

Получена: 04 ноября 2021 / Принята: 20 мая 2022 / Опубликовано online: 30 июня 2022

DOI 10.34689/SH.2022.24.3.018

УДК 616-002.5

ВОЗМОЖНОСТИ ТЕСТОВ АНТИГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ АКТИВНОГО ТУБЕРКУЛЕЗА И ЛАТЕНТНОЙ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

Анель С. Тарабаева¹,

Арайлым А. Абилябаева¹

¹ НАО «Казахский национальный медицинский университет им. С.Д.Асфендиярова», кафедра общей иммунологии, г. Алматы, Республика Казахстан.

Резюме

Введение. В обзоре рассматриваются патогенетически значимые цитокиновые биомаркеры для дифференциальной диагностики латентной туберкулезной инфекции и активного туберкулеза.

Цель: Целью данного обзора является анализ возможностей тестов антиген-специфической продукции цитокинов, помимо теста антиген-специфической продукции интерферона-гамма (IFN- γ), для дифференциальной диагностики активного туберкулеза (АТБ) и латентной туберкулезной инфекции (ЛТИ). Необходимость такого анализа определяется ограниченными возможностями теста антиген-специфического высвобождения IFN- γ (IGRA) для дифференцировки ЛТИ и АТБ.

Стратегия поиска: Обзор был проведен с использованием электронных баз данных (Google Scholar, PubMed, Scopus, Cochrane Library) для выявления публикаций, исследующих возможности тестов антиген-специфической продукции цитокинов в качестве диагностического инструмента для дифференциальной диагностики ЛТИ и АТБ. Глубина поиска составила 15 лет с 2005 по 2020 г. Критериями включения являлись: полнотекстовые публикации, оценивающие антиген-специфическую продукцию одного или нескольких цитокинов как при стимуляции «традиционными» иммунодоминантными антигенами (ESAT-6 и CFP-10) так и другими антигенами *Mycobacterium tuberculosis*, включая фазозависимые. Критериями исключения были: публикации, оценивающие продукцию только одного антиген-специфического IFN- γ ; статьи, в которых лица контрольной группы не были достоверно проверены на наличие ЛТИ; статьи, анализирующие нестимулированную продукцию цитокинов; статьи, в которых не был выявлен дифференцирующий потенциал исследуемых цитокинов.

Результаты: Наиболее изучаемыми цитокинами, как по отдельности, так и в комбинации были IFN- γ , опухоль-некротизирующий фактор альфа (TNF- α), интерлейкин-2 (IL-2), интерферон-индуцируемый белок-10 (IP-10), интерлейкин-13 (IL-13), интерлейкин-10 (IL-10). Различия в полученных результатах, видимо, связаны с использованием различных лабораторных методик оценки уровня антиген-специфической продукции цитокинов (время инкубации, формат считывания результатов, формулы расчета концентрации и т.д.), генетическими особенностями исследуемой популяции, а также, с использованием антигенов *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ), обладающих различной иммунодоминантностью.

Выводы: Несколько цитокинов показали перспективность в качестве фазозависимых биомаркеров для дифференциальной диагностики ЛТИ и АТБ. При этом, использование комбинации цитокинов улучшает диагностику. Для выявления достоверного фазозависимого цитокина необходимо унифицировать подходы к методикам оценки продукции цитокинов и комплексу стимулирующих антигенов МБТ.

Ключевые слова: цитокины, активный туберкулез, латентная туберкулезная инфекция, *Mycobacterium tuberculosis*, иммунодиагностика.

Abstract

POSSIBILITIES OF ANTIGEN-SPECIFIC CYTOKINE RELEASE ESSAYS FOR DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF ACTIVE AND LATENT TUBERCULOSIS INFECTION

Anel Tarabayeva¹,

Arailym Abilbayeva¹

¹ NCJSC «Asfendiyarov Kazakh National Medical University», Department of General Immunology, Almaty, the Republic of Kazakhstan.

Introduction: The review examines pathogenetically significant cytokine biomarkers for differentiating latent tuberculosis infection and active tuberculosis.

Purpose: The purpose of this review is to analyze the capabilities of cytokines antigen-specific release assays, in addition to the interferon-gamma (IFN- γ) release assay, for the differential diagnosis of active tuberculosis (ATB) and latent tuberculosis infection (LTBI). The need for such an analysis is determined by the limited capabilities of the IFN- γ antigen-specific release test (IGRA) for the differentiation of LTBI and ATB.

Methods: The review was conducted using electronic databases (Google Scholar, PubMed, Scopus, Cochrane Library) to identify publications exploring the potential of cytokines antigen-specific release assays as a diagnostic tool for the differential diagnosis of LTBI and ATB. The inclusion criteria were: full-text publications assessing the antigen-specific production of one or more cytokines both upon stimulation with "traditional" immunodominant antigens (ESAT-6 and CFP-10) and other MBT antigens, including phase-dependent ones. The exclusion criteria were: publications evaluating the production of only one antigen-specific IFN- γ ; articles in which controls were not reliably tested for LTBI; articles analyzing unstimulated cytokine production; articles in which the differentiating potential of the studied cytokines was not revealed.

Results: The most studied cytokines, both individually and in combination, were IFN- γ , tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), Interleukin-2 (IL-2), Interferon gamma-induced protein-10 (IP-10), Interleukin-13 (IL-13), Interleukin-10 (IL-10). The differences in the results obtained are apparently related to the use of various laboratory methods for assessing the level of antigen-specific cytokine production (incubation time, reading format, concentration calculation formulas, etc.), genetic characteristics of the studied population, as well as the use of *Mycobacterium tuberculosis* antigens (MBT) with different immunodominance.

Conclusion: Several cytokines have shown promise as phase-dependent biomarkers for the differential diagnosis of LTBI and ATB. At the same time, the use of a combination of cytokines improves the diagnosis. To identify a reliable phase-dependent cytokine, it is necessary to unify approaches to methods for assessing cytokine production and the complex of stimulating MBT antigens.

Key words: cytokines, active tuberculosis, latent tuberculosis infection, *Mycobacterium tuberculosis*, immunodiagnosics.

Түйіндеме

БЕЛСЕНДІ ЖӘНЕ ЖАСЫРЫН ТУБЕРКУЛЕЗДІ ЖҰҚПАНЫҢ ДИФФЕРЕНЦИАЛДЫ ДИАГНОСТИКАСЫ ҮШІН ЦИТОКИНДЕРДІҢ АНТИГЕН-СПЕЦИФИКАЛЫҚ ӨНІМІ БОЙЫНША ТЕСТТЕРДІҢ МҮМКІНДІКТЕРІ

Анель С. Тарабаева¹,

Арайлым А. Абилябаева¹

¹ «С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ Ұлттық медицина университеті» КЕАҚ,
Жалпы иммунология кафедрасы, Алматы қ., Қазақстан Республикасы.

Кіріспе. Бұл шолу мақаласында белсенді және жасырын туберкулезді жұқпаның дифференциалды диагностикасы үшін патогенетикалық маңызды цитокиндік биомаркерлер қарастырылады.

Мақсаты: Бұл шолудың негізгі мақсаты - белсенді туберкулез (БТ) және жасырын туберкулездік жұқпаның (ЖТЖ) дифференциалды диагностикасы үшін интерферон-гамма (IFN- γ) антигенспецификалық өнімі негізіндегі сынамалардан бөлек басқа да цитокиндердің антиген-спецификалық өніміне негізделген сынамалардың мүмкіндіктерін талдау болып табылады. Бұл талдау БТ мен ЖТЖ ажыратуда IFN- γ антигенспецификалық өніміне негізделген сынаманың (IGRA) шектеулі мүмкіндіктеріне байланысты туындап отыр.

Әдістер: Шолу ЖТЖ мен БТ-дің дифференциалды диагностикасы үшін диагностикалық құрал ретіндегі цитокиндердің антиген-спецификалық өніміне негізделген тесттердің мүмкіндіктерін зерттейтін мақалаларды анықтау мақсатында мәліметтердің электронды базасын (Google Scholar, PubMed, Scopus, Cochrane Library) қолдану арқылы жүргізілді. Іздеу тереңдігі 15 жыл, 2005 жылдан бастап 2020 жыл аралығын құрады. Қосу критерийлері: бір немесе бірнеше цитокиндердің дәстүрлі иммунды доминантты антигендермен (ESAT-6 мен CFP-10) және МБТ антигендері, соның ішінде фаза тәуелді антигендермен ынталандырудан кейінгі өнімін бағалайтын толық мәтінді мақалалар. Зерттеуде тек IFN- γ антиген-спецификалық өндірілуі қарастырылған, бақылау тобы жасырын туберкулездік жұқпаға тексерілмеген, цитокиндердің жалпы өнімін талдайтын және зерттеліп отырған цитокиндердің дифференциациялаушы потенциалы анықталмаған мақалалар іздеуден алынып тасталды.

