

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

Рубинштейн А.А.¹, Кудрявцев И.В.^{1, 2}, Лазарева Н.М.³,
Акишева Т.В.¹, Баранова О.П.², Сесь Т.П.², Илькович М.М.²,
Тотолян Арег А.^{2, 4}

¹ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

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

⁴ ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Саркоидоз — это системное иммуноопосредованное гранулематозное заболевание неизвестной по настоящее время этиологии, характеризующееся инфильтрацией тканей макрофагами и лимфоцитами, включая CD8⁺T-лимфоциты, и сопутствующим образованием неказеозных гранул. Целью исследования являлось изучение различных субпопуляций CD8⁺T-клеток в периферической крови больных хроническим течением саркоидоза органов дыхания с применением маркеров созревания, «поляризации», дифференцировки и миграции T-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 «саркоидоз» 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⁺T-клеток и CD45RA⁺CD62L⁺CD8⁺T-клеток центральной памяти относительно значений контрольной группы, а также EM1-клеток (CD45RA⁺CD62L⁺CD27⁺CD28⁺) и преэфекторов 1-го типа (CD45RA⁺CD62L⁺CD27⁺CD28⁺). В ходе последующих исследований по экспрессии CXCR3 и CCR6 CD8⁺T-клеток были разделены на Tc1 (CCR6⁺CXCR3⁺), Tc2 (CCR6⁺CXCR3⁻), Tc17 (CCR6⁺CXCR3⁻) и

Адрес для переписки:

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

Address for correspondence:

Igor V. Kudryavtsev
Institute of Experimental Medicine
12 Acad. Pavlov St
St. Petersburg
197376 Russian Federation
Phone: +7 (812) 234-29-29.
E-mail: igorek1981@yandex.ru

Образец цитирования:

А.А. Рубинштейн, И.В. Кудрявцев, Н.М. Лазарева,
Т.В. Акишева, О.П. Баранова, Т.П. Сесь,
М.М. Илькович, Арег А. Тотолян «Изменения
субпопуляционного состава CD8⁺T-лимфоцитов
в периферической крови пациентов с хроническим
саркоидозом легких» // Медицинская иммунология,
2025. Т. 27, № 6. С. 1323-1338.
doi: 10.15789/1563-0625-AIP-3222

© Рубинштейн А.А. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.A. Rubinstein, I.V. Kudryavtsev, N.M. Lazareva,
T.V. Akisheva, O.P. Baranova, T.P. Ses', M.M. Ilkovich,
Areg A. Totolian "Alterations in peripheral blood CD8⁺T cell
subsets in patients with lung sarcoidosis", Medical Immunology
(Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 6,
pp. 1323-1338.
doi: 10.15789/1563-0625-AIP-3222

© Rubinstein A.A. et al., 2025

The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-AIP-3222

«дважды позитивные» Tc17.1 (CCR6⁺CXCR3⁺). В случае субпопуляций CD8⁺T-клеток, способных к экспрессии CXCR3 (Tc1 и Tc17.1), нами были отмечены достоверные снижения как относительно-го, 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⁺T-лимфоциты могут играть роль в патогенеза саркоидоза. Для дальнейшей систематизации полученных данных требуются более расширенные клинико-иммунологические сопоставления.

Ключевые слова: саркоидоз, CD8⁺T-лимфоциты, субпопуляции, проточная цитометрия, периферическая кровь

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

Rubinstein A.A.^a, Kudryavtsev I.V.^{a, b}, Lazareva N.M.^c, Akisheva T.V.^a, Baranova O.P.^b, Ses' T.P.^b, Ilkovich M.M.^b, Totolian Areg A.^{b, d}

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

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

^c Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Federal Medical-Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation

^d Saint Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

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-caseous 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 respiratory organs with the background of a natural course of disease, and without a history of immunosuppressive therapy. The diagnosis of pulmonary sarcoidosis was performed according to the standard criteria and was confirmed by histological examination for 94.1% of patients. Peripheral venous blood samples from healthy, gender- and age-matched volunteers ($n = 40$), were used as control specimens. Multicolor flow cytometry revealed that patients with sarcoidosis had decreased levels of CD45RA⁺CD62L⁺ 'na ve' and CD45RA⁻CD62L⁺ central memory CD8⁺T cells as compared with healthy controls. Moreover, the frequencies of EM1 (CD45RA⁻CD62L⁻CD27⁺CD28⁺) and pre-effector type 1 (CD45RA⁺CD62L⁻CD27⁺CD28⁺) cells were also reduced. In order to assess the relevant 'polarized' CD8⁺T cell subsets, we have specified the Tc1 (CCR6⁻CXCR3⁺), Tc2 (CCR6⁺CXCR3⁻), Tc17 (CCR6⁺CXCR3⁺), and double-positive Tc17.1 (CCR6⁺CXCR3⁺) cell populations. The relative and absolute numbers of CXCR3-expressing CD8⁺T cell subsets (Tc1 and Tc17.1 were found to be significantly decreased in patients with sarcoidosis if compared to healthy controls. By contrary, Tc2 CD8⁺T cell contents were significantly elevated. Furthermore, the relative numbers of Tc1 cells negatively correlated with serum ACE levels ($r = -0.456$; $p = 0.01$), whereas Tc2 levels positively correlated with serum ACE levels ($r = 0.623$; $p < 0.001$). Thus, our results indicate that CD8⁺T cells may play a role in pathogenesis of sarcoidosis. More extensive clinical and immunological comparisons are required for further systematization of the obtained data.

Keywords: sarcoidosis, CD8⁺T cells, subsets, flow cytometry, peripheral blood

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

Введение

Саркоидоз представляет собой системное иммуннопосредованное гранулематозное заболе-

вание с гетерогенными клиническими проявлениями, этиология которого по настоящее время остается до конца неизученной [35]. Причинами развития данного заболевания могут быть инфекционные агенты [55], аутоиммунные процессы [51], различного рода внешние физические и химические воздействия [13] либо генетические

факторы [11], влияющие на функционирование клеток системы врожденного и приобретенного иммунитета. При всем разнообразии причин, приводящих к развитию данного заболевания, саркоидоз характеризуется образованием гранулем, в котором задействованы многие факторы, включая иммунные клетки и их иммунорегуляторные цитокины [47]. В настоящее время ведущая роль в патогенезе саркоидоза отводится Th1 и Th17, а также относительно недавно описанной популяции так называемых Th17.1-лимфоцитов и основным цитокинам, которые синтезируются всеми этими клетками в очаге воспаления, включая, в первую очередь, IFN γ и IL-17 [58].

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

Кроме того, при изучении клеточного состава в саркоидных гранулемах обнаруживаются клетки моноцитарно-макрофагального ряда и CD4⁺T-клетки, однако по периферии гранулемы располагаются CD8⁺T-лимфоциты [22]. При этом роль последних в патогенезе данного заболевания в настоящее время активно обсуждается. Возможно, CD8⁺T-лимфоциты за счет секреции перфорины и гранзимов разрушают функциональные клетки в нормальных тканях, тем самым способствуя развитию соединительной ткани [39]. Следует помнить, что помимо цитолитической функции CD8⁺T-клетки синтезируют биологически активные молекулы, например цитокины – IFN γ и TNF α [53], уровни таких цитокинов повышены в периферической крови и ЖБАЛ у пациентов с саркоидозом [6, 54]. Известно, что цитотокси-

ческие CD8⁺T-лимфоциты неоднородны как по секреции перфоринов и гранзимов, так и по экспрессии различных цитокинов. Активация цитотоксических Т-лимфоцитов у больных саркоидозом, по-видимому, может играть существенную роль не только в процессе формирования гранулем, но также влиять на характер клинического течения заболевания [39].

