

го анализа крови, лапароскопической визуализации брюшной полости, гистологического и бактериологического исследования тканей половых органов.

Результаты. Развитие туберкулезного процесса подтверждали через 30 дней после инокуляции МБТ: при визуальной ревизии брюшной полости с помощью лапароскопической техники выявляли рыхлые и плоскостные спайки, прогрессирующую отечность, гиперемию и расширение ампулярного отдела инфицированного маточного рога, в посевах слизистой которого определяли рост МБТ, учитывали положительный результат диаскинтеста ($15,7 \pm 3,5$ мм, $p < 0,001$) и динамику уровня С-реактивного белка в крови (с $3,86 \pm 2,58$ до $6,057 \pm 2,83$ мг/л, $p < 0,05$). При рентгенологическом исследовании легких ни у одного из инфицированных животных специфические патологические изменения не обнаружены. Изучаемые показатели активности специфической инфекции были сравнимы у всех животных на фоне лечения ПТП и в комплексной терапии ПТП с МСК: отрицательный результат ДСТ, уменьшение уровня С-реактивного белка в 3,2 раза ($p < 0,05$), отсутствие МБТ в посевах гомогенатов слизистой. В то же время

у реципиентов клеточного продукта в процессе эндоскопического мониторинга сравнительная оценка макроскопических критериев локальной воспалительной реакции показала явную тенденцию к стабилизации спаечного процесса, представленного в основном единичными рыхлыми узкими спайками без деформации передней брюшной стенки и маточной трубы. Признаков организации фибрина не было. Реакция альтерации в области маточной трубы протекала менее агрессивно, сохранились объем и рельеф ампулярного отдела маточной трубы без признаков инфильтрации.

Обсуждение и выводы. Таким образом, применение клеточного продукта на основе мезенхимальных стромальных клеток в комплексной терапии с ПТП целенаправленно уменьшает реактивность тканей на экспериментальную туберкулезную инфекцию, ограничивает исход воспалительной реакции в инфильтративный и рубцово-спаечный процесс, оказывает определенное положительное влияние на репарационные процессы. Клинические возможности клеточных технологий при генитальном туберкулезе требуют дальнейших исследований.

Некоторые молекулярные аспекты нарушений цитокин-зависимой активации Т-лимфоцитов при инфильтративном туберкулезе

И.Е. Есимова, О.И. Уразова, М.С. Игнатова, В.В. Новицкий

Сибирский государственный медицинский университет

Введение. Важным этапом в формировании иммунного ответа на *M. tuberculosis* является цитокин-опосредованная активация Т-лимфоцитов-хелперов (Th) с последующим их созреванием в Th1-клетки. В качестве основных индукторов выделяют интерлейкины (IL) — IL-12 и IL-27, синтезируемые антигенпрезентирующей клеткой при связывании ее с антигеном (патогеном). Индуцирующее влияние IL-12 на Т-клетки определяется экспрессией на их поверхности $\beta 2$ -субъединицы рецептора к IL-12 (IL-12R $\beta 2$), которая находится под контролем транскрипционного фактора T-bet. Его активность, в свою очередь, зависит от индуцирующего влияния IL-27. Вместе с тем сведения, касающиеся нарушений противотуберкулезного иммунного ответа на этапе цитокин-рецепторных взаимодействий и связанной с ними внутриклеточной сигнальной трансдукции, носят малочисленный и несистематизированный характер. С учетом вышеиз-

ложенного целью настоящего исследования явилась оценка активности транскрипционного фактора T-bet в Т-лимфоцитах крови и экспрессии на их поверхности $\beta 2$ -субъединицы рецептора к IL-12 в условиях направленной IL-12/IL-27-индукции клеток *in vitro* у больных инфильтративным туберкулезом легких (ТЛ).

Материалы и методы. В программу исследования вошли 42 мужчины и 7 женщин 20–55 лет с впервые выявленным инфильтративным лекарственно-чувствительным (ЛЧ) и лекарственно-устойчивым (ЛУ) ТЛ. Группу сравнения составили 35 здоровых добровольцев с сопоставимыми возрастными характеристиками. Материал исследования — лимфоциты крови. Методы исследования: 1) выделение мононуклеарных клеток на градиенте плотности фиколл-урографина ($\rho = 1,077$ г/см³); 2) разделение мононуклеаров на моноциты и лимфоциты методом адгезии к пластику; 3) определение жизнеспособ-

ности выделенных лимфоцитов (трипановый тест); 4) культивирование клеток в полной питательной среде в CO₂-инкубаторе при 37 °С с добавлением рекомбинантных интерлейкинов IL-12 (20 нг/мл) и IL-27 (10 нг/мл) (eBioscience Company, США). Время инкубации лимфоцитов для оценки экспрессии IL-12Rβ2 составляло 48 ч, для оценки экспрессии T-bet — 60 мин. Количество Т-лимфоцитов, экспрессирующих IL-12Rβ2 или содержащих активную форму транскрипционного фактора T-bet, оценивали методом двухцветной проточной цитофлуориметрии с использованием изотипических контролей (R&D Systems, США). Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием стандартных алгоритмов биометрии.