Нәтижелер: Жеке және комбинацияда ең жиі зерттелетін цитокиндерге IFN- γ , ісік некроздаушы фактор альфа (TNF- α), интерлейкин-2 (IL-2), интерферон-индуцирлеуші нәруыз-10 (IP-10), интерлейкин-13 (IL-13), интерлейкин-10 (IL-10) жатады. Алынған нәтижелердегі айырмашылықтар цитокиндердің антиген-спецификалық өндірілу деңгейін бағалаудың әр түрлі зертханалық әдістемелеріне (инкубация уақыты, нәтижелерді есептеу форматы, концентрацияны есептеу формуласы және т.б.), зерттелетін популяцияның генетикалық ерекшеліктеріне, сонымен қатар әр түрлі иммунодоминанттылығы бар *Mycobacterium tuberculosis*-тің (МБТ) антигендерін пайдалануға байланысты болуы мүмкін.

Қорытынды: Бірнеше цитокиндер ЖТЖ мен БТ дифференциалды диагностикасы үшін фазобелсенді биомаркерлер ретінде өз келешегін көрсетті. Сонымен қатар цитокиндердің комбинациясын пайдалану диагностиканы жақсартады. Дәл фазобелсенді цитокинді анықтау үшін цитокиндер өнімін бағалау әдістемелері мен МБТ ынталандырушы антигендер кешеніне арналған тәсілдерді жүйелендіру жасау қажет.

Түйінді сөздер: цитокиндер, белсенді туберкулез, жасырын туберкулездік жұқпа, *Mycobacterium tuberculosis*, иммунды диагностика.

Библиографическая ссылка:

Тарабаева А.С., Абилябаева А.А. Возможности тестов антиген-специфической продукции цитокинов для дифференциальной диагностики активного туберкулеза и латентной туберкулезной инфекции // Наука и Здоровье. 2022. 3(Т.24). С. 147-158. doi 10.34689/SH.2022.24.3.018

Tarabayeva A., Abilybayeva A. Possibilities of antigen-specific cytokine release essays for differential diagnosis of active and latent tuberculosis infection // *Nauka i Zdravookhranenie* [Science & Healthcare]. 2022, (Vol.24) 3, pp. 147-158. doi 10.34689/SH.2022.24.3.018

Тарабаева А.С., Абилябаева А.А. Белсенді және жасырын туберкулезді жұқпаның дифференциалды диагностикасы үшін цитокиндердің антиген-спецификалық өнімі бойынша тесттердің мүмкіндіктері // Ғылым және Денсаулық сақтау. 2022. 3 (Т.24). Б. 147-158. doi 10.34689/SH.2022.24.3.018

Введение

Туберкулез (ТБ) является одним из ведущих причин заболеваемости и смертности во всем мире. В 2019 году в мире заболеваемость ТБ составила 10 миллионов людей, а смертность 1,2 миллиона [68]. В то же время, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), примерно четверть населения мира латентно инфицирована *Mycobacterium tuberculosis*.

При этом считается, что у 5–10% лиц с латентной туберкулезной инфекцией (ЛТИ) разовьется активный туберкулез (АТБ) в течение жизни, особенно на фоне ослабленной иммунной системы.

Houben J. с соавторами путем математического моделирования спрогнозировали ситуацию с ЛТИ до 2050 г. Так, в 2014 г, примерно 1,7 миллиарда человек во всем мире были латентно инфицированы *M. tuberculosis*, что составляет чуть менее четверти населения мира. При этом, регионы Юго-Восточной Азии, Западной части Тихого океана и Африки имели самый высокий уровень распространенности, и на них приходилось около 80% больных ЛТИ. Авторы ожидают, что один только случай ЛТИ, при условии отсутствия дополнительных инфекций с 2015 года и далее, приведет к возникновению заболеваемости ТБ в районе 16,5 на 100 000 в год в 2035 году и 8,3 на 100 000 в год в 2050 году [23].

В 2020 г ситуация осложнилась пандемией COVID-19, которая, как прогнозируется, будет оказывать негативное влияние на ситуацию с туберкулезом в долгосрочной перспективе [10]. Предотвратить увеличение бремени ТБ в долгосрочной перспективе можно за счет дополнительной «наверстывающей» выявляемости и своевременного лечения случаев ТБ после снятия ограничений.

Традиционная туберкулиновая кожная проба (ТКП) [72] и анализ высвобождения гамма-интерферона (IGRA) [15] могут помочь в диагностике ЛТИ. IGRA представляет собой анализ крови, который определяет секрецию интерферона-гамма (IFN- γ) клетками крови после их стимуляции различными антигенами *M. tuberculosis*. На сегодняшний день ВОЗ рекомендует к использованию квантифероновый тест (QuantiferON-TB), определяющий продукцию IFN- γ после стимуляции наиболее изученными растворимыми антигенами *M. tuberculosis*, такими как ESAT-6 и SFP-10.

В то же время у этих тестов есть ряд серьезных ограничений. Так, например, на результат ТКП могут повлиять как предшествующая вакцинация БЦЖ, что приведет к ложноположительному результату, так и

другие факторы (иммуносупрессия, недоедание и тд), что даст ложноотрицательный результат [72].

В отличие от ТКП предыдущая вакцинация БЦЖ не влияет на эффективность IGRA, так как антигены ESAT-6 и SFP-10 отсутствуют в БЦЖ [22, 41]. В то же время, показано, что этот тест обладает более низкой чувствительностью у детей, особенно в возрасте до пяти лет [12, 60].

Более того, поскольку IFN- γ продуцируется как полностью «отдохнувшими», так и недавно активированными популяциями Т-клеток памяти, измерение одного только этого цитокина не способно отличить лица с ЛТИ от больных с активным инфекционным процессом [63]. Таким образом, оба теста (ТКП и IGRA) не могут дифференцировать ЛТИ и АТБ [49, 53, 22]. Этот факт значительно снижает диагностическую ценность этих тестов, особенно, в эндемичных по туберкулезу странах. Так, например, при наличии клинических проявлений, таких как кашель, лихорадка, усталость, потеря веса, эти тесты могут быть положительными, как у больного ТБ, так и у лиц с ЛТИ с интеркуррентной нетуберкулезной инфекцией. При этом, дифференцировка этих состояний крайне важна для определения своевременной тактики терапии [49].

В связи с этим, «Стратегия борьбы с туберкулезом» Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) декларирует разработку новых диагностических тестов для устранения недостатков существующих тестов, чтобы обеспечить более точную диагностику как ЛТИ, так и АТБ [69].

На текущий момент, усилия исследователей по улучшению диагностики ТБ направлены на изучение возможностей использования других антигенов МБТ в тестах антигенспецифической продукции цитокинов, а также других цитокинов, участвующих в патогенезе ТБ.

Что касается «новых» антигенов МБТ, то с завершением секвенирования генома МБТ, был выявлен ряд антигенов МБТ, активация которых зависит от метаболического состояния возбудителя, связанного с неблагоприятным фоном окружающей среды, в первую очередь, с гипоксией. Это позволило сформулировать концепцию фазозависимых антигенов, способствующих как развитию «спящего» состояния МБТ, так и их активации [1].

Роль цитокинов в патогенезе туберкулеза

В настоящее время известен широкий спектр субпопуляций Т-хелперов (Th), отличающихся набором продуцируемых цитокинов и хемокинов. Наиболее изученными являются Th1, продуцирующие, в основном

IFN- γ , интерлейкин-2 (IL-2), факторы некроза опухолей (TNF- α /TNF- β) и Th2, продуцирующие IL-4, IL-5, IL-13. Роль Th1 в патогенезе ТБ не вызывает сомнения. Показано, что мыши, дефицитные по цитокинам Th1, в частности по IFN- γ , IL-12p40, рано умирают от инфекции МБТ с высокой бактериальной нагрузкой. В то же время, следует отметить, что IFN- γ недостаточно для осуществления контроля над МБТ, так как, как мыши с нормальным уровнем IFN- γ , но, дефицитные по TNF- α , гранулоцитарно-макрофагальному колониестимулирующему фактору (GM-CSF), IL-1 или IL-6 также умирают от ТБ [74]. Значение Th2 в патогенезе ТБ менее благоприятно. Показано, что IL-4 и IL-13 могут снижать Th1-опосредованный иммунитет и вызывать неадекватную активацию макрофагов. Более того, IL-4 вызывает нарушение антимикробной активности из-за снижения TNF- α -опосредованного апоптоза инфицированных клеток [52].

При этом, в последние годы обнаружены другие субпопуляции Т-хелперов, такие как Th9, преимущественно синтезирующие IL-9, фолликулярные Т-хелперы (Tfh), преимущественно продуцирующие IL-21 и активирующие В-лимфоциты, а также Th17, продуцирующие IL-17, IL -22 и IL -26 и участвующие в защите слизистых оболочек, в частности от *Mycobacterium tuberculosis* [19, 33].