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

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

Материалы и методы

Материалом (объектом) исследования служили образцы периферической венозной крови 34 больных с впервые выявленным хроническим саркоидозом органов дыхания на фоне естественного течения без применения иммуносупрессивной терапии. Пациенты наблюдались в клинике НИИ интерстициальных и орфанных заболеваний легких ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России. Диагноз «саркоидоз» был установлен на основе комплексного клинико-лучевого исследования и подтвержден гистологически у 32 (94,12%) пациентов в соответствии с отечественными и зарубежными рекомендациями [3, 10, 14]. Возраст пациентов (n = 34) варьировал от 20-65 лет, в группу были включены 19 мужчин и 15 женщин. У большинства больных 21 (61,76%) была диагностирована 2-я стадия СОД, реже от-

мечалась 3-я стадия (12 (35,30%) больных), и только у одного (2,94%) – 1-я стадия. Системные проявления саркоидоза были выявлены у 15 (44,12%) больных и у 19 (55,88%) пациентов имелись системные, тогда как страдали только внутригрудным саркоидозом. В качестве контрольной группы использовалась периферическая венозная кровь условно здоровых доноров ($n = 40$), сопоставимых по полу и возрасту с пациентами с легочным саркоидозом.

Все исследования были проведены после добровольного информированного согласия испытуемых, а также в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Работа была одобрена локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России (протокол № 245 от 15 февраля 2021 г.).

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

При разделении CD8⁺T-клеток периферической крови на отдельные «поляризованные» популяции применяли следующий набор антител производства компании BioLegend (США): CD45RA-FITC, CD62L-PE, CXCR5-PerCP-Cy5.5, CCR6-PE/Cy7, CXCR3-APC, CD3-APC/Cy7, CD8-PacBlue и CCR4-BV510. Удаление эритроцитов производили с применением реагентов, описанных выше; после разрушения эритроци-

тов образцы однократно отмывали избытком физиологического раствора при 330 g в течение 7 минут, клеточный осадок ресуспендировали в физиологическом растворе с pH 7,2-7,4, содержащем 2% параформальдегида (Sigma-Aldrich, США). Алгоритм выявления «поляризованных» популяций CD8⁺T-клеток – «тактика гейтирования» – был описан нами ранее [28].

Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре Navios™ (Beckman Coulter, США), обработку данных проточной цитометрии осуществляли при помощи Kaluza™ v. 2.0 (Beckman Coulter, США). Также результаты цитометрического анализа от пациентов с саркоидозом и контроля конкатенировались и анализировались при помощи tSNE (*англ.* t-Distributed Stochastic Neighbor Embedding) с применением пакета программ FlowJo™ v10 (BD Bioscience Inc., США). Нормальность распределения проверяли по критерию согласия Пирсона хи-квадрат. Результаты выражали в виде % позитивных клеток от искомой популяции и приводили в виде медианы и интерквартильного размаха: Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$). Для сравнения групп использовали U-критерий Манна–Уитни. Статистическую обработку проводили при помощи программного обеспечения Statistica 8.0 (StatSoft, США) и GraphPad Prism 4.00 for Windows (GraphPad Prism Software Inc., США).

Результаты

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

Далее на основании коэкспрессии CD45RA и CD62L общий пул CD8⁺T-клеток был разде-

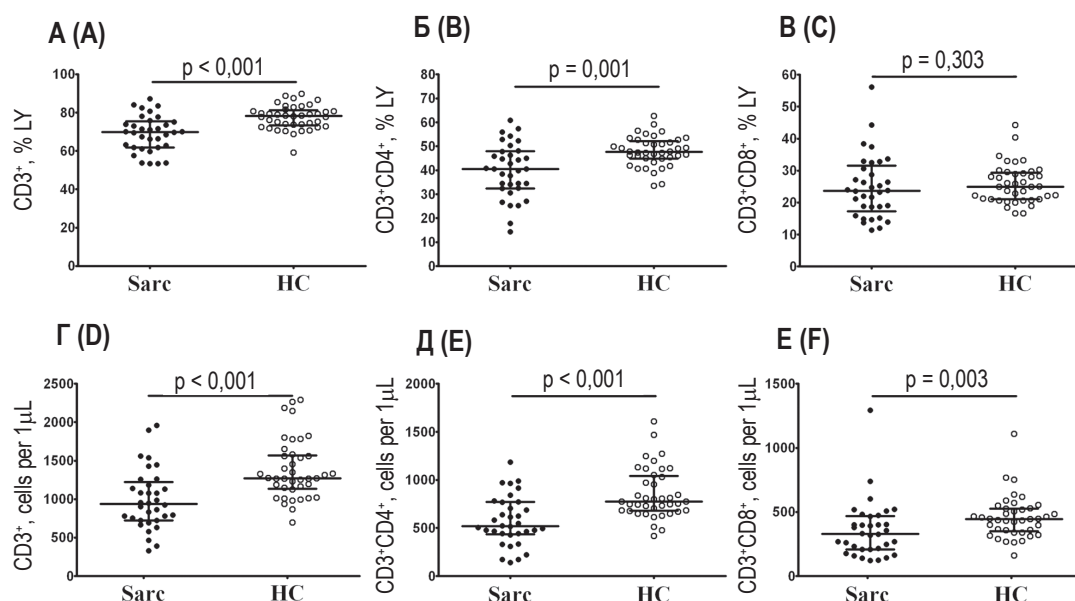


Рисунок 1. Сравнение относительного и абсолютного содержания основных субпопуляций Т-клеток у пациентов с хроническим саркоидозом (n = 34) и у условно здоровых доноров (n = 40)

Примечание. Диаграммы А-В и Г-Е – 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 (Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})). 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

Note. Scatter plots A-C and 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 (Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})). The differences between the groups were estimated using Mann-Whitney U test.

лен на четыре основные субпопуляции, включая «наивные» клетки, клетки центральной и эффекторной памяти, а также зрелые эффекторные клетки популяции TEMRA (фенотипы CD45RA⁺CD62L⁺, CD45RA⁻CD62L⁺, CD45RA⁻CD62L⁻ и CD45RA⁺CD62L⁻ соответственно). Как показано на рисунках 2 и 7 (см. 3-ю стр. обложки), при саркоидозе в рамках общего пула циркулирующих CD8⁺Т-клеток снижается относительное содержание «наивных» клеток и клеток центральной памяти (18,42% (5,44-28,28) против 27,94% (16,60-35,54) и 6,64% (4,00-9,68) против 11,04% (7,13-13,32) при p = 0,011 и p = 0,001 соответственно), тогда как уровень эффекторных клеток популяции TEMRA достоверно возрастал (40,88% (22,34-46,32) против 25,89% (15,10-35,79) при p = 0,009). Более того, при анализе абсолютного содержания исследуемых популяций CD8⁺Т-клеток у пациентов с саркоидозом отмечалось снижение уровня трех популяций клеток, включая «наивные» (50 кл/1µL (12-95) против

118 кл/1µL (79-153), p < 0,001), клетки центральной (19 кл/1µL (11433) против 39 кл/1µL (31-63), p < 0,001) и эффекторной памяти (114 кл/1µL (64-152) против 149 кл/1µL (99-200), p = 0,044) относительно значений контрольной группы.