Результаты. В ходе исследования установлено снижение процентного ($p1<0,001$) и абсолютного ($p1<0,01$) числа CD3⁺T-bet⁺- и CD3⁺IL12Rβ2⁺-лимфоцитов у больных инфильтративным ТЛ относительно показателей в группе контроля, наиболее выраженное при ЛУТЛ. Численность CD3⁺T-bet⁺-лимфоцитов при лекарственно-чувствительном варианте ТЛ не отличалась от контрольных значений и увеличивалась

($p1<0,01$) у пациентов с ЛУТЛ. Наряду с этим у больных ТЛ отмечалось увеличение по сравнению с группой контроля процентного ($p1<0,001$) и абсолютного ($p1<0,01$) количества Т-лимфоцитов, негативных по IL-12Rβ2 (CD3⁺IL12Rβ2⁻).

Обсуждение и выводы. Уменьшение количества CD3⁺T-bet⁺-клеток в условиях их IL-12/IL-27-индукции *in vitro* свидетельствует о нарушении механизмов активации транскрипционного фактора T-bet, что может быть связано с нарушением экспрессии рецепторных молекул к IL-27 (WSX-1/grp130) и/или механизмов сигнальной JAK1/TYK2-STAT1-трансдукции активационного сигнала от IL-27. Учитывая, что важным эффектом T-bet является индукция экспрессии поверхностной β2-субъединицы рецептора к IL-12, снижение его активности в Т-клетках можно рассматривать в качестве ключевого фактора дефицита CD3⁺IL12Rβ2⁺-лимфоцитов у больных ТЛ и, как следствие, дисрегуляции цитокин-опосредованной активации Т-лимфоцитов на этапе запуска иммунного ответа на *M. tuberculosis*. Работа выполнена при поддержке Совета по грантам Президента РФ для поддержки ведущих научных школ НШ-4184.2014.7.

Роль Th17-лимфоцитов в противотуберкулезном иммунитете

Т.Е. Кононова¹, О.И. Уразова¹, В.В. Новицкий^{1,2}

¹Сибирский государственный медицинский университет;

²Национальный исследовательский Томский государственный университет

Введение. Отсутствие полного понимания механизмов, лежащих в основе формирования эффективной противотуберкулезной защиты, является одним из факторов недостаточной эффективности иммунотерапии больных туберкулезом. В последнее время активно изучается субпопуляция CD4⁺ Т-лимфоцитов — Т-лимфоцитов-хелперов (Th) типа 17. Установлена роль данных клеток в развитии протективного иммунного ответа против внутриклеточных патогенов. Не исключается и их роль в борьбе с *M. tuberculosis*.

Цель. Исследовать роль Th17-лимфоцитов в иммунопатогенезе туберкулеза легких (ТЛ). Задачи: оценить экспрессию мРНК транскрипционного фактора RORC2 в лимфоцитах у больных ТЛ и определить количество CD4⁺CD161⁺IL-17A⁺ Th17-лимфоцитов и их цитокин-секреторную активность (продукцию IL-17A и IL-22) у больных ТЛ.

Материалы и методы. Обследовано 85 пациентов ОГБУЗ «Томский фтизиопульмонологический медицинский центр» с впервые выявленным ТЛ (64 муж-

чины и 21 женщина, средний возраст 41,21±11,29 года) в зависимости от клинической формы (инфильтративный, диссеминированный) и варианта (лекарственно-чувствительный (ЛЧ) и лекарственно-устойчивый (ЛУ) заболевания. Контрольную группу составили 25 здоровых доноров. Материалом служила венозная кровь. Мононуклеарные лейкоциты выделяли из крови методом градиентного центрифугирования ($p=1,077$ г/см³). CD4⁺CD161⁺IL-17A⁺ Th17-лимфоциты типировали методом проточной цитометрии согласно протоколам Becton Dickinson (США). Для определения содержания IL-17A и IL-22 в супернатантах культуральных суспензий использовали твердофазный иммуноферментный метод (ELISA) (R&D Systems, США). Выделение тотальной РНК из клеток осуществляли сорбентно-колоночным методом по инструкции производителя (QIAGEN, Германия). Для синтеза комплементарной ДНК (кДНК) на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции, используя реагенты фирмы «Синтол» (Россия). Фрагмент кДНК амплифици-