепенным формированием фиброза). Для  
400 дальнейшей систематизации полученных данных требуются более  
401 расширенные клинико-иммунологические сопоставления.

402 Данная работа выполнена при финансовой поддержке плановой теме  
403 НИР ФГБНУ «ИЭМ» FGWG-2025-0004 (рег. № 1022041101001-1).

РИСУНКИ

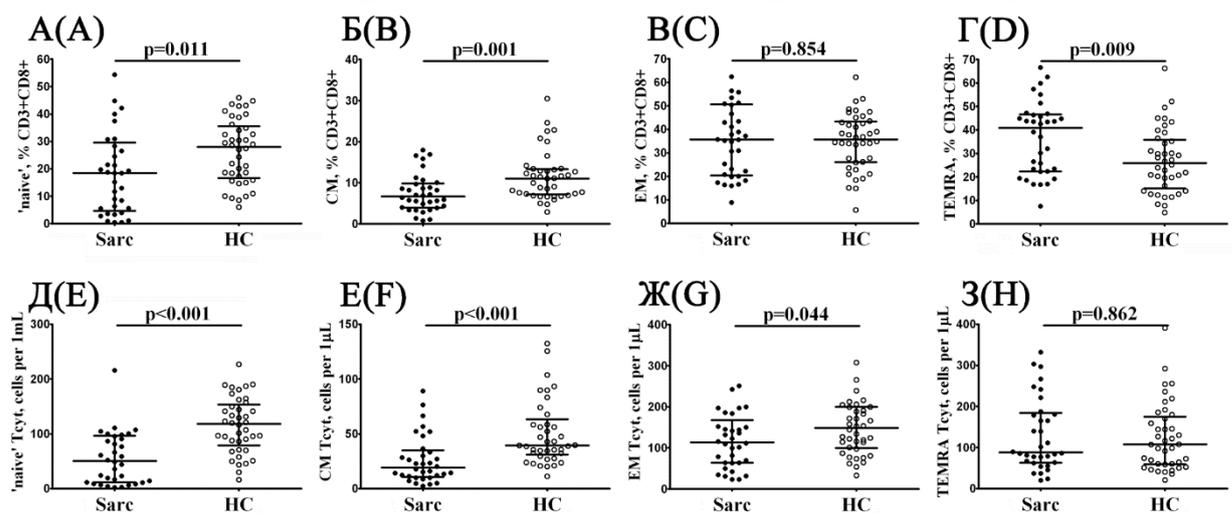
**Рисунок 1.** Сравнение относительного и абсолютного содержания основных субпопуляций Т-клеток у пациентов с хроническим саркоидозом (n=34) и у условно-здоровых доноров (n=40). Диаграммы А-В и Г-Ж – процентное содержание (процент субпопуляции Т-клеток в общей популяции лимфоцитов) и абсолютное количество (количество клеток на 1 мкл периферической крови) Т-клеток (CD3+), Т-хелперов (Th, CD3+CD4+) и CD8+ Т-клеток (Тcyт, CD3+CD8+), соответственно. Черные кружки обозначают пациентов с хроническим саркоидозом (Sarc, n = 34); белые кружки — условно-здоровых доноров (HC, n=40). Каждая точка представляет отдельного обследованного, а горизонтальные полосы обозначают групповые медианы и диапазоны квартилей (Med (Q25; Q75)). Статистический анализ был выполнен с помощью U-критерия Манна-Уитни.

**Figure 1.** Alterations in relative and absolute frequencies of main CD3+ T cell subsets in patients with sarcoidosis. Scatter plots A–C and scatter plots D–F showing the percentages and absolute (number of cells per 1 μL of peripheral whole blood) numbers of CD3+, CD3+CD4+, and CD3+CD8+, respectively. Black circles denote patients with sarcoidosis (Sarc, n=34); white circles – healthy control (HC, n=40). Each dot represents individual subjects, and horizontal lines represent the median of the distribution, whiskers represent the 25% and 75% quartiles (Med (Q25; Q75)). The differences between the groups were estimated using Mann-Whitney U-test.



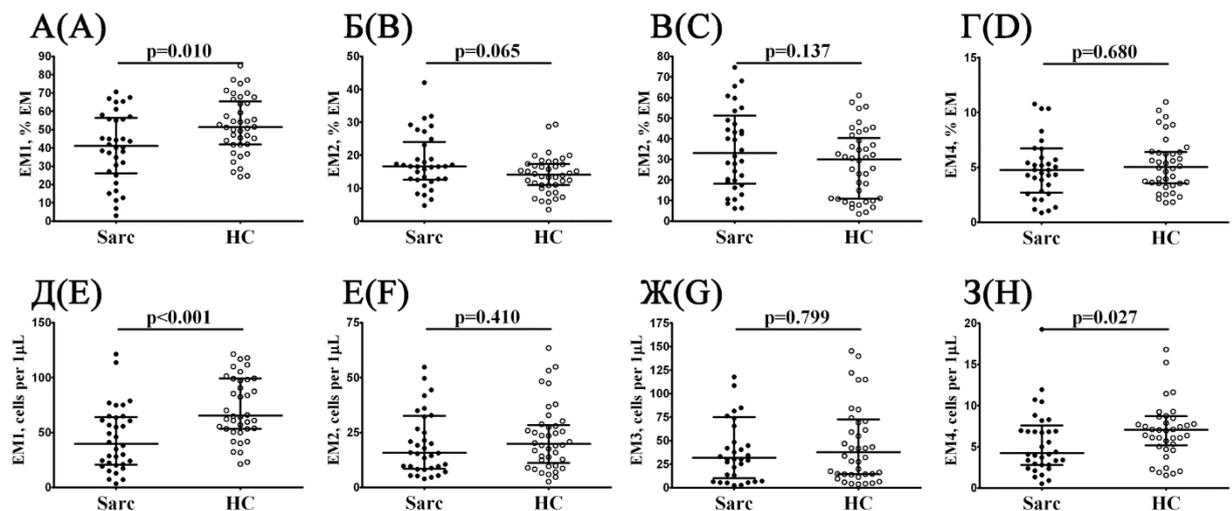
**Рисунок 2.** Изменение относительного и абсолютного содержания основных субпопуляций CD8+ Т-клеток с различными уровнями экспрессии CD45RA и CD62L у пациентов с хроническим саркоидозом (n=34) и у условно-здоровых доноров (n=40). Диаграммы А-Г и Д-З – процентное и абсолютное содержание «наивных» (CD45RA+CD62L+), центральной памяти (СМ, CD45RA-CD62L+), эффекторной памяти (ЕМ, CD45RA-CD62L-), и терминально дифференцированных CD45RA-позитивных эффекторных (TEMRA, CD45RA+CD62L-) CD8+ Т-клеток соответственно. Черные кружки обозначают пациентов с хроническим саркоидозом (Sarc, n=34); белые кружки — условно-здоровых доноров (HC, n=40). Каждая точка представляет отдельного обследованного, а горизонтальные полосы обозначают групповые медианы и диапазоны квартилей (Med (Q25; Q75)). Статистический анализ был выполнен с помощью U-критерия Манна-Уитни.