Поскольку у пациентов с хроническим саркоидозом были отмечены нарушения в основных субпопуляциях CD8⁺Т-клеток, находящихся на разных стадиях дифференцировки, в ходе дальнейших исследований мы оценивали субпопуляционный состав EM- и TEMRA-клеток. Известно, что экспрессия костимулирующих молекул CD27 и CD28 позволяет определить четыре различных типа клеток эффекторной памяти [44], включая EM1 (CD27⁺CD28⁺), EM2 (CD27⁺CD28⁻), EM3 (CD27⁻CD28⁻) и EM4 (CD27⁻CD28⁺). Было показано (рис. 3), что при саркоидозе снижается как относительное, так и абсолютное содержание CD8⁺Т-клеток популяции EM1 (41,16% (27,15-55,86) против 51,35% (41,89-65,43) и 40 кл/1µL (21-64) против 65 кл/1µL

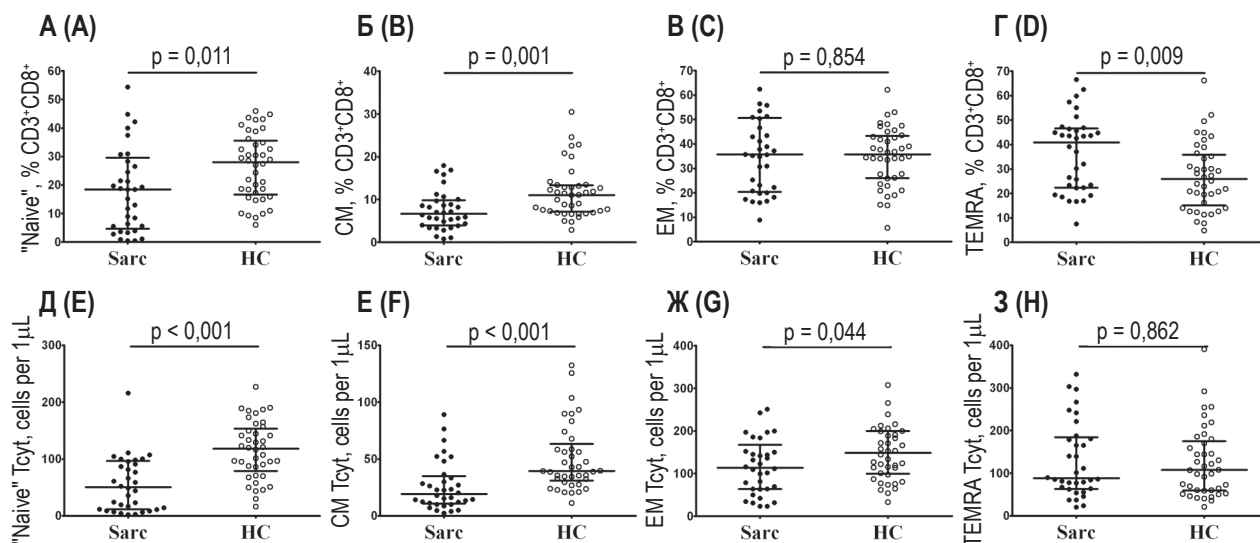


Рисунок 2. Изменение относительного и абсолютного содержания основных субпопуляций CD8⁺T-клеток с различными уровнями экспрессии CD45RA и CD62L у пациентов с хроническим саркоидозом (n = 34) и у условно здоровых доноров (n = 40)

Примечание. 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⁺T-клеток соответственно. См. примечание к рисунку 1.

Figure 2. Alterations in relative and absolute frequencies of circulating CD8⁺T cell maturation subsets in patients with sarcoidosis

Note. Scatter plots A-D and E-H showing the percentages and absolute (number of cells per 1 µL of peripheral whole blood) numbers of 'naive', central memory, effector memory and effector memory CD8⁺T cells re-expressing CD45RA cells (TEMRA) CD8⁺T cells, respectively. 'Naive' 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⁺. See the note to Figure 1.

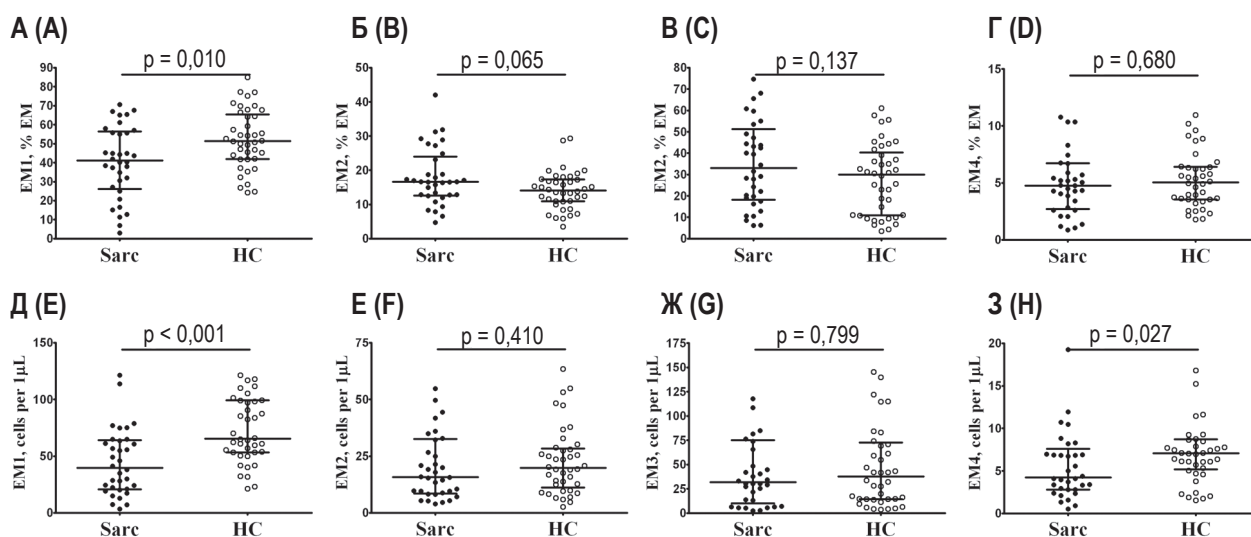


Рисунок 3. Изменения в относительном и абсолютном количестве субпопуляций EM CD8⁺T-клеток с различными паттернами экспрессии CD27 и CD28 у пациентов с хроническим саркоидозом (n = 34) и у условно здоровых доноров (n = 40)

Примечание. Диаграммы А-Г и Д-З – процентное и абсолютное содержание EM субпопуляций CD8⁺T-клеток EM1 (CD27⁺CD28⁺), EM2 (CD27⁺CD28⁺), EM3 (CD27⁺CD28⁺) и EM4 (CD27⁺CD28⁺) соответственно. См. примечание к рисунку 1.

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

Note. Scatter plots A-D and E-H showing the relative and absolute (number of cells per 1 µL of peripheral whole blood) frequencies, respectively, of EM1 (CD27⁺CD28⁺), EM2 (CD27⁺CD28⁺), EM3 (CD27⁺CD28⁺), and EM4 (CD27⁺CD28⁺), respectively. See the note to Figure 1.