Таким образом, многогранность регуляции цитокиновой сети при ТБ определяет как трансформацию ЛТИ в АТБ, так и формирование различных форм ТБ.

Поэтому, обнаружение таких цитокинов, которые также условно можно обозначить как фазозависимые, а также оценка их диагностических возможностей в комплексе с фазозависимыми антигенами, может значительно повысить точность диагностики туберкулеза, как в состоянии ЛТИ, так и АТБ.

Целью данного обзора является анализ возможностей использования тестов антиген-специфической продукции различных цитокинов, помимо теста антиген-специфической продукции интерферона-гамма (IFN- γ), для дифференциальной диагностики активного туберкулеза (АТБ) и латентной туберкулезной инфекции (ЛТИ). Необходимость поиска таких тестов определяется ограниченными возможностями теста антиген-специфического

высвобождения IFN- γ (IGRA) для дифференциальной диагностики ЛТИ и АТБ.

Стратегия поиска. Поиск публикаций за период с 2005 по 2020 проводился в Google Scholar, PubMed, Scopus, Cochrane Library. При проведении поиска использовались следующие ключевые слова: цитокины (cytokines), активный туберкулез (active TB, АТБ), латентная туберкулезная инфекция (LTBI), *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ), ESAT-6, CFP-10, TB 7.7, AlaDH, PPD, IFN- γ , IL-2, TNF- α , IP-10, IL-10, MIP-1 β в различных комбинациях. В анализ были включены только полнотекстовые статьи.

Критерии исключения:

- публикации, оценивающие продукцию только одного антиген-специфического IFN- γ , так как отсутствие дифференциального потенциала данного цитокина уже было показано ранее.
- статьи, в которых лица контрольной группы не были проверены на наличие ЛТИ
- статьи, анализирующие общую, а не специфическую продукцию цитокинов
- статьи, в которых не был выявлен дифференцирующий потенциал исследуемых цитокинов

Критериями включения в анализ были публикации, оценивающие продукцию одного или нескольких цитокинов. Если оценка IFN- γ входила в комплексное исследование цитокинов, эти статьи также включались в анализ. Также в анализ были включены статьи, изучающие в качестве антигенов не только «традиционные иммунодоминантные антигены, такие как ESAT-6 и CFP-10, но, и другие антигены МБТ, в том числе и фазозависимые (рисунок 1).

Исключений по методам оценки уровня антиген-специфической продукции цитокинов не было.

В обзор включено 74 публикации, на основе 57 из них произведен анализ потенциала различных цитокинов для дифференциальной диагностики АТБ и ЛТИ, изложенный в главе: «Антиген-специфическая продукция цитокинов». Данные 17 публикаций были систематизированы по главам: «Введение», «Роль цитокинов в патогенезе туберкулеза», «Методы оценки уровня антиген-специфической продукции цитокинов», «Дискуссия».

Алгоритм исключения публикаций из анализа представлен на рисунке 1.



Рисунок 1. Блок-схема литературного обзора.

Результаты исследования

Методы оценки уровня антиген-специфической продукции цитокинов.

В настоящее время, в исследованиях используются различные лабораторные методы оценки уровня антиген-специфической продукции цитокинов после стимуляции клеток антигенами *Mycobacterium tuberculosis*.

Иммуноферментный анализ (ELISA) в настоящее время является традиционным и наиболее используемым методом для определения цитокинов в различных жидкостях организма. Однако, недостатками традиционного ELISA являются технические сложности, длительное время измерения и большой расход образцов. Для устранения этих недостатков предложен метод иммуноферментного анализа (ИФА) на основе капилляров, который сокращает время измерения до 16 минут, уменьшая объем образца до 20 мкл [59].

В последние годы все активнее стали использовать мультиплексный иммунный анализ, в основе которых лежит "сэндвич"-метод в разных комбинациях (*FAST Quant, Search Light и xMAP*) [2]. При использовании мультиплексной технологии можно измерить несколько цитокинов одновременно в небольшом образце за короткое время, используя специально подготовленные микросферы размером в сотни микрометров [34].

Другим методом модификации ELISA является формат ELISPOT, представляющий гибрид метода индукции синтеза цитокинов в культуре и обычного ИФА. Отличием является то, что происходит стимулирование не цельной крови, а выделенной культуры клеток. При этом, клетки, находящиеся на дне планшета, синтезируют цитокины, которые связываются с сорбированными на пластике антителами. Таким образом, цитокин соединяется с сорбированными антителами в тех местах, где его синтезировали клетки, после чего образуется нерастворимый цветной субстрат ферментативной реакции. В результате на дне планшета образуются окрашенные пятна.

Технология FluoroSpot использует селективные фильтры для эмиссии, которые могут анализировать каждый компонент отдельно, а затем идентифицировать пятна с двойным и тройным окрашиванием. Таким образом, можно обнаруживать два или три цитокина одновременно с высокой чувствительностью и специфичностью [16].

Также, используют методы проточной цитометрии в сочетании с оценкой продукции цитокинов [5] и определение экспрессии генов цитокинов в клетках-продуцентах по накоплению мРНК методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (RT-PCR) [2].

Антиген-специфическая продукция цитокинов. IFN- γ в комбинации с другими цитокинами.

Несмотря на то, что IFN- γ является одним из важнейших провоспалительных цитокинов, участвующих в патогенезе туберкулеза, большинство исследований свидетельствуют об отсутствии дифференцирующего потенциала у этого цитокина. Тем не менее, несколько публикаций выявляют дифференциальный потенциал этого цитокина между ЛТИ и АТБ.

Стимуляция «классическими» секреторными иммунодоминантными антигенами ESAT-6 и SFP-10.

Мы нашли 11 публикаций, анализирующих уровень продукции антигенспецифического IFN- γ в комплексе с другими цитокинами при стимуляции классическими секреторными антигенами. При этом, полученные данные имеют разнонаправленный характер. Так, например, имеется несколько свидетельств более низкой продукции антиген-специфического IFN- γ при АТБ по сравнению с ЛТИ [39, 47, 25, 36, 62, 30, 31, 70, 26]. В частности, в исследованиях *Nonghanphithak D.* с соавторами было показано, что комбинация IFN- γ с хемокином CXCL10 значительно улучшает потенциал теста для дифференцировки АТБ с ЛТИ [47]. Комбинация IFN- γ , IL-2, IL-3, IP-10 и эндотелиального сосудистого фактора роста (VEGF) значительно отличалась при АТБ и ЛТИ в исследованиях *Won E.J.* с соавторами [70]. Больные легочным туберкулезом показали значительно более низкую антиген-специфическую продукцию цитокинов 1 типа (IFN γ , TNF α и IL-2) по сравнению с ЛТИ [39]. *Kamakia R.* с соавторами показали, что комплекс цитокинов, включая IFN- γ (IL-17F, макрофагальный воспалительный белок 3 альфа (MIP-3 α), IL-13, IL-17A, IL-5, IL-9, IL-1 β и IL-2) значительно выше продуцируются при ЛТИ по сравнению с больными туберкулезом в активной форме [30].

При этом, исследование *Kassa D.* включало больных с вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) [31], а исследование *Jenut S.* было проведено на детях [26].

В то же время, другими исследователями, наоборот, была выявлена более высокая продукция IFN- γ при АТБ [9, 56, 5, 27, 58, 54]. Так, исследование клеточного иммунитета и продукции IFN- γ в комплексе с другими цитокинами (IP-10, MIP-1 β , IL-2, TNF- α , IL-6 и GM-CSF) показало значительно более высокую активность этих компонентов при АТБ по сравнению с ЛТИ [5]. В исследованиях *Jeong Y.H.* с соавторами было показано, что целый ряд антиген-специфических цитокинов активнее продуцируется при АТБ. При этом, митоген-специфическая продукция этих цитокинов выше при ЛТИ. При подсчете соотношения антиген-специфического и митоген-специфического ответа комплекс IFN- γ с IL-2, IL-6, IL-10, IL-13, TNF- α и монокин, индуцируемый IFN- γ (MIG) показал дифференцирующий потенциал [27]. Аналогичные результаты, полученные *Suzukawa M.* с соавторами, также выявили повышенную антиген-специфическую продукцию IFN- γ в комплексе с IL-2, IL-5, IL-10, IL-1RA и моноцитарным хемоаттрактантным протеином-1 (MCP-1) у больных АТБ [58].

Следует отметить, что, большинство исследований проводилось в регионах с повышенной ТБ нагрузкой. При этом, в части исследований использовалась пролонгированная инкубация клеток с антигенами [56, 5, 39, 25, 62, 31, 3, 45].

Отдельно хотим отметить публикацию *Kim S.* с соавторами, которые изучали экспрессию генов цитокинов, включая IFN- γ , по накоплению мРНК [35].