**Figure 2.** Alterations in relative and absolute frequencies of circulating CD8+ T cell maturation subsets in patients with sarcoidosis. Scatter plots A–D and scatter plots E–H showing the percentages and absolute (number of cells per 1  $\mu$ L of peripheral whole blood) numbers of ‘naïve’, central memory, effector memory and effector memory CD8+ T cells re-expressing CD45RA cells (TEMRA) CD8+ T cells, respectively. Black circles denote patients with sarcoidosis (Sarc, n=34); white circles – healthy control (HC, n=40). ‘Naïve’ CD8+ T cells were CD45RA+CCR7+, central memory CD8+ T cells (CM Tcyt) were CD45RA–CCR7+, effector memory CD8+ T cells (EM Tcyt) were CD45RA–CCR7–, and effector memory CD8+ T cells re-expressing CD45RA cells (TEMRA Tcyt) were CD45RA+CCR7–. Each dot represents individual subjects, and horizontal lines represent the median of the distribution, whiskers represent the 25% and 75% quartiles (Med (Q25; Q75)). The differences between the groups were estimated using Mann-Whitney U-test.



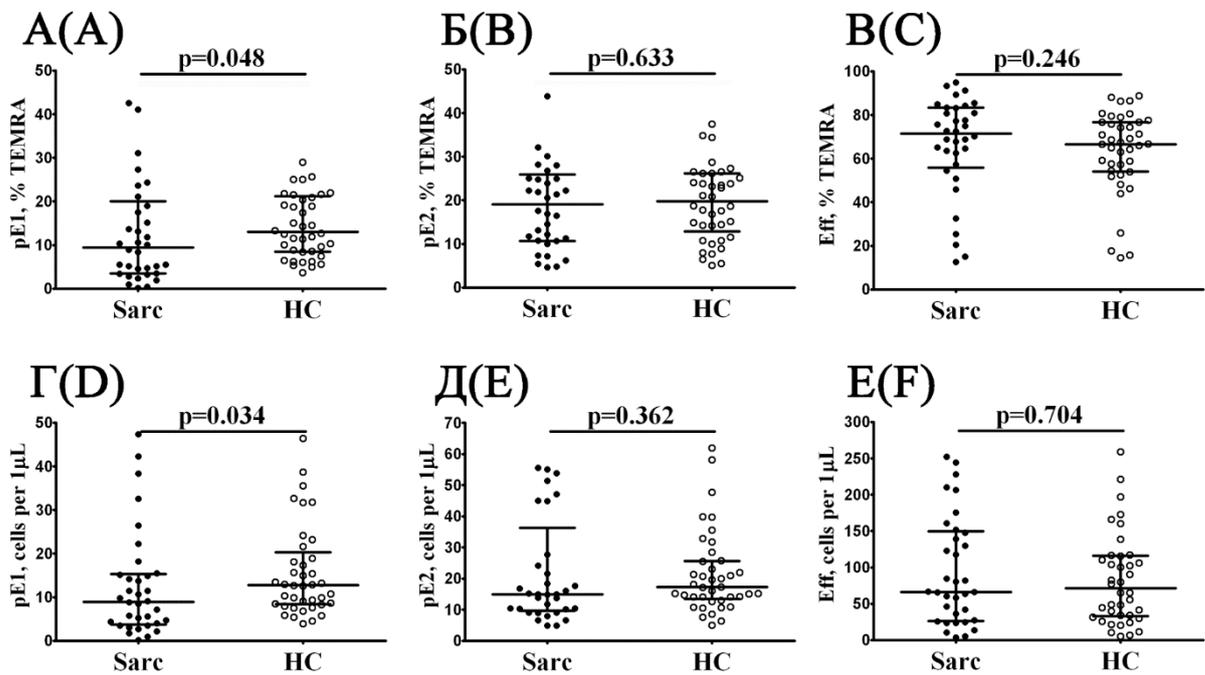
**Рисунок 3.** Изменения в относительном и абсолютном количестве субпопуляций EM CD8+ Т-клеток с различными паттернами экспрессии CD27 и CD28 у пациентов с хроническим саркоидозом (n=34) и у условно-здоровых доноров (n=40). Диаграммы А-Г и Д-З – процентное и абсолютное содержание EM субпопуляций CD8+ Т-клеток EM1 (CD27+CD28+), EM2 (CD27+CD28–), EM3 (CD27–CD28–) и EM4 (CD27–CD28+) соответственно. Черные кружки обозначают пациентов с хроническим саркоидозом (Sarc, n=34); белые кружки — условно-здоровых доноров (НС, n=40). Каждая точка представляет отдельного обследованного, а горизонтальные полосы обозначают групповые медианы и диапазоны квартилей (Med (Q25; Q75)). Статистический анализ был выполнен с помощью U-критерия Манна-Уитни.

**Figure 3.** Alterations in relative and absolute frequencies of four EM CD8+ T cell subsets, distinguished by CD27 and CD28 expression, were observed in patients with sarcoidosis. Scatter plots A–D and scatter plots E–H showing the relative and absolute (number of cells per 1  $\mu$ L of peripheral whole blood) frequencies, respectively, of EM1 (CD27+CD28+), EM2 (CD27+CD28–), EM3 (CD27–CD28–), and EM4 (CD27–CD28+), respectively. Black circles denote patients with sarcoidosis (Sarc, n=34); white circles – healthy control (HC, n=40). Each dot represents individual subjects, and horizontal lines represent the median of the distribution, whiskers represent the 25% and 75% quartiles (Med (Q25; Q75)). The differences between the groups were estimated using Mann-Whitney U-test.



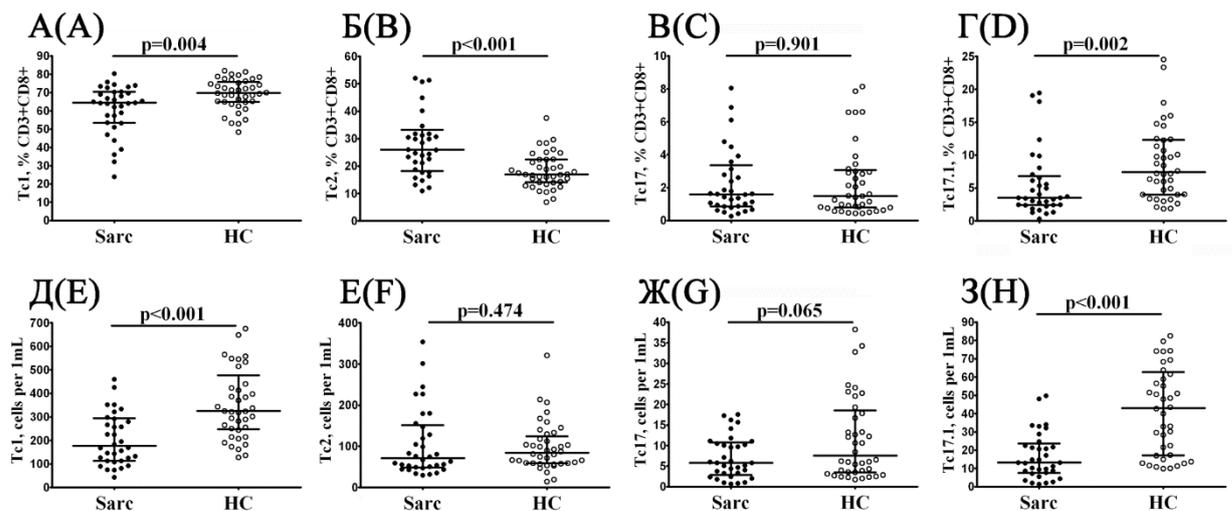
**Рисунок 4.** Изменения в относительном количестве субпопуляций TEMRA CD8+ Т-клеток с различными паттернами экспрессии CD27 и CD28 у пациентов с хроническим саркоидозом (n=34) и у условно-здоровых доноров (n=40). Диаграммы А-С и Г-Е – процентное и абсолютное количество TEMRA субпопуляций CD8+ Т-клеток CD27+CD28+ пре-эффекторов 1 типа (pE1), CD27+CD28– пре-эффекторов 2 типа (pE2) и CD27–CD28– зрелых эффекторов (Eff), соответственно. Черные кружки обозначают пациентов с хроническим саркоидозом (Sarc, n=34); белые кружки – условно-здоровых доноров (HC, n=40). Каждая точка представляет отдельного обследованного, а горизонтальные полосы обозначают групповые медианы и диапазоны квартилей (Med (Q25; Q75)). Статистический анализ был выполнен с помощью U-критерия Манна-Уитни.