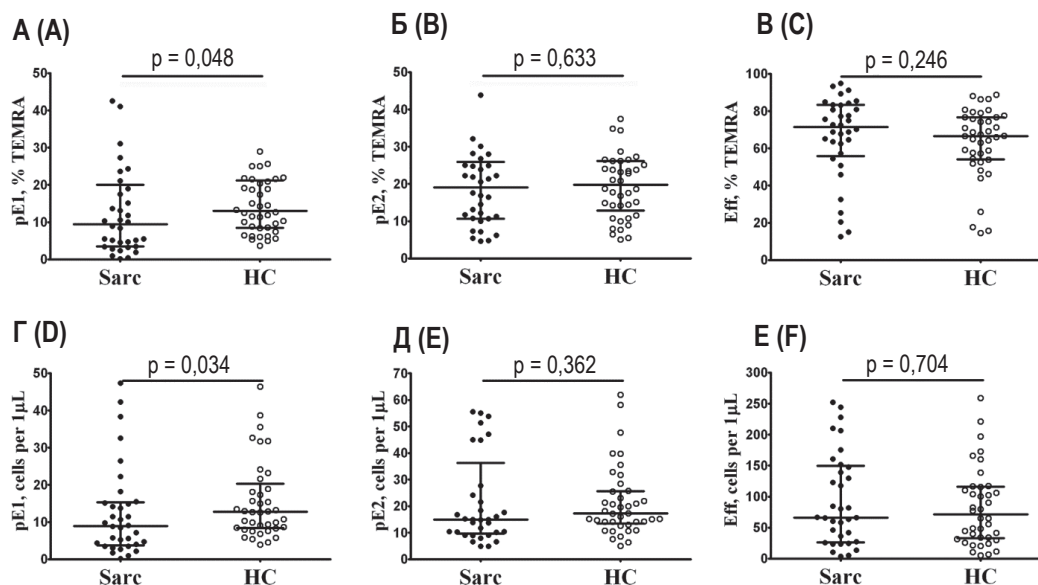


Рисунок 4. Изменения в относительном количестве субпопуляций TEMRA CD8⁺T-клеток с различными паттернами экспрессии CD27 и CD28 у пациентов с хроническим саркоидозом (n = 34) и у условно здоровых доноров (n = 40)
Примечание. Диаграммы А-В и Г-Е – процентное и абсолютное количество TEMRA субпопуляций CD8⁺T-клеток CD27⁺CD28⁺ презэффекторов 1-го типа (pE1), CD27⁺CD28⁺ презэффекторов 2-го типа (pE2) и CD27⁺CD28⁺ зрелых эффекторов (Eff) соответственно. См. примечание к рисунку 1.

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

Note. Scatter plots A-C and D-F show the relative and absolute (number of cells per 1 µL of peripheral whole blood) numbers, respectively, of TEMRA CD8⁺T cells were subdivided into CD27⁺CD28⁺ pE1, CD27⁺CD28⁺ pE2, and CD27⁺CD28⁺ Eff subsets, respectively. See the note to Figure 1.

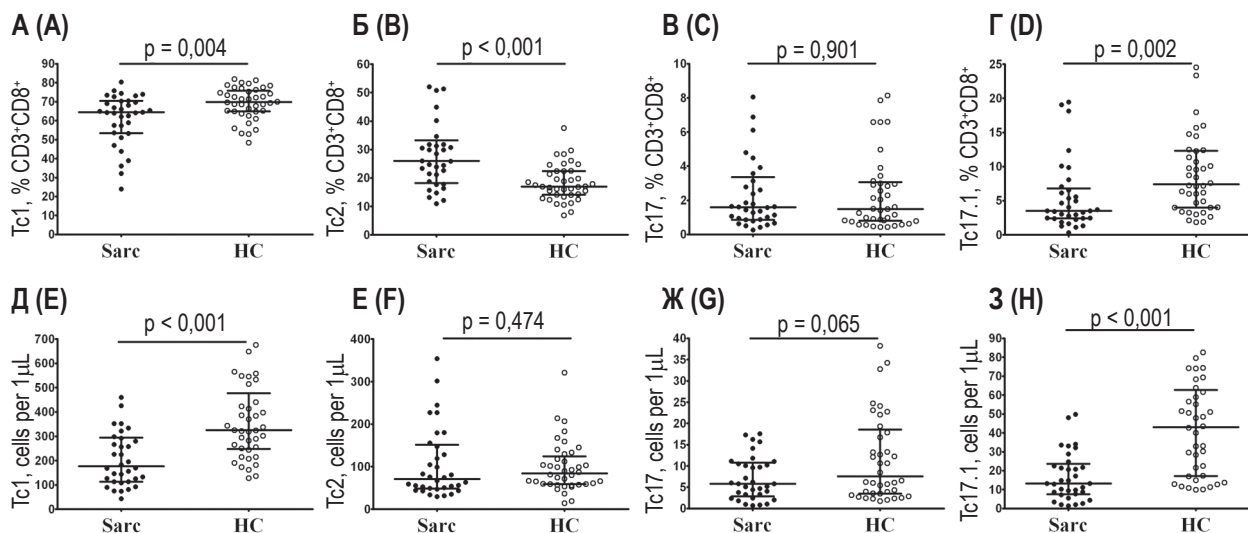


Рисунок 5. Изменения в относительном и абсолютном содержании Tc1, Tc2, Tc17 и Tc17.1 периферической крови в основных субпопуляциях CD8⁺T-клеток у пациентов с хроническим саркоидозом (n = 34) и у условно здоровых доноров (n = 40)

Примечание. 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. См. примечание к рисунку 1.

Figure 5. Alterations in relative and absolute frequencies of blood Tc1, Tc2, Tc17 and double-positive Tc17.1 cells in patients with sarcoidosis

Note. Scatter plots A-D and E-H the relative (% within total CD8⁺T cell subset) and absolute (number of cells per 1 µL 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. See the note to Figure 1.