IL-2

IL-2, наряду с IFN- γ , является одним из основных цитокинов, продуцируемых CD-4⁺ Т-лимфоцитами, которые мигрируют к очагу инфекции, сталкиваются с агрегатами макрофагов, содержащими *M. tuberculosis*, и

вместе с другими иммунными клетками образуют плотную клеточную структуру, называемую гранулемой. CD4⁺ Т-клетки секретируют цитокины, которые активируют инфицированные макрофаги для контроля роста бактерий и привлечения иммунных клеток к грануле. При этом происходит прогрессирующая дифференцировка специфических CD4⁺ Т-клеток в направлении от центральных Т-клеток памяти, которые секретируют IL-2 к Т-эффекторам, которые секретируют преимущественно IFN- γ [13].

Понимание роли IL-2 в патогенезе туберкулеза способствовало формированию интереса исследователей к этому цитокину в качестве биомаркера туберкулеза.

Стимуляция «классическими» секреторными иммунодоминантными антигенами ESAT-6 и SFP-10

Что касается возможностей IL-2 в дифференциальной диагностике ЛТИ и АТБ, то мы нашли 11 публикаций на эту тему, причем, большинство исследований свидетельствуют о более низкой продукции этого цитокина при АТБ по сравнению с ЛТИ [56, 38, 38, 4, 30, 70, 3, 43]. Было выявлено, что обнаружение IL-2 в дополнение к IFN- γ в тесте QuantiFERON-TB способствует дифференцировке лиц с ЛТИ от больных туберкулезом в активной форме. В связи с этим, предлагается определение соотношения IL-2/IFN- γ для дифференциальной диагностики АТБ от ЛТИ [4]. Дифференциальный потенциал соотношения IL-2/IFN- γ в дальнейшем также активно изучался другими авторами. Так, *Won E.J. с соавторами*, изучая комбинации 29 цитокинов, выделили это соотношение в качестве маркера для дифференцировки АТБ и ЛТИ [70]. Интересным являются результаты, полученные *Kumar N.P с соавторами*. Исследователи показали не только снижение уровней циркулирующих IL-2, IL-7 и IL-21 у лиц с АТБ по сравнению с индивидуумами с ЛТИ или здоровыми лицами, но, и пониженные уровни общей γ -цепи IL-2, IL-7, IL-15, IL-21, которая играет решающую роль поддержке пролиферации и выживания Т-клеток при активации иммунного ответа [37].

Исследования *Balcells M.E. с соавторами* выявили дифференцирующий потенциал IL-2 в комплексе с GM-CSF при длительной 72-часовой инкубации клеток с антигенами [3].

Аналогичные результаты были получены *Lighter-Fisher J. с соавторами* при исследовании антиген-специфической продукции IL-2 на детях [43], а *Wang S. с соавторами* подтвердили аналогичные данные в популяции вакцинированной БЦЖ [65].

В то же время, имеется ряд исследований, показывающих более высокую продукцию IL-2 при АТБ [14, 5, 27, 55]. Так, *Borgstrom E. с соавторами*, изучая количество лимфобластов после стимуляции крови ESAT-6 и SFP-10 антигенами методом проточной цитометрии в комбинации с мультиплексным анализом продукции цитокинов, также обнаружили повышенную продукцию IL-2, наряду с другими цитокинами, при АТБ [5]. Аналогичные данные были получены при использовании квантиферонового теста с дополнительным определением других цитокинов, включающих IL-2 [27]. При этом, *Sudbury E.L. с*

соавторами получили аналогичные данные у детей в эндемичном по ТБ регионе [55]. Исследование IL-2 в комбинации с другими цитокинами, также был показан в исследованиях *Suzukawa M. с соавторами* [58].

Стимуляция другими антигенами M. Tuberculosis

Интересными также являются исследования антигенспецифической продукции IL-2 другими антигенами *M. tuberculosis*, в частности, PPD (очищенное производное белка) [56]. Так, стимулированное PPD соотношение IL-2/IFN- γ показало потенциал для дифференциальной диагностики ЛТИ и АТБ, в отличие от аналогичного показателя при стимуляции ESAT-6 и SFP-10 антигенами, которые, при этом, демонстрировали дискриминационный потенциал между ЛТИ и неинфицированным контролем. Аналогичные результаты были получены при применении технологии T-SPOT. В исследованиях *Wu J. с соавторами*, стимулированное PPD соотношение IL-2/IFN- γ у пациентов с ЛТИ было значительно выше, чем у пациентов с АТБ [71].

PPD в качестве стимулирующего антигена также показал более обещающий дискриминационный потенциал у детей при оценке антиген-специфической продукции IL-2 [43].

При анализе 48 белков *La Manna M.P. с соавторами* выявили повышенную продукцию комбинации 13 белков, включающей IL-2, при АТБ [42].

Интересными также являются исследования антиген-специфической продукции IL-2 при стимуляции антигеном аланиндегидрогеназой (AlaDH). Известно, что микобактериальные аланиндегидрогеназы являются ферментами, необходимыми для использования аланина в качестве источника азота и помогают микобактериям выжить в условиях ингибирования дыхания [28]. Поскольку этот антиген отсутствует в *M. bovis* и в БЦЖ, он, наряду с ESAT-6 и SFP-10 может быть стимулятором выработки цитокинов для дифференцировки активного ТБ и ЛТИ. Исследований антиген-специфической продукции IL-2 при стимуляции AlaDH пока мало и их результаты носят противоречивый характер. Так, *Movahedi B. с соавторами* выявили более высокую продукцию этого цитокина при ЛТИ [46], в то время как, *Della Bella C., с соавторами* получили противоположные данные [14]. Дифференцирующий потенциал IL-2 при стимуляции AlaDH также был выявлен у детей [9].

Интерферон-индуцируемый белок-10 (IP-10)

Интерферон-индуцируемый белок-10, в основном, продуцируется моноцитами и макрофагами и привлекает Th1-клетки в очаги воспаления посредством воздействия с хемокиновыми рецепторами [18]. В частности, повышенный уровень IP-10 белка был выявлен в плевральном выпоте и легочной грануле при туберкулезе [48].

Стимуляция «классическими» секреторными иммунодоминантными антигенами ESAT-6 и SFP-10

Что касается потенциала данного цитокина в дифференциальной диагностике ЛТИ и АТБ, то здесь информация тоже противоречива. Имеются исследования, которые свидетельствуют о более высокой продукции IP-10 белка при АТБ по сравнению с ЛТИ [5, 27]. Так, например, в исследовании *Borgstrom E.*

с соавторами [5] было выявлено, что IP-10 белок был повышен у всех пациентов с АТБ после стимуляции ESAT-6/CFP-10. При этом, он был единственным маркером из 14 цитокинов, который показал наибольшую чувствительность при выявлении АТБ по сравнению с IFN- γ . Также было показано, что соотношение уровня IP-10 белка при антиген-специфической и митоген-индуцированной стимуляции показало наибольшую точность в дифференциальной диагностике ЛТИ и АТБ [27]. *Comella-Del-Barrio P. с соавторами* изучали дискриминационный потенциал 13 цитокинов и некоторых других белков и выявили, что комбинация IP-10 белка с IFN- γ , ферритином и 25-гидроксивитамином D показала наилучший потенциал для дифференцировки ЛТИ и АТБ у детей [11].

В то же время, в исследовании *Petrone L. с соавторами* более высокая антиген-специфическая продукция IP-10 белка отмечалась у лиц с ЛТИ по сравнению с больными ТБ [50]. Аналогичные данные были получены *You E. с соавторами* [73].

IP-10 у иммунокомпрометированных лиц

Отдельно можно выделить исследования *Wergeland I. с соавторами*, которые изучали антиген-специфическую продукцию этого хемокина в условиях иммунокомпрометации и его изменения в динамике. Было показано, что IP-10 способен дифференцировать активный ТБ от ЛТИ независимо от ВИЧ-инфекции и его продукция снижается на фоне противотуберкулезной терапии [67].

Опухоль-некротизирующий фактор альфа (TNF- α)

Опухоль-некротизирующий фактор альфа является провоспалительным цитокином и играет важную роль в формировании гранулематозной реакции при туберкулезе. Также, показано, что уровень TNF- α в бронхоальвеолярной жидкости больных туберкулезом значительно выше по сравнению с больными другими легочными заболеваниями и здоровыми лицами [40]. Роль TNF- α в патогенезе туберкулеза подтверждается также тем, что при использовании таргетной терапии против TNF- α при лечении аутоиммунных заболеваний происходит реактивация туберкулезного процесса [6].