**Figure 4.** Alterations in relative and absolute frequencies of TEMRA CD8+ T cell subsets with different patterns of CD27 and CD28 expression in patients with sarcoidosis. Scatter plots (A–C) and (D–F) show the relative and absolute (number of cells per 1  $\mu$ L of peripheral whole blood) numbers, respectively, of TEMRA CD8+ T cells were subdivided into CD27+CD28+ pE1, CD27+CD28– pE2, and CD27–CD28– E subsets, respectively. Black circles denote patients with sarcoidosis (Sarc, n=34); white circles – healthy control (HC, n=40). Each dot represents individual subjects, and horizontal lines represent the median of the distribution, whiskers represent the 25% and 75% quartiles (Med (Q25; Q75)). The differences between the groups were estimated using Mann-Whitney U-test.



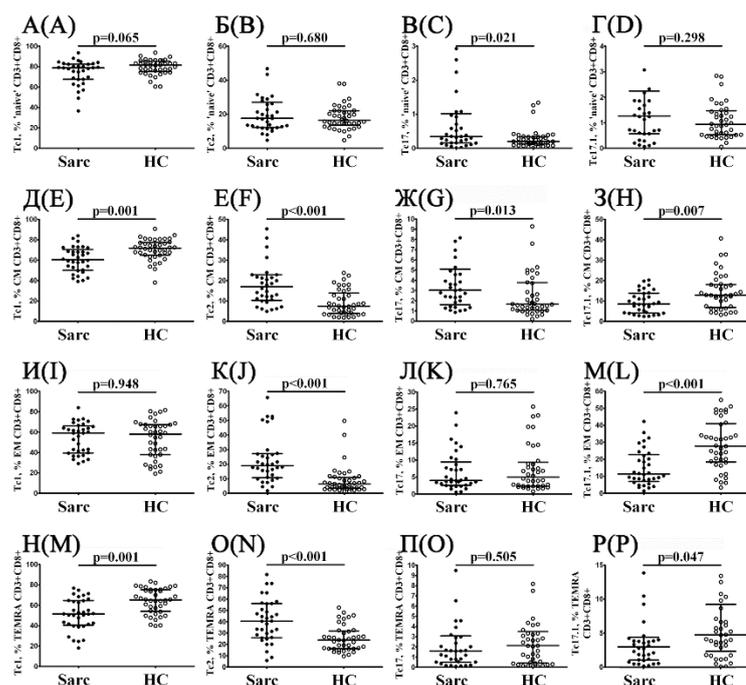
**Рисунок 5.** Изменения в относительном и абсолютном содержании Tc1, Tc2, Tc17 и Tc17.1 периферической крови в основных субпопуляциях CD8+ Т-клеток у пациентов с хроническим саркоидозом (n=34) и у условно-здоровых доноров (n=40). Диаграммы А-Г и Д-З – относительное содержание Tc1 (CCR6–CXCR3+), Tc2 (CCR6–CXCR3–), Tc17 (CCR6+CXCR3–) и «дважды-положительных» клеток Tc17.1 (CCR6+CXCR3+), соответственно. Черные кружки обозначают пациентов с хроническим саркоидозом (Sarc, n=34); белые кружки – условно-здоровых доноров (НС, n=40). Каждая точка представляет отдельного обследованного, а горизонтальные полосы обозначают групповые медианы и диапазоны квартилей (Med (Q25; Q75)). Статистический анализ был выполнен с помощью U-критерия Манна-Уитни.

**Figure 5.** Alterations in relative and absolute frequencies of blood Tc1, Tc2, Tc17 and double-positive Tc17.1 cells in patients with sarcoidosis. Scatter plots A–D and E–H the relative (% within total CD8+ T cell subset) and absolute (number of cells per 1  $\mu$ L of peripheral whole blood) frequencies, respectively, of Tc1 (CCR6–CXCR3+), Tc2 (CCR6–CXCR3–), Tc17 (CCR6+CXCR3–), and double-positive Tc17.1 (CCR6+CXCR3+) frequencies, respectively. Black circles denote patients with sarcoidosis (Sarc, n=34); white circles – healthy control (HC, n=40). Each data point represents individual subjects, and horizontal bars depict the group medians and quartile ranges (Med (Q25; Q75)). The statistical analysis was performed using the Mann-Whitney U test.



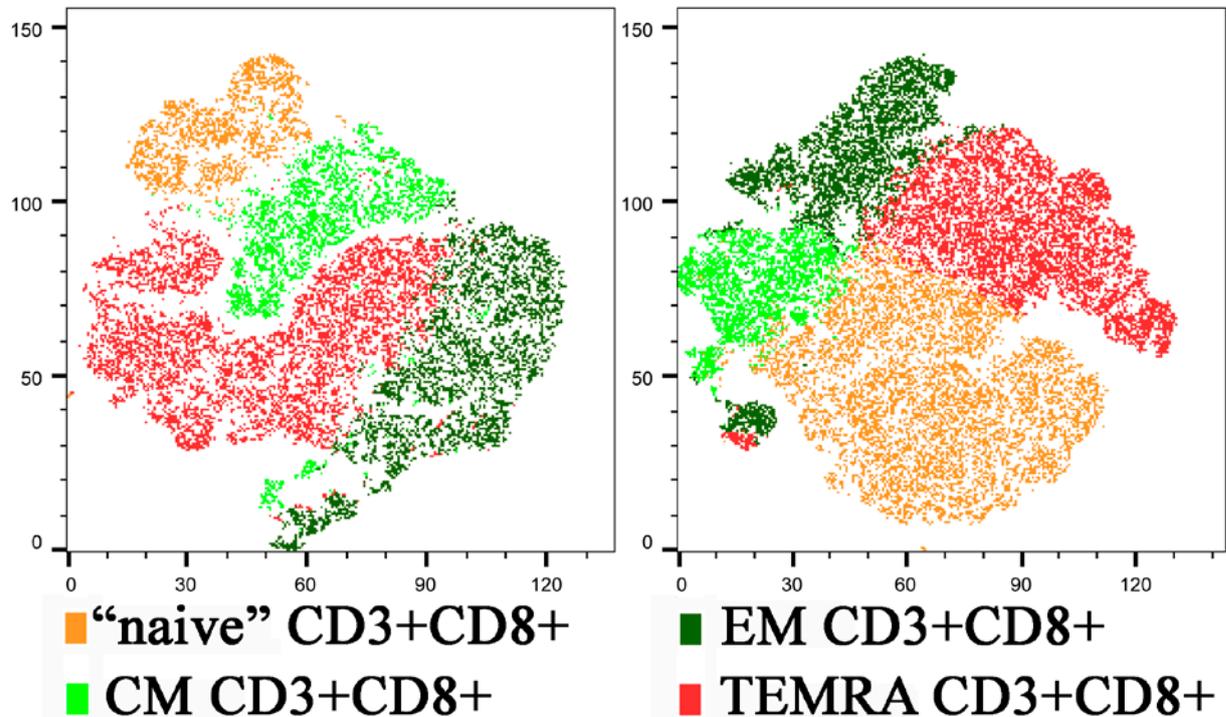
**Рисунок 6.** Изменения Tc1, Tc2, Tc17 и Tc17.1 клеток периферической крови у пациентов с хроническим саркоидозом (n=34) внутри различных субпопуляций CD3+CD8+ клеток. Диаграммы А-Г, Д-З, И-М и Н-Р – относительное содержание Tc1 (CCR6–CXCR3+), Tc2 (CCR6–CXCR3–), Tc17 (CCR6+CXCR3–) и дважды положительных клеток Tc17.1 (CCR6+CXCR3+) в «наивных» (CD45RA+CD62L+), центральной памяти (СМ, CD45RA–CD62L+), эффекторной памяти (ЕМ, CD45RA–CD62L–) и терминальных дифференцированных CD45RA-позитивных эффекторных (TEMRA, CD45RA+CD62L–) CD8+ Т-клетках соответственно. Черные кружки обозначают пациентов с хроническим саркоидозом (Sarc, n=34); белые кружки — условно-здоровых доноров (НС, n=40). Каждая точка представляет отдельного обследованного, а горизонтальные полосы обозначают групповые медианы и диапазоны квартилей (Med (Q25; Q75)). Статистический анализ был выполнен с помощью U-критерия Манна-Уитни.