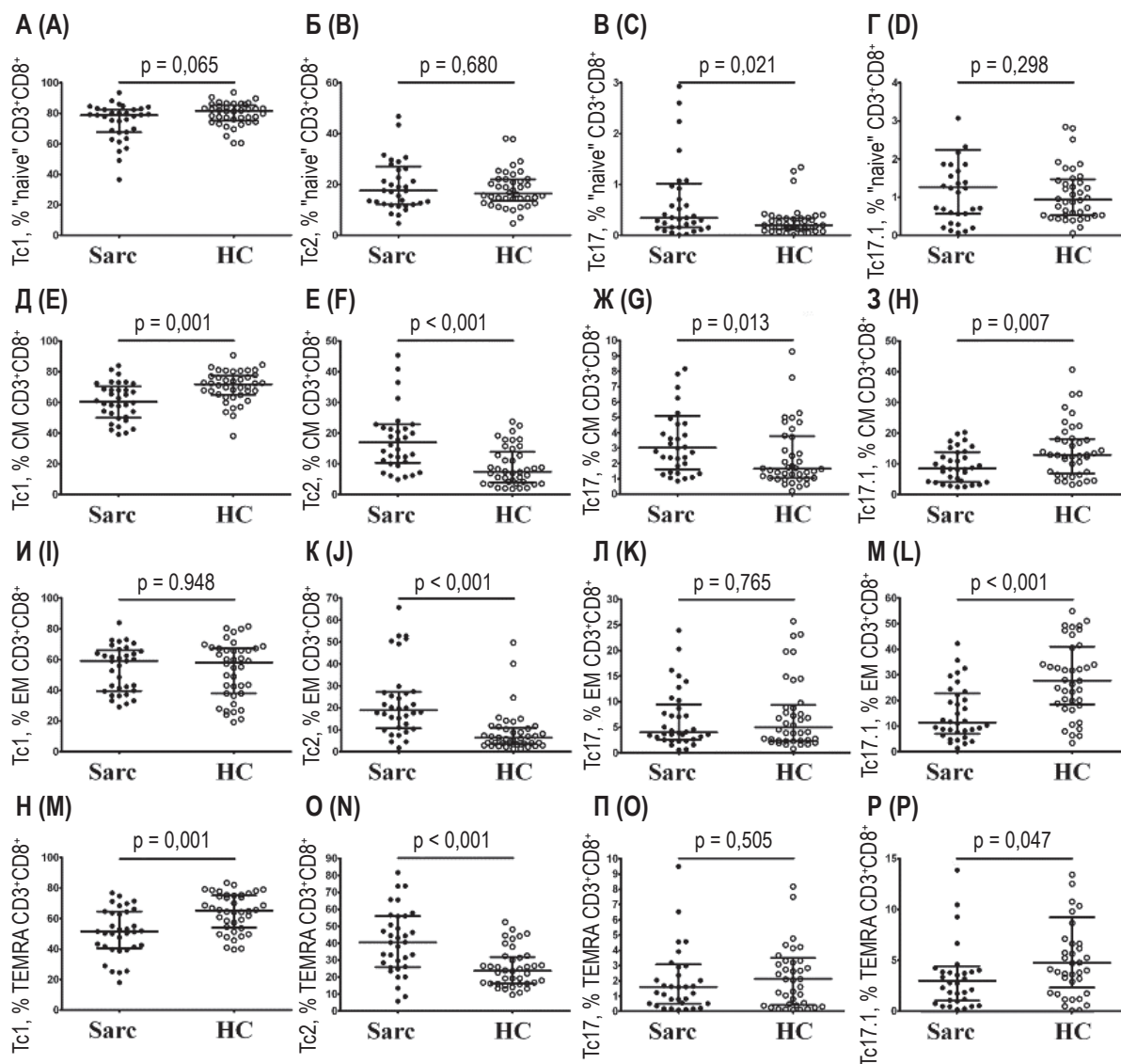


Рисунок 6. Изменения Тс1-, Тс2-, Тс17- и Тс17.1-клеток периферической крови у пациентов с хроническим саркоидозом (n = 34) внутри различных субпопуляций CD3⁺CD8⁺ клеток

Примечание. Диаграммы А-Г, Д-З, И-М и Н-Р – относительное содержание Тс1 (CCR6⁺CXCR3⁺), Тс2 (CCR6⁺CXCR3⁻), Тс17 (CCR6⁺CXCR3⁻) и дважды положительных клеток Тс17.1 (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. См. примечание к рисунку 1.

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

Note. 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 'naive' (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. See the note to Figure 1.

(53-99) при $p = 0,10$ и $p < 0,001$ соответственно). Также нами было отмечено снижение концентрации ЕМ4-клеток у пациентов с саркоидозом относительно значений контрольной группы (4 кл/1 μ L (3-7) против 7 кл/1 μ L (5-9), $p = 0,027$).

В дальнейшем, анализируя экспрессии CD27 и CD28 на поверхности клеток популяции

TEMRA, были выявлены три основные популяции клеток – преэффекторы 1-го типа (pE1, CD27⁺CD28⁺), преэффекторы 2-го типа (pE2, CD27⁺CD28⁻) и эффекторные клетки (Eff, CD27⁻CD28⁻), которые различались как своими фенотипическими, так и функциональными характеристиками [46]. Было показано (рис. 4), что как

относительное, так и абсолютное содержание CD8⁺T-клеток популяции pE1 у пациентов с саркоидозом было снижено относительно значений контроля (9,47% (3,49-19,00) против 13,02% (8,48-21,22) и 9 кл/1μL (4-15) против 13 кл/1μL (8-20) при $p = 0,048$ и $p = 0,034$ соответственно).

В ходе последующих исследований фенотипических особенностей CD8⁺T-клеток периферической крови у пациентов с саркоидозом легких нами была предпринята попытка выявить «поляризованные» субпопуляции CD8⁺T-клеток, которые различались по экспрессии CXCR3 и CCR6 [34], что позволило разделить общий пул клеток на Tc1 (CCR6⁻CXCR3⁺), Tc2 (CCR6⁺CXCR3⁻), Tc17 (CCR6⁺CXCR3⁺) и «дважды позитивные» Tc17.1 (CCR6⁺CXCR3⁺). В случае CD8⁺T-клеток, способных к экспрессии CXCR3 – Tc1 и Tc17.1, нами были отмечены достоверные снижения как относительного (64,42% (53,55-70,41) против 69,78% (64,88-76,08) при $p = 0,004$ и 3,51% (2,42-6,67) против 7,41% (4,00-12,37) при $p = 0,002$ соответственно), так и абсолютного (176 кл/1μL (113-294) против 325 кл/1μL (246-467) при $p < 0,001$ и 13 кл/1μL (8-23) против 43 кл/1μL (17-63) при $p < 0,001$) их содержания у пациентов с саркоидозом относительно значений условно здорово контроля (рис. 5 и рис. 8 (см. 3-ю стр. обложки)). На фоне снижения Tc1-клеток нами было отмечено увеличение доли Tc2-клеток в периферической крови пациентов с саркоидозом (25,95% (18,47-32,50) против 16,98% (14,04-22,43) при $p < 0,001$). 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 $p < 0,001$).

Применения многоцветной проточной цитометрии позволило нам проанализировать распределение различных «поляризованных» CD8⁺T-клеток на разных стадиях дифференцировки. Для начала мы определили уровень CCR6⁻CXCR3⁺Tc1 в рамках популяций «наивных», СМ-, ЕМ- и ТЕМРА-клеток (рис. 6). Было показано, что снижение общего пула Tc1-лимфоцитов при саркоидозе связано с уменьшением доли данной популяции в рамках СМ (60,39% (50,23-69,52) против 71,74% (64,94-77,55), $p = 0,001$) и ТЕМРА (51,40% (40,98-64,53) против 65,20% (53,83-75,25), $p = 0,001$). Также для СМ Tc1 и ТЕМРА Tc1 нами были отмечены обратные корреляционные взаимосвязи с уровнем АПФ в сыворотке крови ($r = -0,415$ при $p = 0,020$ и $r = -0,487$ при $p = 0,005$ соответственно). Кроме того, уровень Tc2 CD8⁺T-

клеток при саркоидозе повышался во всех на «наивных» популяциях CD8⁺T-клеток, включая клетки центральной (16,99% (10,45-22,81) против 7,41% (3,77-14,37) при $p < 0,001$) и эффекторно-памяти (18,86% (10,82-27,05) против 6,27% (3,45-11,14) при $p < 0,001$), а также зрелых эффекторах популяции ТЕМРА (40,47% (26,03-55,84) против 23,73% (16,18-32,11) при $p < 0,001$). Увеличение уровней Tc2-клеток в рамках популяций СМ, ЕМ и ТЕМРА было тесно связано с уровнем АПФ в сыворотке крови пациентов с саркоидозом ($r = 0,453$ при $p = 0,010$, $r = 0,397$ при $p = 0,027$ и $r = 0,619$ при $p < 0,001$ соответственно). В случае Tc17-клеток также было отмечено некоторое увеличение данной субпопуляции CD8⁺T-лимфоцитов у пациентов с саркоидозом в рамках «наивных» клеток (0,35% (0,16-1,00) против 0,20% (0,13-0,34) при $p = 0,021$) и популяции СМ (3,03% (1,73-5,02) против 1,66% (1,06-3,78) при $p = 0,013$). И, наконец, CCR6⁺CXCR3⁺Tc17.1-клетки были снижены при саркоидозе по сравнению с контрольной группой в рамках основных не «наивных» популяций, включая клетки центральной (8,52% (4,16-13,77) против 12,85% (6,64-18,21) при $p = 0,007$) и эффекторно-памяти (11,37% (7,27-22,44) против 27,82% (18,28-41,32) при $p < 0,001$) памяти, а также клетки ТЕМРА (2,98% (1,06-4,31) против 4,75% (2,06-9,51) при $p = 0,047$).