Стимуляция «классическими» секреторными иммунодоминантными антигенами ESAT-6 и SFP-10

Результаты большинства исследований, посвященных изучению данного маркера, выявляют более высокую продукцию TNF- α при АТБ по сравнению с латентным инфицированием [5, 36, 27, 57, 37, 66, 21, 61]. Так, в частности, комбинированная оценка трех цитокинов (TNF- α , IL-12 и IL-17) после стимуляции антигеном TB10.4 способствовала улучшению дифференциальной диагностики ЛТИ и АТБ [57]. Также было показано, что комбинированное использование IGRA и TARA (тест высвобождения TNF- α) существенно повысило специфичность теста при АТБ [37]. *Tehruegge M. с соавторами* при изучении 7 цитокинов в мультиплексном анализе выявили, что антиген-специфическая продукция TNF- α , IL-1PA и IL-10 обладает способностью дифференцировать ЛТИ и АТБ в квантифероновом тесте, а также при стимуляции PPD [61].

При этом, имеются противоположные результаты оценки специфической продукции TNF- α при

туберкулезе. Так, в исследованиях *Kumar N.P. с соавторами* выявили сниженную продукцию цитокинов Th-1, таких как IFN- γ , TNF- α и IL-2 при стимуляции ESAT-6 и CFP-10 антигенами в мультиплексном анализе при легочном туберкулезе [38].

TNF- α у детей.

Этот цитокин показал также хороший дискриминационный потенциал для детского возраста. Было показано, что соотношение TNF- α /IL-2 может использоваться для дифференциальной диагностики ЛТИ и АТБ у детей без признаков иммунодефицита [21].

IL-10

Интерлейкин-10 является противовоспалительным цитокином, который оказывает негативное влияние на эффективную защиту от МБТ, способствуя трансформации активации инфекции при ЛТИ. Он вырабатывается многими клетками, в первую очередь, Th2 и подавляет активность Th1, а также макрофагов и дендритных клеток, которые играют ведущую роль в захвате патогена и активации иммунного ответа. Таким образом, IL-10 осуществляет антибактериальный контроль на всем протяжении иммунного ответа (от врожденного до адаптивного). Предполагается, что он помогает МБТ обходить защитные реакции иммунной системы и таким образом способствует персистенции инфекции в легких [51].

Стимуляция «классическими» секреторными иммунодоминантными антигенами ESAT-6 и SFP-10

Большинство исследований, посвященных оценке диагностического потенциала данного цитокина, выявляют снижение его продукции при АТБ, что следует логике механизмов противотуберкулезной защиты [73, 58, 31]. Так, например, при исследовании 27 цитокинов в квантифероновом тесте *Suzukawa M. с соавторами* выявили, что IL-10 может служить дискриминационным маркером в комбинации с другими цитокинами [58]. Аналогичные данные были получены в исследовании *You E. с соавторами* [73].

При этом, несколько исследователей нашли более высокую продукцию этого цитокина при АТБ [27, 25]. Так, в частности, *Jeong Y.H. с соавторами* выявили наиболее выраженный дифференцирующий потенциал IL-10 по сравнению с другими цитокинами [27]. Также, было выявлено, что соотношение IFN- γ / IL-10 связано с ранжированием заболевания по степени тяжести, в связи с чем, этот маркер предлагается использовать для оценки тяжести как легочного, так и внелегочного туберкулеза [25].

Стимуляция другими антигенами M. Tuberculosis

Исследованиями *Hug Y.G. с соавторами* показано, что соотношение IFN- γ / IL-10 и IFN- γ / IL-17 в ответ PPD были значительно выше у больных туберкулезом по сравнению с супругами. При этом, корреляция с туберкулиновым кожным тестом не отмечалась [24].

IL-10 у иммунокомпрометированных лиц

Интересным является исследование *Kassa D. с соавторами*, которые изучали влияние ВИЧ-инфекции, а также антиретровирусной и противотуберкулезной терапии на антиген-специфическую продукцию цитокинов. Было показано, что уровень продукции IL-10 может быть не только дискриминационным маркером ЛТИ и АТБ, но и может быть использован для контроля

реакции на антиретровирусную и противотуберкулезную терапию [31].

Антагонист рецептора IL-1 (IL-1ra)

Антагонист рецептора IL-1 является противовоспалительным белком, который, связываясь с рецептором мощного провоспалительного цитокина IL-1 на мембране клеток, препятствует активации внутриклеточных сигнальных путей этого цитокина [29].

Стимуляция «классическими» секреторными иммунодоминантными антигенами ESAT-6 и SFP-10

Что касается возможностей этого цитокина дифференцировать ЛТИ и АТБ, то исследователи в основном выявляют повышенную продукцию IL-1ra при АТБ по сравнению с ЛТИ [58, 20, 61, 55]. Так, *Tebruegge M. с соавторами* выявили, что IL-1ra в сочетании с TNF- α и IL-10 может быть использована для дифференциальной диагностики ЛТИ и АТБ, причем, эффективность комбинации TNF- α и IL-1ra достигалась в 95% случаев [32]. Также, *Suzukawa M. с соавторами* [58] и *Frahm M. с соавторами* [20] выявили дифференцирующий потенциал IL-1ra в комплексе с другими цитокинами.

IL-1ra у детей

Аналогичные данные были получены *Sudbury E.L. с соавторами* при исследовании 237 детей в отношении TNF- α и IL-1ra в эндемичном регионе [36].

IFN-индуцибельный α -хемоаттрактант Т-клеток (I-TAC)

Синтез I-TAC регулируется интерфероном и обладает мощной хемоаттрактантной активностью по отношению активированных IL-2 Т-клеток. При оценке антиген-специфической продукции этого белка было выявлено его повышенная продукция при АТБ по сравнению как с ЛТИ, так и со здоровыми лицами [9]. Аналогичные данные были получены *Jeong Y.H. с соавторами* при мультиплексном анализе по технологии CBA (cytometric bead array) при анализе 11 патогенетически значимых белков [27].

Макрофагальный белок воспаления 1 β (MIP-1 β)

Макрофагальный белок воспаления 1 β относится к семейству хемокинов и продуцируется в основном макрофагами и моноцитами после их стимуляции в первую очередь бактериальными эндотоксинами и другими провоспалительными цитокинами. MIP-1 β , наряду с IL-2 и IFN- γ играет ведущую роль в противотуберкулезной защите [44]. В то же время, дискриминационный потенциал этого цитокина пока мало изучен. Так, например, *Borgstrom E. с соавторами* выявили повышенную продукцию этого цитокина при АТБ [5], в то время как, *Won E.J. с соавторами* показали повышение его продукции при ЛТИ [70] на антигены ESAT-6 и SFP-10. Возможно, такая противоречивость результатов связана с тем, что *Borgstrom E. с соавторами* [5] применяли пролонгированную инкубацию антигенов с клетками крови (от 3 до 7 дней).

Обсуждение

Противоречивость полученных данных по представленным цитокинам связана с множеством факторов, влияющих на развитие туберкулеза. В первую очередь к ним относятся вирулентность и иммунодоминантность штаммов МБТ, их способность к

адаптации в неблагоприятных условиях, генетическая особенность хозяина, особенности его иммунного реагирования. Иммунологические механизмы, участвующие в защите от МБТ после инфицирования и приводящие к латентному течению или прогрессированию в активную форму до сих пор еще полностью не изучены. После инфицирования МБТ начальный иммунный ответ заключается в продукции провоспалительных цитокинов, в первую очередь, TNF- α , IFN- γ и IL-2 Т-хелперами 1 типа. Как уже отмечалось ранее, антиген-специфический IFN- γ не может дифференцировать ЛТИ и АТБ. Что касается отдельно взятого IL-2 то, на сегодняшний день, данные разнятся. Однако, ряд исследований свидетельствует об усилении дифференцирующего потенциала этих цитокинов при оценке соотношения IL-2 / IFN- γ [65, 4, 7].

При этом, роль IL-4, IL-5, IL-10, IL-6, IL-9 и др, синтезируемых Th2 и Th17 изучена в меньшей степени. Предполагается, что их продукция, отражает неадекватный иммунный ответ к возбудителю и повышенную вероятность прогрессирования заболевания в активную форму. Было показано, что IL-10 может подавлять продукцию IFN- γ , и тем самым, способствовать трансформации ЛТИ в АТБ. Также, было выявлено, что снижение экспрессии IL-10 приводит к подавлению иммунитета Th1 у больных АТБ [71].

Обещающими также являются данные по хемокину IP-10, который стимулирует активацию Th1 и синтез IFN- γ , привлекает моноциты и активированные лимфоциты в очаги воспаления, а также, способствует некрозу туберкулезных гранулем [17, 50, 64].

Также следует отметить перспективность IL-5 и IL-13 для дифференциальной диагностики активного ТБ и ЛТИ.

Для повышения диагностической ценности теста оправданным оказался подход с применением комбинации нескольких цитокинов, так как итоговая интенсивность иммунного ответа определяется не одним цитокином, а целым комплексом сложных взаиморегулирующих механизмов.

Другим фактором, влияющим на получаемые результаты, видимо, является факт применения в качестве стимулирующих белков, так называемых фазозависимых антигенов МБТ, которые экспрессируются возбудителем с различной интенсивностью в зависимости от условий окружающей среды (изменение метаболизма, гипоксия и др), способствуют адаптации микроорганизма к этим изменениям, а также определяют его переход из спящего состояния в фазу репликации. Оценка дискриминирующего потенциала антиген-специфической продукции цитокинов при стимуляции фазозависимыми антигенами требует отдельного анализа.