**Figure 6.** Alterations in relative frequencies of peripheral blood Tc1, Tc2, Tc17, and Tc17.1 cells in major CD8+ T cell subsets with varying patterns of CD45RA and CD62L expression in patients with sarcoidosis. Scatter plots (A–D), (E–H), (I–L), and (M–P) show the relative numbers of Tc1 (CCR6–CXCR3+), Tc2 (CCR6–CXCR3–), Tc17 (CCR6+CXCR3–), and double-positive Tc17.1 (CCR6+CXCR3+) cells within ‘naïve’ (CD45RA+CD62L+), central memory (CM, CD45RA–CD62L+), effector memory (EM, CD45RA–CD62L–), and terminally differentiated CD45RA-positive effector memory (TEMRA, CD45RA+CD62L–) CD8+ T cells, respectively. Black circles denote patients with sarcoidosis (Sarc, n=34); white circles – healthy control (HC, n=40). Each data point represents individual subjects, and horizontal bars depict the group medians and quartile ranges (med (Q25; Q75)). The statistical analysis was performed using the Mann-Whitney U test.



**Рисунок 7.** Нарушения в созревании CD8<sup>+</sup> Т-клеток периферической крови при хроническом саркоидозе.

**Figure 7.** Alteration in peripheral blood maturation CD8<sup>+</sup> T cell subsets in patients with pulmonary sarcoidosis.

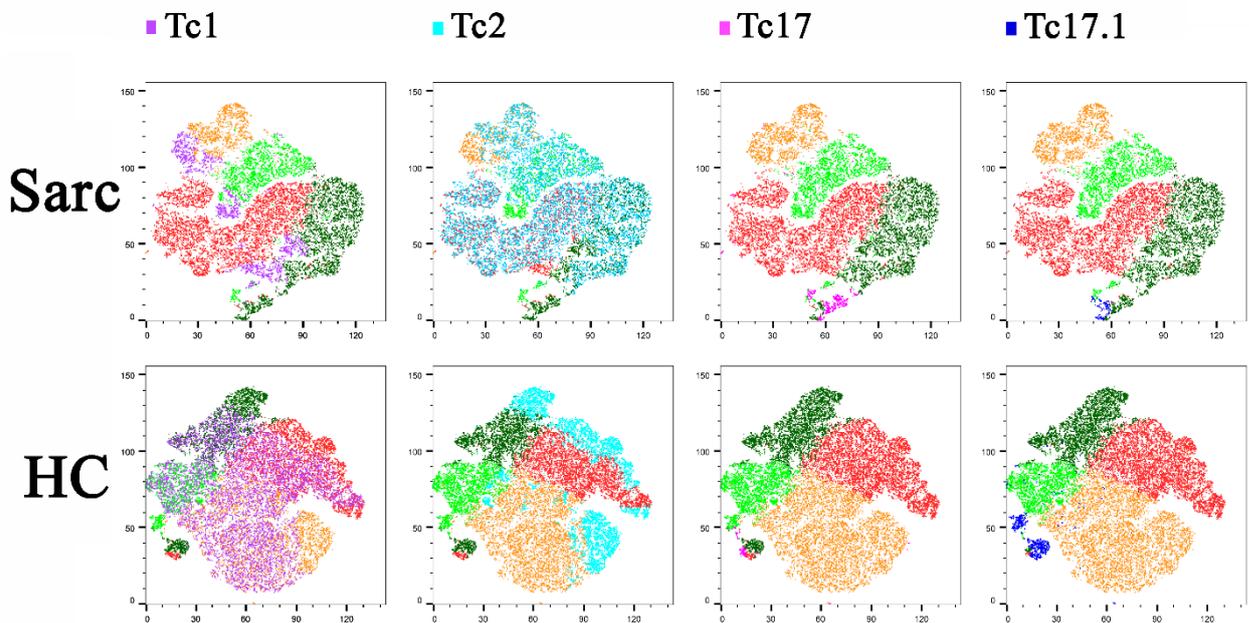


На рисунке 1 представлены t-SNE графики с распределением основных маркеров зрелости Т-клеток (CD62L и CD45RA) внутри группы контроля и пациентов с хроническим саркоидозом. В группе хронического саркоидоза отмечается увеличение субпопуляции TEMRA CD8<sup>+</sup> Т-клеток на фоне снижения доли «наивных» клеток и клеток центральной памяти. Более того, отмечено, что может иметь место переход CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов центральной памяти в терминально-дифференцированные CD45RA-позитивные эффекторные Т-клетки, так как эти популяции локализованы в одном кластере. В свою очередь, в группе здоровых доноров наблюдается преобладание «наивных» CD3+CD8<sup>+</sup> Т-клеток.

Figure 1 shows t-SNE plots with the distribution of the main maturation markers of CD8<sup>+</sup> T cells – CD62L and CD45RA, within the control group and chronic sarcoidosis. In patients with chronic sarcoidosis an increase in TEMRA CD3+CD8<sup>+</sup> subset was noticed vs. healthy controls, while the proportions of “naive” cells and central memory cells were decreased. Moreover, it is noted that there may be a transition of CD8<sup>+</sup> central memory T lymphocytes into terminally differentiated CD45RA-positive effector T cells, since these CD8<sup>+</sup> T cell subsets were co-localized in one cluster. In turn, in the group of healthy controls, a predominance of “naive” CD3+CD8<sup>+</sup> T cells is observed.

**Рисунок 8.** Нарушения в «поляризации» CD8+ Т-клеток периферической крови при хроническом саркоидозе.

**Figure 8.** Alteration in peripheral blood ‘polarized’ CD8+ T cell subsets in patients with pulmonary sarcoidosis.



На рисунке 2 представлены t-SNE графики показывающие изменения в уровнях «поляризованных» субпопуляций CD8+ Т-клеток у пациентов с хроническим саркоидозом и здоровых доноров. В пределах общего пула CD8+ Т-клетки были выявлены 4 функциональных подгруппы, включая CCR6+CXCR3– Тc17 клетки, CCR6+CXCR3+ Тc17.1 клетки, CCR6–CXCR3+ Тc1 и CCR6–CXCR3– Тc2 клетки. В группе хронического саркоидоза отмечается повышение Тc2 клеток в рамках субпопуляций CD8+ Т-клеток, находящихся на разных стадиях созревания, тогда как Тc1 и Тc17.1 распределены преимущественно в компартментах памяти (центральной и эффекторной) и имеют тенденцию к снижению.