Обсуждение

Таким образом, анализ циркулирующих CD8⁺T-клеток, находящихся на различных стадиях созревания, у пациентов с саркоидозом легких показал, что в кровотоке наблюдается снижение уровня клеток, способных к пролиферации в лимфоидной ткани («наивные», СМ, ЕМ1 и pE1), тогда как уровень клеток, обладающих выраженными эффекторными свойствами (ЕМ3, ТЕМРА, Eff) – продукцией цитокинов, деградуацией и уничтожением клеток-мишеней, – сохраняется на высоком уровне, что особенно интересно на фоне общей лимфоцитопении, характерной для данного заболевания.

Следует отметить, что при саркоидозе общий пул циркулирующих в крови CD3⁺T-лимфоцитов может снижаться вследствие многих причин: компартментализации иммунных процессов – повышенной инфильтрации эффекторными T-клетками органов-мишеней; усилением периферического апоптоза, вызванного гиперактивацией лимфоцитов под действием цитокинов и других факторов; в результате нарушений процесса созревания T-клеток в тимусе (что может

затрагивать формирования всех основных популяций Т-клеток, включая $CD4^+$ Т-хелперы, $CD8^+$ Т-клетки и регуляторные Т-лимфоциты). Так, например, Т. Нато и соавт. в своем клиническом случае показали сочетание саркоидных гранулем в легочной паренхиме и внутригрудных лимфатических узлах с кальцифицированной тимомой [20]. Кроме того, были описаны случаи, в которых на фоне саркоидоза у пациентов формировались тимомы [30]. Esendagli D. и соавт. в своем исследовании показали роль тимуса в развитии саркоидоза [17]. Так, в представленном авторами клиническом случае 53-летней пациентке, имеющей саркоидные гранулемы в паренхиме легких, внутригрудных лимфатических узлах и коже, провели тимэктомию, после чего проявления саркоидоза разрешились. Кроме того, при процессах иммунной дисрегуляции у больных хроническим саркоидозом также повышены уровни провоспалительных цитокинов и хемокинов, что может оказывать существенное влияние как на формирование Т-клеток в тимусе, так и на миграцию Т-лимфоцитов в очаги поражения, локализованные в периферических органах [15, 16]. Следует отдельно упомянуть, что при саркоидозе в общем пуле «наивных» Т-клеток периферической крови была выявлена высокая экспрессия маркеров не-TCR-опосредованной активации клеток, белков, отвечающих за апоптоз, а также существенные нарушения регуляции дифференцировки Т-клеток [19].

При анализе «поляризованных» популяций $CD8^+$ Т-лимфоцитов нами было отмечено снижение уровней клеток, экспрессирующих на своей поверхности хемокиновый рецептор CXCR3 — Tc1 и Tc17.1, на фоне увеличения доли Tc2-лимфоцитов. Причем эти изменения были тесно связаны с уровнем АПФ в сыворотке крови и касались, в первую очередь, не «наивных» популяций клеток, что может указывать на нарушения в процессах формирования $CD8^+$ Т-клеток в периферических лимфоидных органах, а также их взаимосвязь с развитием заболевания. Подобно Th1-клеткам Tc1 $CD8^+$ Т-лимфоциты играют ведущую роль в реализации воспалительных реакций по I типу за счет наличия выраженных цитолитических свойств, основанных на способности накапливать в цитоплазматических гранулах перфорин и гранзимы, а также продукции эффекторных цитокинов — $IFN\gamma$ и $TNF\alpha$ [7]. Tc1 $CD8^+$ Т-лимфоциты экспрессируют на своей поверхности CCR5 и CXCR3, тогда как остальные хемокиновые рецепторы, свойственные Tc2, Tc17 и фолликулярным $CD8^+$ Т-лимфоцитам (CCR4, CCR6 и CXCR5 соответственно), на их

клеточной мембране отсутствуют [34]. Кроме того, $CD3^+CD8^+IFN\gamma^+Tc1$ высоко экспрессируют IL-18R, свойственный также и Th1-клеткам, причем этой особенностью обладали именно $IFN\gamma$ -продуцирующие $CD8^+$ Т-лимфоциты [12]. С другой стороны, в циркулирующей крови также выявляют Tc2 и Tc17 $CD8^+$ Т-лимфоциты, которые по спектру экспрессируемых транскрипционных факторов и секретируемых цитокинов схожи с Th2 и Th17 соответственно, но не обладают выраженными способностями уничтожать клетки-мишени [37]. Как известно, баланс между цитолитическими Tc1 и «цитокин-подуцирующими» популяциями Tc2 и Tc17 играет важную роль в развитии различных патологических состояний, включая аутоиммунитет и инфекции. При этом условия дифференцировки $CD8^+$ Т-лимфоцитов формируются за счет различного характера микроокружения, в первую очередь концентрации цитокинов. Известно, что тип активации различных субпопуляций Т-хелперов (Th1, Th17, Th17.1, Tregs) во многом определяет характер клинического течения саркоидоза. При остром течении характерна активация в основном Th1, при хроническом — Th17.1 [13, 35].

В последнее время существует теория о том, что субпопуляция Th17.1 способствует хронизации аутоиммунного воспаления при саркоидозе [36]. 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, J. Ramstein и соавт. 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 иммуннопатогенеза 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 саркоидоза, могут свидетельствовать о миграции Tc17.1 в легочную ткань, где помимо секреции IL-17A, IL-17F и IFN γ эта субпопуляция CD8⁺T-лимфоцитов, вероятно способна к лизису клеток легочной ткани, что может способствовать длительному поддержанию воспаления и формированию фиброза. Согласно данным литературы, активация различных субпопуляций CD8⁺T-лимфоцитов в ЖБАЛ может носить динамический характер. Так, количество IFN γ ⁺CD8⁺T-клеток до стимуляции форболовым эфиром и иономицином было снижено по сравнению с группой здоровых [8]. Экспрессия перфорина в CD8⁺T-клетках у пациентов с саркоидозом в ЖБАЛ была также существенно снижена. После стимуляции экспрессия молекул адгезии (CD62L, CD71) была значительно выше на поверхности CD8⁺T-клеток у пациентов с саркоидозом по сравнению со здоровыми донорами [8]. Экспрессия хемокиновых рецепторов CXCR3 на поверхности CD8⁺T-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⁺T-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 W.J. и соавт. показали, что все три лиганда CXCR3 повышались в ЖБАЛ больных саркоидозом [41]. Таким образом, можно предположить, что Tc1 мигрируют в пораженные саркоидными гранулами ткани и способствуют их поддержанию в органах-мишенях.