Интересными являются исследования с использованием антигена AlaDH в качестве стимулятора. Этот антиген не только отсутствует в *M. bovis* и в БЦЖ и высоко специфичен к МБТ, но, и условно может быть отнесен к фазозависимым антигенам. Исследования показывают, что антиген AlaDH лучше по сравнению с другими МБТ-

специфическими антигенами и PPD, особенно в отношении продукции IL-2. Однако, небольшое число публикаций и разнонаправленность полученных данных пока не позволяют сделать однозначный вывод о перспективах использования этого антигена.

Необходимо также учитывать влияние ослабленного иммунитета (коинфекция с ВИЧ и другие ятрогенные причины), наличие сопутствующих заболеваний, этническое происхождение исследуемой группы, сроки инкубации клеток с антигеном и т.д. на результаты тестов, чтобы понять дискриминационные возможности и ограничения данного подхода.

Вывод: на сегодняшний день нет единого мнения о том, можно ли использовать антиген-специфическую продукцию цитокинов для дифференцировки ЛТИ и АТБ, однако, не исключено, что дальнейшее изучение механизмов цитокиновой регуляции в патогенезе туберкулеза позволит говорить о фазо-зависимых цитокинах, что будет способствовать разработке эффективного теста для такой дифференцировки.

Конфликт интересов. Не заявлен.

Вклад авторов:

Тарабаева А.С. – концепция, написание и редактирование

Абильбаева А. А. – сбор литературы, систематизация источников, написание статьи

Финансирование. Сторонними организациями финансирование не осуществлялось.

Авторы заявляют, что ни один из блоков данной статьи не был опубликован в открытой печати и не находится на рассмотрении в других издательствах.

Литература:

1. Литвинов В.И. «Дремлющие» микобактерии, дормантные локусы, латентная туберкулезная инфекция // Туберкулез и социально значимые заболевания. 2016. № 2. С. 5-13.
2. Симбирцев А.С., Тоголян А.А. Цитокины в лабораторной диагностике // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2015. №2. С.82-98.
3. Balcells M.E., Ruiz-Tagle C., Tiznado C., Garcia P., Naves R. Diagnostic performance of GM-CSF and IL-2 in response to long-term specific-antigen cell stimulation in patients with active and latent tuberculosis infection // Tuberculosis. 2018. V.112. P. 110-119.
4. Biselli R., Mariotti S., Sargentini V., Sauzullo I., Lastilla M., Mengoni F., Vanini V., Girardi E., Goletti D., D'Amelio R. Detection of interleukin-2 in addition to interferon-gamma discriminates active tuberculosis patients, latently infected individuals, and controls // Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2010. Vol.16. №8. P. 1282-1284.
5. Borgstrom E., Andersen P., Atterfelt F., Julander I., Kallenius G., Maeurer M., Rosenkrands I., Widfeldt M., Bruchfeld J., Gaines H. Immune responses to ESAT-6 and CFP-10 by FASCIA and multiplex technology for diagnosis of M. tuberculosis infection; IP-10 is a promising marker // PLoS ONE. 2012. Vol.7, №11. P. e43438. doi: 10.1371/journal.pone.0043438.
6. Cantini F., Nannini C., Niccoli L., Petrone L., Ippolito G., Goletti D. Risk of Tuberculosis Reactivation in Patients with Rheumatoid Arthritis, Ankylosing Spondylitis, and Psoriatic Arthritis Receiving Non-Anti-TNF-Targeted Biologics // Mediators Inflamm. 2017. Vol. 2017. P.e8909834. doi: 10.1155/2017/8909834.
7. Chegou N.N., Detjen A.K., Thiar L., Walters E., Mandalakas A.M., Hesselting A.C., Walzl G. Utility of host markers detected in Quantiferon supernatants for the diagnosis of tuberculosis in children in a high-burden setting // PLoS ONE. 2013. Vol.8. №5. P. e64226. doi.org/10.1371/journal.pone.0064226.
8. Chiappini E., Della Bella C., Bonsignori F., Sollai S., Amedei A., Galli L., Niccolai E., Del Prete G., Singh M., D'Elia M.M. Potential role of M. tuberculosis specific IFN-gamma and IL-2 ELISPOT assays in discriminating children with active or latent tuberculosis // PLoS ONE. 2012. Vol.7. №9. P.e46041. doi: 10.1371/journal.pone.0046041.
9. Chung W.Y., Lee K.S., Jung Y.J., Lee H.L., Kim Y.S., Park J.H., Sheen S.S., Park K.J. A TB antigen-stimulated CXCR3 ligand assay for the diagnosis of active pulmonary TB // Chest. 2014. Vol.146. № 2. P. 283- 291. doi: 10.1378/chest.13-1855.
10. Cilloni L., Fu H., Vesga J.F., Dowdy D., Pretorius C., Ahmedov S., Nair S.A., Mosneaga A., Masini E., Sahu S., Arinaminpathy N. The potential impact of the COVID-19 pandemic on the tuberculosis epidemic a modelling analysis // E Clinical Medicine. 2020. Vol. 28. P. 100603. doi: 10.1016/j.eclinm.2020.100603.
11. Comella-Del-Barrio P., Abellana R., Villar-Hernandez R., Coute M.D.J., Mingels B.S., Aliaga L.C., Narcisse M., Gautier J., Ascaso C., Latorre I., Dominguez J., Perez-Porcuna T.M. A model based on the combination of IFN- γ , IP-10, ferritin and 25- hydroxyvitamin D for discriminating latent from active tuberculosis in children // Frontiers in Microbiology. 2019. Vol. 10. P.e1855. doi.org/10.3389/fmicb.2019.01855.
12. Connell T.G., Curtis N., Ranganathan S.C., Buttery J.P. Performance of a whole blood interferon gamma assay for detecting latent infection with Mycobacterium tuberculosis in children // Thorax. 2006.Vol.61. №7. P.616-620. doi: 10.1136/thx.2005.048033.
13. Day C.L., Abrahams D.A., Lerumo L., Janse van Rensburg E., Stone L., O'rie T., Pienaar B., Kock M., Kaplan G., Mahomed H., Dheda K., Hanekom W.A. Functional capacity of Mycobacterium tuberculosis-specific T cell responses in humans is associated with mycobacterial load // J. Immunol. 2011. Vol. 187. P. 2222–2232. doi: 10.4049/jimmunol.1101122.
14. Della Bella C., Spinicci M., Grassi A., Bartalesi F., Benagiano M., Truthmann K., Tapinassi S., Troilo A., D'Elia S., Alnwaisri H. Novel M. tuberculosis specific IL-2 ELISpot assay discriminates adult patients with active or latent tuberculosis // PLoS ONE. 2018. Vol.13. №6. P. e0197825. doi: 10.1371/journal.pone.0197825.
15. Diel R., Goletti D., Ferrara G., Bothamley G., Cirillo D., Kampmann B. Interferon-gamma release assays for the diagnosis of latent Mycobacterium tuberculosis infection: a systematic review and meta-analysis // European Respiratory Journal. 2011. Vol.37. №1. P. 88-99. doi: 10.1183/09031936.00115110.