Figure 2 shows t-SNE plots showing changes in the levels of polarized CD8+ T cell subsets in patients with chronic sarcoidosis and healthy controls. Within the overall compartment, CD8+ T cells were divided into four functional subsets, including CCR6+CXCR3– Тc17 cells, CCR6+CXCR3+ Тc17.1 cells, CCR6–CXCR3+ Тc1, and CXCR5–CCR6–CXCR3–Тc2 cells. In the group of chronic sarcoidosis, there was an increase in Тc2 cells within CD8+ T cell subsets at different maturation stages, while Тc1 and Тc17.1 were distributed predominantly in the memory (central and effector) compartments and tended to be decreased.

## ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ\_МЕТАДААННЫЕ

### **Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку**

**Кудрявцев Игорь Владимирович** (кандидат биологических наук, заведующий лабораторией);

лаборатория клеточной иммунологии, «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия; кафедра иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия;

адрес: 197376, Санкт-Петербург, ул. академика Павлова, 12. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»;

телефон, факс: 88122342929;

e-mail: igorek1981@yandex.ru

**Kudryavtsev Igor Vladimirovich** (PhD (Biology), head of laboratory);

PhD (Biology), laboratory of cellular immunology, Institute of Experimental Medicine, St.Petersburg, Russian Federation; assistant professor of department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St.Petersburg, Russian Federation;

address: 197376, St. Petersburg, acad. Pavlov str., 12, Scientific Research Institute of Experimental Medicine;

telephone, fax: 88122342929;

e-mail: igorek1981@yandex.ru

### **Блок 2. Информация об авторах**

**Рубинштейн Артем Аркадьевич**, младший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

**Rubinstein Artem Arkad'evich**, Junior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology, Institute of Experimental Medicine, St.Petersburg, Russian Federation;

**Лазарева Наталья Михайловна**, к.м.н., заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований клиники, врач клинической лабораторной диагностики ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия;

**Natalia Mihailovna Lazareva**, PhD (Medicine), Head of the Clinical Diagnostic Laboratory of Molecular Genetic Research at the Clinic of the Research Center of Cellular and Molecular Pathology, Federal State Budgetary Institution "Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medical and Biological Agency", St.Petersburg, Russian Federation;

**Акишева Татьяна Викторовна**, младший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

**Akischeva Tatyana Viktorovna**, Junior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology, Institute of Experimental Medicine, St.Petersburg, Russian Federation;

**Баранова Ольга Петровна**, к.м.н., старший научный сотрудник научно-исследовательского института интерстициальных и орфанных заболеваний легких, доцент кафедры пульмонологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия;

**Baranova Olga Petrovna**, PhD (Medicine), senior research associate, Research Institute of Interstitial and Orphan Diseases, assistant professor, department of Pulmonology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St.Petersburg, Russian Federation;

**Сесь Татьяна Павловна**, д.б.н., проф., профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия;

**Ses' Tatyana Pavlovna**, PhD (Biology), Professor, professor of department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St.Petersburg, Russian Federation;

**Илькович Михаил Михайлович**, д.м.н., проф., директор научно-исследовательского института интерстициальных и орфанных заболеваний легких, заведующий кафедрой пульмонологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия;

**Ipkovich Mikhail Mikhailovich**, PhD, MD (Medicine), Professor, Director, Research Institute of Interstitial and Orphan Diseases, Head of the Department of Medical Immunology (Russia)

Pulmonology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation.

**Тотолян Арег Артемович**, академик РАН, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия; директор ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

**Totolian Areg Artemovich**, PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Director, Saint Petersburg Pasteur Institute; Head, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation.

### **Блок 3. Метаданные статьи**

ИЗМЕНЕНИЯ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА CD8+ Т-ЛИМФОЦИТОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ САРКОИДОЗОМ ЛЕГКИХ

ALTERATIONS IN PERIPHERAL BLOOD CD8+ T CELL SUBSETS IN PATIENTS WITH LUNG SARCOIDOSIS

**Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:**

CD8+ T-КЛЕТКИ ПРИ САРКОИДОЗЕ

CD8+ T CELLS IN SARCOIDOSIS

**Ключевые слова:** саркоидоз, CD8+ Т-лимфоциты, дифференцировка Т-лимфоцитов, Tc1, Tc17, Tc17.1, проточная цитометрия.

**Keywords:** sarcoidosis, CD8+ T cells, T cell maturation, Tc1 cell subsets, Tc17, Th17.1, flow cytometry.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 10,

Количество таблиц – 0.

Количество рисунков – 8.

23.04.2025

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Лазарева Н.М., Баранова О.П., Кудрявцев И.В., Арсентьева Н.А., Любимова Н.Е., Сесь Т.П., Илькович М.М., Тотолян А.А. Особенности цитокинового профиля при саркоидозе. Медицинская иммунология, 2020, Т. 22, № 5, С. 993-1002.	<b>Lazareva N.M., Baranova O.P., Kudryavtsev I.V., Arsentieva N.A., Liubimova N.E., Ses' T.P., Ilkovich M.M., Totolian A.A. Features of cytokine profile in patients with sarcoidosis. <i>Medical Immunology (Russia), 2020, Vol. 22, no. 5, pp. 993-1002 (In Russ.)</i></b>	<a href="https://doi.org/10.15789/1563-0625-FOC-2064">https://doi.org/10.15789/1563-0625-FOC-2064</a>
2	Лазарева Н.М., Баранова О.П., Кудрявцев И.В., Арсентьева Н.А., Любимова Н.Е., Сесь Т.П., Илькович М.М., Тотолян А.А. Лиганды хемокинового рецептора CXCR3 при саркоидозе. Медицинская иммунология, 2021, Т. 23, № 1, С. 73-86.	<b>Lazareva N.M., Baranova O.P., Kudryavtsev I.V., Arsentieva N.A., Liubimova N.E., Ses' T.P., Ilkovich M.M., Totolian A.A. CXCR3 chemokine receptor ligands in sarcoidosis. <i>Medical Immunology (Russia), 2021, Vol. 23, no. 1, pp. 73-86 (In Russ.)</i></b>	<a href="https://doi.org/10.15789/1563-0625-CCR-2181">https://doi.org/10.15789/1563-0625-CCR-2181</a>
3	Чучалин А.Г., Авдеев С.Н., Айсанов З.Р., Баранова О.П., Борисов С.Е., Геппе Н.А., Визель А.А., Визель И.Ю., Зайцев А.А., Кравченко Н.Ю., Илькович М.М., Ловачева О.В., Малахов А.Б., Малявин А.Г., Петров Д.В., Романов В.В., Сивокозов И.В., Самсонова М.В.,	<b>Chuchalin A.G., Avdeev S.N., Aisanov Z.R., Baranova O.P., Borisov S.E., Geppe N.A., Vizel' A.A., Vizel' I.Yu., Zaicev A.A., Kravchenko N.Y., Ilkovich M.M., Lovacheva O.V., Malakhov A.B., Malyavin A.G., Petrov D.V., Romanov V.V., Sivokozov I.V., Samsonova M.V., Solovieva I.P., Stepanyan</b>	<a href="https://doi.org/10.18093/0869-0189-2022-32-6-806-833">https://doi.org/10.18093/0869-0189-2022-32-6-806-833</a>