Учитывая противовоспалительный профиль клеток Tc2 [29], увеличение в периферической крови процентного количества CM, EM и TEMRA Tc2-клеток может носить компенсаторный характер, способствующий как предотвращению прогрессирования воспаления, так и

развитию фиброза в легких. CD8⁺T-клетки 2-го типа секретируют спектр цитокинов характерных для Th2, таких как IL-4, IL-5, IL-13 и IL-10 [29, 56]. Эти цитокины [50] могут способствовать поляризации макрофагов в сторону M2, которые, в свою очередь, способствуют развитию легочного фиброза [49]. Действительно, в настоящее время можно обнаружить несколько исследований, которые указывают на важную роль при саркоидозе с легочным фиброзом именно M2-макрофагов. Так, Shamaei M. и соавт. при помощи методов гистохимического анализа выявили повышенное содержание M2-клеток в гранулах, локализованных в тканях легкого, у пациентов с саркоидозом [48]. Моделирование гранул в условиях *in vitro* также показало, что M2-макрофаги под действием Th2-цитокинов способны формировать многоядерные гигантские клетки [33]. Также было показано, что при саркоидозе уровни Th2-цитокинов у пациентов саркоидозом достоверно повышались в циркуляции [1], причем при отсутствии фиброза они были ниже по сравнению с пациентами с фиброзом легких [21, 40]. Таким образом, роль Tc2 при саркоидозе неоднозначна и требует дальнейшего изучения.

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

Заключение

Таким образом, полученные нами данные о характере активации и дифференцировки различных субпопуляций CD8⁺T-лимфоцитов (Tc1, Tc2, Tc17 и Tc17.1) наряду с известными данными о типах поляризации Т-хелперов свидетель-

ствуют о важной роли всех типов Т-лимфоцитов в патогенезе саркоидоза. Результаты динамических наблюдений совместной активации и функционирования основных популяций не только Т-хелперов, но также и CD8⁺Т-лимфоцитов в периферической крови больных хроническим саркоидозом вносят существенный вклад в по-

нимание клеточных механизмов патогенеза заболевания и возможную оценку его прогноза (затяжное хроническое течение с постепенным формированием фиброза). Для дальнейшей систематизации полученных данных требуются более расширенные клинико-иммунологические сопоставления.

Список литературы / References

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. [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. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2020, Vol. 22, no. 5, pp. 993-1002. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-FOC-2064.
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. [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. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2021, Vol. 23, no. 1, pp. 73-86. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-CCR-2181.
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., Сивокотов И.В., Самсонова М.В., 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. [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 I.E., Terpigorev S.A., Tyurin I.E., Frantsuzovich L.Ya., Chernyaev A.L., Shmelev E.I., Shmeleva N.M. Sarcoidosis: federal clinical guidelines for diagnosis and treatment. *Pulmonologiya = Pulmonologiya*, 2022, Vol. 32, no. 6, pp. 806-833. (In Russ.)]
4. Agostini C., Cassatella M., Zambello R., Trentin L., Gasperini S., Perin A., Piazza F., Siviero M., Facco M., Dziejman M., Chilos M., Qin S., Luster A.D., Semenzato G. Involvement of the IP-10 chemokine in sarcoid granulomatous reactions. *J. Immunol.*, 1998, Vol. 161, no. 11, pp. 6413-6420.
5. 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. *J. Immunol. Res.*, 2021, Vol. 2021, 6654220. doi: 10.1155/2021/6654220.
6. Amber K.T., Bloom R., Mrowietz U., Hertl M. TNF- α : a treatment target or cause of sarcoidosis? *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2015, Vol. 29, no. 11, pp. 2104-2111.
7. Annunziato F., Romagnani C., Romagnani S. The 3 major types of innate and adaptive cell-mediated effector immunity. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2015, Vol. 135, no. 3, pp. 626-635.
8. Antoniou K.M., Tsiligianni I., Kyriakou D., Tzanakis N., Tzouvelekis A., Siafakas N.M., Bouros D. Perforin down-regulation and adhesion molecules activation in pulmonary sarcoidosis: an induced sputum and BAL study. *Chest*, 2006, Vol. 129, no. 6, pp. 1592-1598.
9. 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. *Respir. Med.*, 2020, Vol. 161, 105822. doi: 10.1016/j.rmed.2019.105822.
10. 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. *Eur. Respir. J.*, 2021, Vol. 58, no. 6, 2004079. doi: 10.1183/13993003.04079-2020.
11. Calender A., Weichhart T., Valeyre D., Pacheco Y. Current insights in genetics of sarcoidosis: functional and clinical impacts. *J. Clin. Med.*, 2020, Vol. 9, no. 8, 2633. doi: 10.3390/jcm9082633.
12. 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. *J. Immunol.*, 2001, Vol. 167, no. 3, pp. 1238-1244.
13. Chen C., Luo N., Dai F., Zhou W., Wu X., Zhang J. Advance in pathogenesis of sarcoidosis: Triggers and progression. *Heliyon*, 2024, Vol. 10, no. 5, e27612. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e27612.

14. 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. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2020, Vol. 201, no. 8, pp. e26-e51.
15. 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. *Clin. Exp. Immunol.*, 2021, Vol. 205, no. 3, pp. 406-416.
16. 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 in sarcoidosis. *Diagnostics*, 2024, Vol. 14, no. 7, 709. doi: 10.3390/diagnostics14070709.
17. Esendagli D., Koksall D., Emri S. Recovery of pulmonary and skin lesions of sarcoidosis after thymectomy. *Acta Clin. Belg.*, 2016, Vol. 71, no. 6, pp. 441-443.
18. 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. *J. Leukoc. Biol.*, 2007, Vol. 82, no. 4, pp. 946-955.
19. 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. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 11, 567342. doi: 10.3389/fimmu.2020.567342.
20. Hato T., Yamaguchi M., Sugiyama A., Aoki K., Inoue Y., Fukuda H., Gika M., Higashi M., Nakayama M. Hatched “egg” of thymoma with sarcoidosis. *World J. Surg. Oncol.*, 2019, Vol. 17, no. 1, 151. doi: 10.1186/s12957-019-1696-3.
21. Hauber H.P., Gholami D., Meyer A., Pforte A. Increased interleukin-13 expression in patients with sarcoidosis. *Thorax*, 2003, Vol. 58, no. 6, pp. 519-524.
22. Kamphuis L.S., van Zelm M.C., Lam K.H., Rimmelzwaan G.F., Baarsma G.S., Dik W.A., Thio H.B., van Daele 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? *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2013, Vol. 187, no. 4, pp. 406-416.
23. Kishore A., Petrek M. Next-generation sequencing based HLA typing: Deciphering immunogenetic aspects of sarcoidosis. *Front. Genet.*, 2018, Vol. 9, 503. doi: 10.3389/fgene.2018.00503.
24. Koh C.H., Lee S., Kwak M., Kim B.S., Chung Y. CD8 T-cell subsets: heterogeneity, functions, and therapeutic potential. *Exp. Mol. Med.*, 2023, Vol. 55, no. 11, pp. 2287-2299.
25. 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. *Immunity*, 2023, Vol. 56, no. 2, pp. 289-306.e7.
26. Kudryavtsev I., Benevolenskaya S., Serebriakova M., Grigor'yeva I., Kuvarin E., Rubinstein A., Golovkin A., Kalinina O., Zaikova E., Lapin S., Maslyanskiy A. Circulating CD8⁺ T Cell Subsets in Primary Sjögren's Syndrome. *Biomedicine*, 2023, Vol. 11, no. 10, 2778. doi: 10.3390/biomedicine11102778.
27. 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 CD8⁺ T Cells in Controlling of Tuberculosis Infection. *Diagnostics*, 2023, Vol. 13, no. 18, 2961. doi: 10.3390/diagnostics13182961.
28. 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. *Viruses*, 2022, Vol. 14, no. 9, 1906. doi: 10.3390/v14091906.
29. Kumaresan P.R., da Silva T.A., Kontoyiannis D.P. Methods of controlling invasive fungal infections using CD8⁺ T Cells. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 8, 1939. doi: 10.3389/fimmu.2017.01939.
30. Kurukumbi M., Weir R.L., Kalyanam J., Nasim M., Jayam-Trouth A. Rare association of thymoma, myasthenia gravis and sarcoidosis: a case report. *J. Med. Case Rep.*, 2008, Vol. 2, 245. doi: 10.1186/1752-1947-2-245.
31. 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. *Medical Immunology (Russia)*, 2023, Vol. 25, no. 5, pp. 1049-1058. doi: 10.15789/1563-0625-SCP-2694.
32. 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. *Genes Immun.*, 2013, Vol. 14, no. 1, pp. 13-18.