16. Dillenbeck T., Gelius E., Fohlstedt J., Ahlborg N. Triple cytokine FluoroSpot analysis of human antigen-specific IFN- γ , IL-17A and IL-22 responses // *Cells*. 2014. Vol.3 P. 1116-1130. doi:10.3390/cells3041116.
17. Farber J.M. Mig and IP-10: CXC chemokines that target lymphocytes // *J Leukoc Biol*. 1997. Vol.61. №3. P.246-257.
18. Ferrero E., Biswas P., Vettoretto K., Ferrarini M., Uguccioni M., Piali L., Leone B.E., Moser B., Rugarli C., Pardi R. Macrophages exposed to *Mycobacterium tuberculosis* release chemokines able to recruit selected leucocyte subpopulations: focus on $\gamma\delta$ cells // *Immunology*. 2003. Vol. 108. P.365-374.
19. Flynn J.L., Chan J. Immunology of tuberculosis // *Annu Rev Immunol*. 2001. Vol.19. P. 93-129.
20. Frahm M., Goswami N.D., Owzar K., Hecker E., Mosher A., Cadogan E. Discriminating between latent and active tuberculosis with multiple biomarker responses // *Tuberculosis*. 2011. Vol.91 №3. P. 250-256. doi: 10.1016/j.tube.2011.02.006.
21. Gourgouillon N., De Lauzanne A., Cottart C.H., Curis E., Debord C., Guerin-El Khourouj V. TNF-alpha/IL-2 ratio discriminates latent from active tuberculosis in immunocompetent children: A pilot study // *Pediatric Research*. 2012. Vol.72. №4. P.370-374. doi:10.1038/pr.2012.89.
22. Hofland R.W., Bossink A.W.J., Nierkens S., Paardekooper S.P., Broek B.T., Lammers J.J., Haeften I., Thijsen S.F. Quantiferon-plus Does Not Discriminate Between Active and Latent Tuberculosis // *Infectious diseases (London, England)*. 2018. Vol.50. №6. P. 479-482. doi: 10.1080/23744235.2018.1425550.
23. Houben R., Dodd P.J. The global burden of latent tuberculosis infection: a re-estimation using mathematical modelling // *PLoS Med*. 2016. Vol.13. №10. P.e1002152. doi: 10.1371/journal.pmed.1002152.
24. Hur Y.G., Gorak-Stolinska P., Ben-Smith A., Lalor M.K., Chaguluka S., Dacombe R. Combination of cytokine responses indicative of latent TB and active TB in Malawian adults // *PLoS ONE*. 2013. Vol.8. №11. P.e79742. doi: 10.1371/journal.pone.0079742.
25. Jamil B., Shahid F., Hasan Z., Nasir N., Razzaki T., Dawood G., Hussain R. Interferon gamma/IL10 ratio defines the disease severity in pulmonary and extra pulmonary tuberculosis // *Tuberculosis*. 2007. Vol.87. № 4. P.279-287. doi: 10.1016/j.tube.2007.03.004.
26. Jenum S., Dhanasekaran S., Ritz C., Macaden R., Doherty T.M., Grewal H.M. Added value of IP-10 as a read-out of *Mycobacterium tuberculosis*: specific immunity in young children // *Pediatric Infectious Disease Journal*. 2016. Vol.35. №12. P.1336-1338.
27. Jeong Y.H., Hur Y.G., Kim S., Cho J.E., Chang J., Shin S.J., Lee H., Kang Y.A., Cho S-N., Ha S-J. Discrimination between active and latent tuberculosis based on ratio of antigen-specific to mitogen-induced IP-10 production // *Journal of Clinical Microbiology*. 2015. Vol. 53. №2. P. 504-510. doi: 10.1128/JCM.02758-14.
28. Jeong Ji-A., Oh Jeong-Il Alanine dehydrogenases in mycobacteria // *Journal of microbiology*. 2019. Vol.57. №2. P.81-92.
29. Ji D.X., Yamashiro L.H., Chen K.J., Mukaida N., Kramnik I., Darwin H.K., Vance R.E. Type I interferon-driven susceptibility to *Mycobacterium tuberculosis* is mediated by IL-1Ra // *Nature Microbiology*. 2019. Vol.4. P.2128-2135.
30. Kamakia R., Kiazzyk S., Waruk J., Meyers A., Ochanda J., Ball T.B. Potential biomarkers associated with discrimination between latent and active pulmonary tuberculosis // *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. 2017. Vol.21. №3. P.278-285. doi: 10.5588/ijtld.16.0176.
31. Kassa D., de Jager W., Gebremichael G., Alemayehu Y., Ran L., Fransen J., Wolday D., Messele T., Tegbaru B., Ottenhoff T.H.M., Baarle D. The effect of HIV coinfection, HAART and TB treatment on cytokine/chemokine responses to *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) antigens in active TB patients and latently Mtb infected individuals // *Tuberculosis*. 2016. Vol. 96. P.131-140. doi: 10.1016/j.tube.2015.05.015.
32. Kathamuthu G.R., Moideen K., Bhaskaran D., Sekar G., Sridhar R., Vidyajayanthi B. Reduced systemic and mycobacterial antigen-stimulated concentrations of IL-1 β and IL18 in tuberculous lymphadenitis // *Cytokine*. 2017. Vol.90. P. 66-72.
33. Kaufmann S.H. How can immunology contribute to the control of tuberculosis? // *Nat Rev Immunol*. 2001. Vol.1. P.20-30. doi: 10.1038/35095558.
34. Khalifian S., Raimondi G., Brandacher G. The use of Lumindex assays to measure cytokines // *J Invest Dermatol*. 2015. Vol.135, №4. P. 1-5. doi: 10.1038/jid.2015.36.
35. Kim S., Lee H., Kim H., Kim Y., Cho J.E., Jin H., Kim D.Y., Ha S.J., Kang Y.A., Cho S.N. Diagnostic performance of a cytokine and IFN-gamma-induced chemokine mRNA assay after mycobacterium tuberculosis-specific antigen stimulation in whole blood from infected individuals // *The Journal of molecular diagnostics*. 2015. Vol.17. №1. P. 90-99. doi: 10.1016/j.jmoldx.2014.08.005.
36. Kim J.Y., Park J.H., Kim M.C., Cha H.H., Jeon N.Y., Park S.Y., Kim M-J., Chong Y.P., Lee S-O., Choi S-H., Kim Y.S., Woo J.H., Kim S-H. Combined IFN-gamma and TNF-alpha release assay for differentiating active tuberculosis from latent tuberculosis infection // *Journal of Infection*. 2018. Vol. 77, №4. P. 314-320. doi: 10.1016/j.jinf.2018.04.011.
37. Kim K., Perera R., Tan D.B., Fernandez S., Seddiki N., Waring J. Circulating mycobacterial-reactive CD4+ T cells with an immunosuppressive phenotype are higher in active tuberculosis than latent tuberculosis infection // *Tuberculosis*. 2014. Vol.94. №5. P. 494-501. doi: 10.1016/j.tube.2014.07.002.
38. Kumar N.P., Banurekha V.V., Nair D., Babu S. Diminished plasma levels of common gamma-chain cytokines in pulmonary tuberculosis and reversal following treatment // *PLoS ONE*. 2017. Vol.12. №4. P. e0176495. doi: 10.1371/journal.pone.0176495.
39. Kumar N.P., Gopinath V., Sridhar R., Hanna L.E., Banurekha V.V., Jawahar M.S., Nutman T.B., Babu S. IL-10 dependent suppression of type 1, type 2 and type 17 cytokines in active pulmonary tuberculosis // *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8, №3. P. e59572. doi.org/10.1371/journal.pone.0059572.
40. Kupeli E., Karnak D., Beder S., Kayacan O., Tutkak H. Diagnostic accuracy of cytokine levels (TNF-alpha, IL-2

and IFN-gamma) in bronchoalveolar lavage fluid of smear-negative pulmonary tuberculosis patients // *Respiration*. 2008. Vol. 75. P.73–78. doi.org/10.1159/000110744.

41. Lalvani A., Pathan A.A., McShane H., Wilkinson R.J., Latif M., Conlon C.P., Pasvol G., Hill A.V. Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis infection by enumeration of antigen-specific T cells // *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2001. Vol.163. P.824-828.

42. La Manna M.P., Orlando V., Li Donni P., Sireci G., Di Carlo P., Cascio A., Dieli F., Caccamo N. Identification of plasma biomarkers for discrimination between tuberculosis infection/disease and pulmonary non tuberculosis disease // *PLoS One*. 2018. Vol. 13, №3. P. e0192664. doi: 10.1371/journal.pone.0192664.

43. Lighter-Fisher J., Peng C.H., Tse D.B. Cytokine responses to QuantiFERON peptides, purified protein derivative and recombinant ESAT-6 in children with tuberculosis // *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. 2010. Vol. 14, №12. P. 1548-1555.

44. Ma J., Chen T., Mandelin J., Ceponis A., Miller N.E., Hukkanen M., Ma G.F., Kontinen Y.T. Regulation of macrophage activation // *Cell Mol Life Sci*. 2003. Vol. 60, № 11. P. 2334-2346. doi: 10.1007/s00018-003-3020-0.

45. Marin N.D., Paris S.C., Velez V.M., Rojas C.A., Rojas M., Garcia L.F. Regulatory T cell frequency and modulation of IFN-gamma and IL-17 in active and latent tuberculosis // *Tuberculosis*. 2010. Vol.90. №4. P. 252-261.

46. Movahedi B., Mokarram P., Hemmati M., Mosavari N., Zare R., Ardekani L.S., Mostafavi-Pour Z. IFN-gamma and IL-2 responses to recombinant AlaDH against ESAT-6/CFP-10 fusion antigens in the diagnosis of latent versus active tuberculosis infection // *Iranian journal of medical sciences*. 2017. Vol.42. №3. P.275-283.

47. Nonghanphithak D., Reechaipichitkul W., Namwat W., Naranbhai V., Faksri K. Chemokines additional to IFN- γ can be used to differentiate among Mycobacterium tuberculosis infection possibilities and provide evidence of an early clearance phenotype // *Tuberculosis*. 2017. Vol.105. P.28-34.

48. Okamoto M., Kawabe T., Iwasaki Y., Hara T., Hashimoto N., Imaizumi K., Hasegawa Y., Shimokata K. Evaluation of interferon-gamma, interferon-gamma-inducing cytokines, and interferon-gamma-inducible chemokines in tuberculous pleural effusions // *J Lab Clin Med*. 2005. Vol. 145. №2. P. 88-93. doi: 10.1016/j.lab.2004.11.013.