	Соловьева И.П., Степанян И.Э., Терпигорев С.А., Тюрин И.Е., Французевич Л.Я., Черняев А.Л., Шмелев Е.И., Шмелева Н.М. Саркоидоз: федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению. Пульмонология, 2022, Т. 32, № 6, С. 806–833.	<b>I.E., Terpigorev S.A., Tyurin I.E., Frantsuzevich L.Ya., Chernyaev A.L., Shmelev E.I., Shmeleva N.M. Sarcoidosis: federal clinical guidelines for diagnosis and treatment. <i>Pulmonologiya</i>, 2022, Vol. 32, no. 6, pp. 806-833 (In Russ.)</b>	
4	<b>Agostini C., Cassatella M., Zambello R., Trentin L., Gasperini S., Perin A., Piazza F., Siviero M., Facco M., Dziejman M., Chilosi M., Qin S., Luster A.D., Semenzato G. Involvement of the IP-10 chemokine in sarcoid granulomatous reactions. <i>J Immunol.</i>, 1998, Vol. 161, no. 11, pp. 6413-6420.</b>		<a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9834133/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9834133/</a>
5	<b>Alduenda J.L., Choreño-Parra J.A., Medina-Quero K., Zúñiga J., Chávez-Galán L. Leukocytes from patients with drug-sensitive and multidrug-resistant tuberculosis exhibit distinctive profiles of chemokine receptor expression and migration capacity. <i>J Immunol Res.</i>, 2021, Vol. 2021, pp. 6654220.</b>		doi: 10.1155/2021/6654220

6	<b>Amber K.T., Bloom R., Mrowietz U., Hertl M. TNF-<math>\alpha</math>: a treatment target or cause of sarcoidosis? <i>J Eur Acad Dermatol Venereol.</i>, 2015, Vol. 29, pp. 2104-2111.</b>		doi: 10.1111/jdv.13246
7	<b>Annunziato F., Romagnani C., Romagnani S. The 3 major types of innate and adaptive cell-mediated effector immunity. <i>J Allergy Clin Immunol.</i>, 2015, Vol. 135, pp. 626-635.</b>		doi: 10.1016/j.jaci.2014.11.001
8	<b>Antoniou K.M., Tsiligianni I., Kyriakou D., Tzanakis N., Tzouveleakis A., Sifakas N.M., Bouros D. Perforin down-regulation and adhesion molecules activation in pulmonary sarcoidosis: an induced sputum and BAL study. <i>Chest</i>, 2006, Vol. 129, pp. 1592-1598.</b>		doi: 10.1378/chest.129.6.1592
9	<b>Arger N.K., Ho M.E., Allen I.E., Benn B.S., Woodruff P.G., Koth L.L. CXCL9 and CXCL10 are differentially associated with systemic organ involvement and pulmonary disease severity in sarcoidosis. <i>Respir Med.</i>, 2020, Vol. 161, pp. 105822.</b>		doi: 10.1016/j.rmed.2019.105822

10	<b>Baughman R.P., Valeyre D., Korsten P., Mathioudakis A.G., Wuyts W.A., Wells A., Rottoli P., Nunes H., Lower E.E., Judson M.A., Israel-Biet D., Grutters J.C., Drent M., Culver D.A., Bonella F., Antoniou K., Martone F., Quadder B., Spitzer G., Nagavci B., Tonia T., Rigau D., Ouellette D.R. ERS clinical practice guidelines on treatment of sarcoidosis. <i>Eur Respir J.</i>, 2021, Vol. 58, pp. 2004079.</b>		doi: 10.1183/13993003.04079-2020
11	<b>Calender A., Weichhart T., Valeyre D., Pacheco Y. Current Insights in Genetics of Sarcoidosis: Functional and Clinical Impacts. <i>J Clin Med.</i>, 2020, Vol. 9, pp. 2633.</b>		doi: 10.3390/jcm9082633
12	<b>Chan W.L., Pejnovic N., Lee C.A., Al-Ali N.A. Human IL-18 receptor and ST2L are stable and selective markers for the respective type 1 and type 2 circulating lymphocytes. <i>J Immunol.</i>, 2001, Vol. 167, no. 3, pp. 1238-1244.</b>		doi: 10.4049/jimmunol.167.3.1238
13	<b>Chen C., Luo N., Dai F., Zhou W., Wu X., Zhang J. Advance in pathogenesis of sarcoidosis: Triggers and progression. <i>Heliyon</i>, 2024, Vol. 10, no. 5, pp. e27612.</b>		doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e27612

14	<b>Crouser E.D., Maier L.A., Wilson K.C., Bonham C.A., Morgenthau A.S., Patterson K.C., Abston E., Bernstein R.C., Blankstein R., Chen E.S., Culver D.A., Drake W., Drent M., Gerke A.K., Ghobrial M., Govender P., Hamzeh N., James W.E., Judson M.A., Kellermeyer L., Knight S., Koth L.L., Poletti V., Raman S.V., Tukey M.H., Westney G.E., Baughman R.P. Diagnosis and Detection of Sarcoidosis. An Official American Thoracic Society Clinical Practice Guideline. <i>Am J Respir Crit Care Med.</i>, 2020, Vol. 201, no. 8, pp. e26-e51.</b>		doi: 10.1164/rccm.202002-0251ST
15	<b>d'Alessandro M., Bergantini L., Cameli P., Mezzasalma F., Refini R.M., Pieroni M., Sestini P., Bargagli E. Adaptive immune system in pulmonary sarcoidosis – Comparison of peripheral and alveolar biomarkers. <i>Clin Exp Immunol.</i>, 2021, Vol. 205, no. 3, pp. 406-416.</b>		doi: 10.1111/cei.13635
16	<b>Della Zoppa M., Bertuccio F.R., Campo I., Tousa F., Crescenzi M., Lettieri S., Mariani F., Corsico A.G., Piloni D., Stella G.M. Phenotypes and serum biomarkers</b>		doi: 10.3390/diagnostics14070709

	<b>in sarcoidosis. <i>Diagnostics (Basel)</i>. 2024, Vol. 14, no. 7, pp. 709.</b>		
17	<b>Esendagli D., Koksal D., Emri S. Recovery of pulmonary and skin lesions of sarcoidosis after thymectomy. <i>Acta Clin Belg.</i>, 2016, Vol. 71, no. 6, pp. 441-443.</b>		doi:10.1080/17843286.2016.1152671
18	<b>Facco M., Baesso I., Miorin M., Bortoli M., Cabrelle A., Boscaro E., Gurrieri C., Trentin L., Zambello R., Calabrese F., Cassatella M.A., Semenzato G., Agostini C. Expression and role of CCR6/CCL20 chemokine axis in pulmonary sarcoidosis. <i>J Leukoc Biol.</i>, 2007, Vol. 82, no. 4, pp. 946-955.</b>		doi: 10.1189/jlb.0307133
19	<b>Garman L., Pelikan R.C., Rasmussen A., Lareau C.A., Savoy K.A., Deshmukh U.S., Bagavant H., Levin A.M., Daouk S., Drake W.P., Montgomery C.G. Single cell transcriptomics implicate novel monocyte and T cell immune dysregulation in sarcoidosis. <i>Front Immunol.</i>, 2020, Vol. 11, pp. 567342.</b>		doi: 10.3389/fimmu.2020.567342
20	<b>Hato T., Yamaguchi M., Sugiyama A., Aoki K., Inoue Y., Fukuda H., Gika M., Higashi M., Nakayama M. Hatched "egg"</b>		doi: 10.1186/s12957-019-1696-3