33. 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. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2019, Vol. 60, no. 1, pp. 84-95.
34. 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. *Nat. Commun.*, 2020, Vol. 11, no. 1, 6357. doi: 10.1038/s41467-020-19002-6.
35. Melani A.S., Simona A., Armati M., d'Alessandro M., Bargagli E. A comprehensive review of sarcoidosis diagnosis and monitoring for the pulmonologist. *Pulm. Ther.*, 2021, Vol. 7, no. 2, pp. 309-324.
36. Miedema J.R., Kaiser Y., Broos C.E., Wijsenbeek M.S., Grunewald J., Kool M. Th17-lineage cells in pulmonary sarcoidosis and Löfgren's syndrome: Friend or foe? *J. Autoimmun.*, 2018, Vol. 87, pp. 82-96.
37. Mittrücker H.W., Visekruna A., Huber M. Heterogeneity in the differentiation and function of CD8⁺ T cells. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 2014, Vol. 62, no. 6, pp. 449-458.
38. Morar R., Duarte R., Wade A.A., Feldman C. HLA class I and class II antigens in sarcoidosis. *S. Afr. Med. J.*, 2022, Vol. 112, no. 12, pp. 904-910.
39. 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. *Respir. Med.*, 2018, Vol. 138S, pp. S38-S44.
40. 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. *Cytokine*, 2013, Vol. 61, no. 3, pp. 906-111.
41. Piotrowski W.J., Młynarski 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 sarcoidosis. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 2014, Vol. 124, no. 7-8, pp. 395-402.
42. Qin S., Chen R., Jiang Y., Zhu H., Chen L., Chen Y., Shen M., Lin X. Multifunctional T cell response in active pulmonary tuberculosis patients. *Int. Immunopharmacol.*, 2021, Vol. 99, 107898. doi: 10.1016/j.intimp.2021.107898.
43. 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. IFN- γ -producing T-helper 17.1 cells are increased in sarcoidosis and are more prevalent than T-helper type 1 cells. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2016, Vol. 193, no. 11, pp. 1281-1291.
44. Romero P., Zippelius A., Kurth I., Pittet M.J., Touvrey C., Iancu E.M., Cortes P., Devereux E., Speiser D.E., Rufer N. Four functionally distinct populations of human effector-memory CD8⁺ T lymphocytes. *J. Immunol.*, 2007, Vol. 178, no. 7, pp. 4112-4119.
45. Rubinstein A., Kudryavtsev I., Arsentieva N., Korobova Z.R., Isakov D., Totolian A.A. CXCR3-Expressing T Cells in Infections and Autoimmunity. *Front. Biosci.*, 2024, Vol. 29, no. 8, 301. doi:10.31083/j.fbl2908301.
46. Rufer N., Zippelius A., Batard P., Pittet M.J., Kurth I., Cortes 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. *Blood*, 2003, Vol. 102, no. 5, pp. 1779-1787.
47. Sakthivel P., Bruder D. Mechanism of granuloma formation in sarcoidosis. *Curr. Opin. Hematol.*, 2017, Vol. 24, no. 1, pp. 59-65.
48. 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. *Hum. Immunol.*, 2018, Vol. 79, no. 1, pp. 63-69.
49. She Y.X., Yu Q.Y., Tang X.X. Role of interleukins in the pathogenesis of pulmonary fibrosis. *Cell Death Discov.*, 2021, Vol. 7, no. 1, 52. doi: 10.1038/s41420-021-00437-9.
50. 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. *Pathophysiology*, 2024, Vol. 31, no. 2, pp. 269-287.
51. 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. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 10, 2933. doi: 10.3389/fimmu.2019.02933.
52. 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. *Rheumatology*, 2012, Vol. 51, no. 1, pp. 37-46.
53. 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. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1993, Vol. 102, no. 3, pp. 242-248.
54. Tøndell A., Moen T., Børset M., Salvesen Ø., Rø A.D., Sue-Chu M. Bronchoalveolar lavage fluid IFN- γ ⁺ Th17 cells and regulatory T cells in pulmonary sarcoidosis. *Mediators Inflamm.*, 2014, Vol. 2014, 438070. doi: 10.1155/2014/438070.

55. Valeyre D., Bernaudin J.F., Brauner M., Nunes H., Jeny F. Infectious Complications of Pulmonary Sarcoidosis. *J. Clin. Med.*, 2024, Vol. 13, no. 2, 342. doi: 10.3390/jcm13020342.
56. 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 linked to asthma exacerbations. *Nat. Commun.*, 2023, Vol. 14, 5137. doi: 10.1038/s41467-023-40820-x.
57. 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 cavitary lesions. *Clin. Dev. Immunol.*, 2011, Vol. 2011, 307631. doi: 10.1155/2011/307631.
58. Zhang H., Costabel U., Dai H. The Role of Diverse Immune Cells in Sarcoidosis. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 788502. doi: 10.3389/fimmu.2021.788502.

Авторы:

Рубинштейн А.А. — младший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Кудрявцев И.В. — к.б.н., заведующий лабораторией клеточной иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия; доцент кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Лазарева Н.М. — к.м.н., заведующая лабораторией молекулярно-генетических исследований клиники, врач клинической лабораторной диагностики ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия

Акишева Т.В. — младший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Баранова О.П. — 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» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Сесь Т.П. — д.б.н., профессор, профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Илькович М.М. — д.м.н., профессор, 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» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Rubinstein A.A., Junior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

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

Lazareva N.M., PhD (Medicine), Head, Clinic's Molecular Genetic Research Laboratory, Clinical Laboratory Diagnostics Physician, Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Federal Medical-Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation

Akischeva T.V., Junior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Baranova O.P., PhD (Medicine), Senior Researcher of the Research Institute of Interstitial and Orphan Diseases, Associate Professor, Department of Pulmonology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Ses' T.P., MD, PhD (Biology), Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Ilkovich M.M., PhD, MD (Medicine), Professor, Director of the Research Institute of Interstitial and Orphan Diseases, Head of the Department of Pulmonology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Тотолян Арег А. — д.м.н., профессор, академик РАН, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии, директор ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; заведующий кафедрой иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

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

Поступила 23.04.2025
Принята к печати 08.06.2025

Received 23.04.2025
Accepted 08.06.2025