49. Pai M. Spectrum of latent tuberculosis: existing tests cannot resolve the underlying phenotypes // *Nat Rev Microbiol*. 2010. Vol. 8. №32. P.242.

50. Petrone L., Vanini V., Chiacchio T., Petruccioli E., Cuzzi G., Schinina V., Palmieri F., Ippolito G., Goletti D. Evaluation of IP-10 in QuantiFERON-Plus as biomarker for the diagnosis of latent tuberculosis infection // *Tuberculosis*. 2018. Vol. 111. P. 147-153. doi: 10.1016/j.tube.2018.06.005.

51. Redford P.S., Murray P.J., O'Garra A. The role of IL-10 in immune regulation during *M. tuberculosis* infection // *Mucosal Immunol*. 2011. Vol. 4, №3. P. 261-270. doi: 10.1038/mi.2011.7.

52. Rook W., Graham A. Th2 Cytokines in Susceptibility to Tuberculosis // *Current Molecular Medicine*. 2007. Vol.7. №3. P.327-337.

53. Salgame P., Geadas C., Collins L., Jones-Lopez E., Ellner J.J. Latent Tuberculosis infection-Revisiting and Revising Concepts // *Tuberculosis*. 2015. Vol. 2015. P.1-11.

54. Salman A.M., Abdel-Ghaffar A.B., El-Sheikh N., Andersen P., Egiza A.O. Evaluation of immunodiagnostic potential of ESAT-6 synthetic peptides mixture in Egyptian pulmonary tuberculosis patients // *The Egyptian Journal of Immunology*. 2012. Vol. 19. №1. P.19- 30.

55. Sudbury E.L., Otero L., Tebruegge M., Messina N.L., Seas C., Montes M. Mycobacterium tuberculosis-specific cytokine biomarkers for the diagnosis of childhood TB in a TB-endemic setting // *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases*. 2019. Vol. 16. P. 1-10. doi.org/10.1016/j.jctube.2019.100102

56. Sun Q., Wei W., Sha W. Potential role for Mycobacterium tuberculosis specific IL-2 and IFN- γ responses in discriminating between latent infection and active disease after longterm stimulation // *PLoS ONE*. 2016. Vol. 11, №12. P. e0166501. doi: 10.1371/journal.pone.0166501.

57. Sutherland J.S., de Jong B.C., Jeffries D.J., Adetifa I.M., Ota M.O.C. Production of TNF-alpha, IL-12(p40) and IL-17 can discriminate between active TB disease and latent infection in a West African cohort // *PLoS ONE*. 2010. Vol. 5, №8. P. e12365. doi.org/10.1371/journal.pone.0012365.

58. Suzukawa M., Akashi S., Nagai H., Nagase H., Nakamura H., Matsui H., Hebisawa A., Ohta K. Combined analysis of IFN- γ , IL-2, IL-5, IL-10, IL-1ra and MCP-1 in QFT supernatant is useful for distinguishing active tuberculosis from latent infection // *PLoS One*. 2016. Vol.11, №4. P. e0152483. doi: 10.1371/journal.pone.0152483.

59. Tan X., Khaing Oo M.K., Gong Y., Li Y., Zhu H., Fan X. Glass capillary based microfluidic ELISA for rapid diagnostics // *Analyst*. 2017. Vol.142, №13. P. 2378-2385. doi: 10.1039/c7an00523g.

60. Tebruegge M., Clifford V., Curtis N. Interferon-gamma release assays should not replace tuberculin skin tests in screening programs for children // *Pediatr Infect Dis J*. 2016. Vol. 35. №8. P.929. doi: 10.1097/INF.0000000000001195.

61. Tebruegge M., Dutta B., Donath S., Ritz N., Forbes B., Camacho-Badilla K., Clifford V., Zufferey C., Robins-Browne R., Hanekom W., Graham S.M., Connell T., Curtis N. Mycobacteria-specific cytokine responses detect tuberculosis infection and distinguish latent from active tuberculosis // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2015. Vol. 192, №4. P. 485-499. doi.org/10.1164/rccm.201501-0059OC.

62. Teklu T., Kwon K., Wondale B., HaileMariam M., Zewude A., Medhin G. Potential immunological biomarkers for detection of Mycobacterium tuberculosis infection in a setting where M. tuberculosis is endemic, Ethiopia // *Infection & Immunity*. 2018. Vol. 86. №4. P.e00759-17. doi: 10.1128/IAI.00759-17.

63. Tincati C., Cappione Iii A.J., Snyder-Cappione J.E. Distinguishing latent from active Mycobacterium tuberculosis infection using Elispot assays: looking beyond interferon-gamma // *Cells*. 2012. Vol.1. №2. P.89-99. doi: 10.3390/cells1020089.

64. Tong X., Lu H., Yu M., Wang G., Han C., Cao Y. Diagnostic value of interferon-gamma-induced protein of

10kDa for tuberculous pleurisy: a meta-analysis // *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2017. Vol. 471. P. 143-149. doi: 10.1016/j.cca.2017.05.034.

65. Wang S., Diao N., Lu C., Wu J., Gao Y., Chen J., Zhou Z., Huang H., Shao L., Jin J., Weng X., Zhang Y., Zhang W. Evaluation of the diagnostic potential of IP-10 and IL-2 as biomarkers for the diagnosis of active and latent tuberculosis in a BCG-vaccinated population // *PLoS One*. 2012. Vol.7. №12. P. e51338. doi: 10.1371/journal.pone.0051338.

66. Wang F., Hou H., Xu L., Jane M., Peng J., Lu Y. Mycobacterium tuberculosis-specific TNF- α is a potential biomarker for the rapid diagnosis of active tuberculosis disease in Chinese population // *PLoS ONE*. 2013. Vol.8. №11. P.e79431. doi: 10.1371/journal.pone.0079431.

67. Wergeland I., Pullar N., Assmus J., Ueland T., Tonby K., Feruglio S., Kvale D., Damas J.K., Aukrust P., Mollnes T.E. IP-10 differentiates between active and latent tuberculosis irrespective of HIV status and declines during therapy // *Journal of Infection*. 2015. Vol. 70. №4. P. 381-39. doi.org/10.1016/j.jinf.2014.12.019.

68. WHO. Global tuberculosis report. – 2020. P.13.

69. World Health Organization. Global strategy and targets for tuberculosis prevention, care and control after 2015. 2013.P.8.

70. Won E-J., Choi J-H., Cho Y-N., Jin H-M., Kee H.J., Park Y-W., Kwon Y-S., Kee S-J. Biomarkers for discrimination between latent tuberculosis infection and active tuberculosis disease // *J Infect*. 2017. Vol. 74. №3. P. 281-293. doi: 10.1016/j.jinf.2016.11.010.

71. Wu J., Wang S., Lu C., Shao L., Gao Y., Zhou Z., Huang H., Zhang Y., Zhang W. Multiple cytokine responses in discriminating between active tuberculosis and latent tuberculosis infection // *Tuberculosis*. 2017. Vol. 102. P. 68-75. doi: 10.1016/j.tube.2016.06.001.

72. Yang H., Kruh-Garcia N.A., Dobos K.M. Purified protein derivatives of tuberculin - past, present and future // *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 2012. Vol.66. №3. P.273-280.

73. You E., Kim M.H., Lee W.I., Kang S.Y. Evaluation of IL-2, IL-10, IL-17 and IP-10 as potent discriminative markers for active tuberculosis among pulmonary tuberculosis suspects // *Tuberculosis*. 2016. Vol.99. P. 100-108.

74. Zeng G., Zhang G., Chen X. Th1 cytokines, true functional signatures for protective immunity against TB? // *Cellular & Molecular Immunology*. 2018. Vol.15.-P.206-215.

References: [1-2]

1. Litvinov V.I. «Dremlyushchie» mikobakterii, dormantnye lokusy, latentnaya tuberkuleznaya infektsiya [“Dormant” mycobacteria, dormant loci, latent tuberculosis infection]. *Tuberkulez i sotsial'no znachimye zabolovaniya* [Tuberculosis and socially significant diseases]. 2016. № 2. pp. 5-13. [in Russian]

2. Simbirtsev A.S., Totolyan A.A. Tsitokiny v laboratornoy diagnostike [Cytokines in laboratory diagnostics]. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie* [Infectious diseases: news, opinions, training]. 2015. №2. pp.82-98. [in Russian]

Контактная информация:

Абилябаева Арайлым А. -PhD, ассистент кафедры общей иммунологии, НАО «Казахский Национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова», г. Алматы, Республика Казахстан.

Почтовый адрес: Республика Казахстан, г. Алматы, ул.Толе би 94.

E-mail: arailym2686@gmail.com

Телефон: +7 708 347 62 77