	<b>of thymoma with sarcoidosis.</b> <i>World J Surg Oncol.</i> , 2019, Vol. 17, no. 1, pp. 151.		
21	<b>Hauber H.P., Gholami D., Meyer A., Pforte A. Increased interleukin-13 expression in patients with sarcoidosis.</b> <i>Thorax</i> , 2003, Vol. 58, no. 6, pp. 519-524.		doi: 10.1136/thorax.58.6.519
22	<b>Kamphuis L.S., van Zelm M.C., Lam K.H., Rimmelzwaan G.F., Baarsma G.S., Dik W.A., Thio H.B., van Daele P.L., van Velthoven M.E., Batstra M.R., van Hagen P.M., van Laar J.A. Perigranuloma localization and abnormal maturation of B cells: emerging key players in sarcoidosis?</b> <i>Am J Respir Crit Care Med.</i> , 2013, Vol. 187, no. 4, pp. 406-416.		doi: 10.1164/rccm.201206-1024OC
23	<b>Kishore A., Petrek M. Next-Generation Sequencing Based HLA Typing: Deciphering Immunogenetic Aspects of Sarcoidosis.</b> <i>Front Genet.</i> , 2018, Vol. 9, pp. 503.		doi: 10.3389/fgene.2018.00503
24	<b>Koh C.H., Lee S., Kwak M., Kim B.S., Chung Y. CD8 T-cell subsets: heterogeneity, functions, and therapeutic</b>		doi: 10.1038/s12276-023-01105-x

	<b>potential.</b> <i>Exp Mol Med.</i> , 2023, Vol. 55, no. 11, pp. 2287-2299.		
25	<b>Krausgruber T., Redl A., Barreca D., Doberer K., Romanovskaia D., Dobnikar L., Guarini M., Unterluggauer L., Kleissl L., Atzmüller D., Mayerhofer C., Kopf A., Saluzzo S., Lim C.X., Rexie P., Weichhart T., Bock C., Stary G. Single-cell and spatial transcriptomics reveal aberrant lymphoid developmental programs driving granuloma formation.</b> <i>Immunity</i> , 2023, Vol. 56, no. 2, pp. 289-306.e7.		doi: 10.1016/j.immuni.2023.01.014
26	<b>Kudryavtsev I., Benevolenskaya S., Serebriakova M., Grigor'yeva I., Kuvardin E., Rubinstein A., Golovkin A., Kalinina O., Zaikova E., Lapin S., Maslyanskiy A. Circulating CD8+ T Cell Subsets in Primary Sjögren's Syndrome.</b> <i>Biomedicines</i> , 2023, Vol. 11, no. 10, pp. 2778.		doi: 10.3390/biomedicines11102778
27	<b>Kudryavtsev I., Zinchenko Y., Serebriakova M., Akisheva T., Rubinstein A., Savchenko A., Borisov A., Belenjuk V., Malkova A., Yablonskiy P., Kudlay D., Starshinova A. A Key Role of</b>		doi: 10.3390/diagnostics13182961

	<b>CD8+ T Cells in Controlling of Tuberculosis Infection.</b> <i>Diagnostics (Basel)</i> , 2023, Vol. 13, no. 18, pp. 2961.		
28	<b>Kudryavtsev I.V., Arsentieva N.A., Korobova Z.R., Isakov D.V., Rubinstein A.A., Batsunov O.K., Khamitova I.V., Kuznetsova R.N., Savin T.V., Akisheva T.V., Stanevich O.V., Lebedeva A.A., Vorobyov E.A., Vorobyova S.V., Kulikov A.N., Sharapova M.A., Pevtsov D.E., Totolian A.A. Heterogenous CD8+ T Cell Maturation and 'Polarization' in Acute and Convalescent COVID-19 Patients.</b> <i>Viruses</i> , 2022, Vol. 14, no. 9, pp. 1906.		doi: 10.3390/v14091906
29	<b>Kumaresan P.R., da Silva T.A., Kontoyiannis D.P. Methods of Controlling Invasive Fungal Infections Using CD8+ T Cells.</b> <i>Front Immunol.</i> , 2018, Vol. 8, pp. 1939.		doi:10.3389/fimmu.2017.01939
30	<b>Kurukumbi M., Weir R.L., Kalyanam J., Nasim M., Jayam-Trouth A. Rare association of thymoma, myasthenia gravis and sarcoidosis : a case report.</b> <i>J Med Case Rep.</i> , 2008, Vol. 2, pp. 245.		doi:10.1186/1752-1947-2-245

31	<b>Lazareva N.M., Kudryavtsev I.V., Baranova O.P., Isakov D.V., Serebriakova M.K., Bazhanov A.A., Arsentieva N.A., Liubimova N.E., Ses' T.P., Ilkovich M.M., Totolian A.A. Sarcoidosis clinical picture governs alterations in type 17 T helper cell subset composition and cytokine profile. <i>Medical Immunology (Russia)</i>, 2023, Vol. 25, no. 5, pp. 1049-1058.</b>	<a href="https://doi.org/10.15789/1563-0625-SCP-2694">https://doi.org/10.15789/1563-0625-SCP-2694</a>
32	<b>Levin A.M., Iannuzzi M.C., Montgomery C.G., Trudeau S., Datta I., McKeigue P., Fischer A., Nebel A., Rybicki B.A. Association of ANXA11 genetic variation with sarcoidosis in African Americans and European Americans. <i>Genes Immun.</i>, 2013, Vol. 14, no. 1, pp. 13-18.</b>	doi: 10.1038/gene.2012.48
33	<b>Locke L.W., Crouser E.D., White P., Julian M.W., Caceres E.G., Papp A.C., Le V.T., Sadee W., Schlesinger L.S. IL-13-regulated macrophage polarization during granuloma formation in an in vitro human sarcoidosis model. <i>Am J Respir Cell Mol Biol.</i>, 2019, Vol. 60, pp. 84-95.</b>	doi: 10.1165/rcmb.2018-0053OC

34	<b>Loyal L., Warth S., Jürchott K., Mölder F., Nikolaou C., Babel N., Nienen M., Durlanik S., Stark R., Kruse B., Frentsch M., Sabat R., Wolk K., Thiel A. SLAMF7 and IL-6R define distinct cytotoxic versus helper memory CD8+ T cells. <i>Nat Commun.</i>, 2020, Vol. 11, pp. 6357.</b>		doi: 10.1038/s41467-020-19002-6
35	<b>Melani A.S., Simona A., Armati M., d'Alessandro M., Bargagli E. A comprehensive review of sarcoidosis diagnosis and monitoring for the pulmonologist. <i>Pulm Ther.</i>, 2021, Vol. 7, no. 2, pp. 309-324.</b>		doi: 10.1007/s41030-021-00161-w
36	<b>Miedema J.R., Kaiser Y., Broos C.E., Wijzenbeek M.S., Grunewald J., Kool M. Th17-lineage cells in pulmonary sarcoidosis and Löfgren's syndrome: Friend or foe? <i>J Autoimmun.</i>, 2018, Vol. 87, pp. 82-96.</b>		doi: 10.1016/j.jaut.2017.12.012
37	<b>Mittrücker H.W., Visekruna A., Huber M. Heterogeneity in the differentiation and function of CD8+ T cells. <i>Arch Immunol Ther Exp (Warsz.)</i>, 2014, Vol. 62, pp. 449-458.</b>		doi: 10.1007/s00005-014-0293-y

38	<b>Morar R., Duarte R., Wade A.A., Feldman C. HLA class I and class II antigens in sarcoidosis. <i>S Afr Med J.</i>, 2022, Vol. 112, pp. 904-910.</b>		doi: 10.7196/SAMJ.2022.v112i1 2.16586
39	<b>Parasa V.R., Forsslund H., Enger T., Lorenz D., Kullberg S., Eklund A., Sköld M., Wahlström J., Grunewald J., Brighenti S. Enhanced CD8+ cytolytic T cell responses in the peripheral circulation of patients with sarcoidosis and non-Löfgren's disease. <i>Respir Med.</i>, 2018, Vol. 138S, pp. S38-S44.</b>		doi: 10.1016/j.rmed.2017.10.006
40	<b>Patterson K.C., Franek B.S., Müller-Quernheim J., Sperling A.I., Sweiss N.J., Niewold T.B. Circulating cytokines in sarcoidosis: phenotype-specific alterations for fibrotic and non-fibrotic pulmonary disease. <i>Cytokine</i>, 2013, Vol. 61, pp. 906-911.</b>		doi: 10.1016/j.cyto.2012.12.016
41	<b>Piotrowski W.J., Mlynarski W., Fendler W., Wyka K., Marczak J., Górski P., Antczak A. Chemokine receptor CXCR3 ligands in bronchoalveolar lavage fluid: associations with radiological pattern, clinical course, and prognosis in</b>		doi: 10.20452/pamw.2349

	<b>sarcoidosis.</b> <i>Pol Arch Med Wewn.</i> , 2014, Vol. 124, no. 7-8, pp. 395-402		
42	<b>Qin S., Chen R., Jiang Y., Zhu H., Chen L., Chen Y., Shen M., Lin X.</b> Multifunctional T cell response in active pulmonary tuberculosis patients. <i>Int Immunopharmacol.</i> , 2021, Vol. 99, pp. 107898.		doi: 10.1016/j.intimp.2021.107898
43	<b>Ramstein J., Broos C.E., Simpson L.J., Ansel K.M., Sun S.A., Ho M.E., Woodruff P.G., Bhakta N.R., Christian L., Nguyen C.P., Antalek B.J., Benn B.S., Hendriks R.W., van den Blink B., Kool M., Koth L.L.</b> IFN- $\gamma$ -producing T-helper 17.1 cells are increased in sarcoidosis and are more prevalent than T-helper type 1 cells. <i>Am J Respir Crit Care Med.</i> , 2016, Vol. 193, no. 11, pp. 1281-1291.		doi: 10.1164/rccm.201507-1499OC
44	<b>Romero P., Zippelius A., Kurth I., Pittet M.J., Touvrey C., Iancu E.M., Corthesy P., Devevre E., Speiser D.E., Rufer N.</b> Four functionally distinct populations of human effector-memory CD8+ T lymphocytes. <i>J Immunol.</i> , 2007, Vol. 178, no. 7, pp. 4112-4119.		doi: 10.4049/jimmunol.178.7.4112

45	<b>Rubinstein A., Kudryavtsev I., Arsentieva N., Korobova Z.R., Isakov D., Totolian A.A. CXCR3-Expressing T Cells in Infections and Autoimmunity. <i>Front Biosci (Landmark Ed)</i>, 2024, Vol. 29, no. 8, pp. 301.</b>		doi:10.31083/j.fbl2908301
46	<b>Rufer N., Zippelius A., Batard P., Pittet M.J., Kurth I., Corthesy P., Cerottini J.C., Leyvraz S., Roosnek E., Nabholz M., Romero P. Ex vivo characterization of human CD8+ T subsets with distinct replicative history and partial effector functions. <i>Blood</i>, 2003, Vol. 102, no. 5, pp. 1779-1787.</b>		doi: 10.1182/blood-2003-02-0420
47	<b>Sakthivel P., Bruder D. Mechanism of granuloma formation in sarcoidosis. <i>Curr Opin Hematol.</i>, 2017, Vol. 24, no. 1, pp. 59-65.</b>		doi: 10.1097/MOH.00000000000000301
48	<b>Shamaei M., Mortaz E., Pourabdollah M., Garssen J., Tabarsi P., Velayati A., Adcock I.M. Evidence for M2 macrophages in granulomas from pulmonary sarcoidosis: A new aspect of macrophage heterogeneity. <i>Hum Immunol.</i>, 2018, Vol. 79, no. 1, pp. 63-69.</b>		doi: 10.1016/j.humimm.2017.10.009

49	<b>She Y.X., Yu Q.Y., Tang X.X. Role of interleukins in the pathogenesis of pulmonary fibrosis. <i>Cell Death Discov.</i>, 2021, Vol. 7, no. 1, pp. 52.</b>		doi: 10.1038/s41420-021-00437-9
50	<b>Starshinova A., Borozinets A., Kulpina A., Sereda V., Rubinstein A., Kudryavtsev I., Kudlay D. Bronchial Asthma and COVID-19: etiology, pathological triggers, and therapeutic considerations. <i>Pathophysiology</i>, 2024, Vol. 31, no. 2, pp. 269-287.</b>		doi: 10.3390/pathophysiology31020020
51	<b>Starshinova A.A., Malkova A.M., Basantsova N.Y., Zinchenko Y.S., Kudryavtsev I.V., Ershov G.A., Soprun L.A., Mayevskaya V.A., Churilov L.P., Yablonskiy P.K. Sarcoidosis as an Autoimmune Disease. <i>Front Immunol.</i>, 2020, Vol. 10, pp. 2933.</b>		doi: 10.3389/fimmu.2019.02933
52	<b>Ten Berge B., Paats M.S., Bergen I.M., van den Blink B., Hoogsteden H.C., Lambrecht B.N., Hendriks R.W., Kleinjan A. Increased IL-17A expression in granulomas and in circulating memory T cells in sarcoidosis. <i>Rheumatology (Oxford)</i>, 2012, Vol. 51, no. 1, pp. 37-46.</b>		doi: 10.1093/rheumatology/ker316

53	<b>Terao I., Hashimoto S., Horie T. Effect of GM-CSF on TNF-alpha and IL-1-beta production by alveolar macrophages and peripheral blood monocytes from patients with sarcoidosis. <i>Int Arch Allergy Immunol.</i>, 1993, Vol. 102, no. 3, pp. 242-248.</b>		doi: 10.1159/000236532
54	<b>Tøndell A., Moen T., Børset M., Salvesen Ø., Rø A.D., Sue-Chu M. Bronchoalveolar lavage fluid IFN-<math>\gamma</math>+ Th17 cells and regulatory T cells in pulmonary sarcoidosis. <i>Mediators Inflamm.</i>, 2014, Vol. 2014, pp. 438070.</b>		doi: 10.1155/2014/438070
55	<b>Valeyre D., Bernaudin J.F., Brauner M., Nunes H., Jeny F. Infectious Complications of Pulmonary Sarcoidosis. <i>J Clin Med.</i>, 2024, Vol. 13, no. 2, pp. 342.</b>		doi: 10.3390/jcm13020342
56	<b>van der Ploeg E.K., Krabbendam L., Vroman H., van Nimwegen M., de Bruijn M.J.W., de Boer G.M., Bergen I.M., Kool M., Tramper-Standers G.A., Braunstahl G.J., Huylebroeck D., Hendriks R.W., Stadhouders R. Type-2 CD8+ T-cell formation relies on interleukin-33 and is</b>		doi: 10.1038/s41467-023-40820-x.

	<b>linked to asthma exacerbations. <i>Nat Commun.</i>, 2023, Vol. 14, pp. 5137.</b>		
57	<b>Welsh K.J., Risin S.A., Actor J.K., Hunter R.L. Immunopathology of postprimary tuberculosis: increased T-regulatory cells and DEC-205-positive foamy macrophages in cavitory lesions. <i>Clin Dev Immunol.</i>, 2011, Vol. 2011, pp. 307631.</b>		doi:10.1155/2011/307631
58	<b>Zhang H., Costabel U., Dai H. The Role of Diverse Immune Cells in Sarcoidosis. <i>Front Immunol.</i>, 2021, Vol. 12, pp. 788502.</b>		doi: 10.3389/fimmu.2021.788502