

На правах рукописи

Дитто Зульфия Каримкуловна

**ФАКТОРЫ ДИСФУНКЦИИ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК
ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ ЛЕГКИХ**

14.03.03 – патологическая физиология

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

ТОМСК – 2013

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Уразова

Ольга Ивановна

доктор медицинских наук

Воронкова

Ольга Владимировна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор,
руководитель лаборатории молекулярной генетики
и биохимии ФГБУ «НИИ психического здоровья»
СО РАМН

Иванова

Светлана Александровна

доктор медицинских наук, профессор кафедры
гистологии, эмбриологии и цитологии
ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России

Потапов

Алексей Валерьевич

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр клинической и экспериментальной медицины» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук

Защита диссертации состоится: «27» декабря 2013 г. в «9⁰⁰» часов на заседании диссертационного совета Д208.096.01 при Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России

Автореферат разослан «___» ноября 2013 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

И.В. Петрова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. За последнее десятилетие заболеваемость туберкулезом легких (ТЛ) приобрела широкие масштабы в связи с изменением свойств микобактерий туберкулеза, в частности, расширением спектра их резистентности к лекарственным препаратам основного ряда и высокой вирулентностью инфицирующих штаммов [Уразова О.И., 2010; Хасанова Р.Р. и соавт., 2011]. Наряду с этим, заболеваемость туберкулезом, распространенность и тяжесть патологического процесса при туберкулезе во многом определяются степенью поражения иммунной системы [Новицкий В.В. и соавт., 2011; Есимова И.Е. и соавт., 2012].

Исследования последних лет показали, что развитие вторичной иммунологической недостаточности (ВИН) у больных ТЛ сопряжено с повреждающим влиянием возбудителя *Mycobacterium tuberculosis* на иммунокомпетентные клетки крови [Уразова О.И. и соавт., 2010; Чурина Е.Г. и соавт., 2011; Сахно Л.В. и соавт., 2012; Churina E.G. et al., 2012]. В основе нарушений специфического иммунитета при ТЛ лежат Т-клеточный дефицит, снижение пролиферативной активности лимфоцитов и активация их апоптоза, цитокиновый дисбаланс и активация иммуносупрессорных механизмов, связанных с гиперфункцией регуляторных Т-клеток, что приводит к дисрегуляции как клеточно-опосредованного, так и гуморального звеньев иммунитета [Хасанова Р.Р. и соавт., 2008; Воронкова О.В. и соавт., 2010; Comas I. et al., 2011; Сахно Л.В. и соавт., 2012; Чурина Е.Г. и соавт., 2013].

Рассматривая иммунный ответ в целом как комплекс последовательных клеточных взаимодействий с участием антигенпрезентирующих клеток (макрофаги, дендритные клетки), Т-лимфоцитов-хелперов, клеток-эффекторов и секретируемых ими иммунорегуляторных биомолекул, следует отметить, что нарушения его возможны уже на стадии связывания и презентации антигена дендритной клеткой (ДК) и последующего образования иммунного синапса между ДК и Т-лимфоцитом [Ерохин В.В., 2009; Ярилин А.А., 2010; Сахно Л.В. и соавт., 2012; Шепелькова Г.С. и соавт., 2012]. Это является обязательным условием активации Т-клеток, их дифференцировки и пролиферации с формированием клона антигенспецифических лимфоцитов. Образование зрелого иммунного синапса происходит только при условии полноценного созревания ДК, экспрессии ими всех необходимых рецепторов, в число которых входят молекулы главного комплекса гистосовместимости и костимуляторные молекулы семейства В7 (CD80 и CD86) [Merad M. et al., 2009; Ярилин А.А., 2010; Geissmann F. et al., 2010; Есимова И.Е. и соавт., 2012; Song Q. et al., 2013; Suchard S.J. et al., 2013]. В противном случае активации Т-клетки не происходит. Наряду с этим известно, что многие инфекционные возбудители, в том числе *Mycobacterium tuberculosis*, способны вызывать дисфункцию рецепторного аппарата как антигенпрезентирующих клеток, так и Т-лимфоцитов и, как следствие, нарушение не только индуктивной, но и продуктивной

(эффекторной) фазы иммунного ответа [Лепнина О.Ю. и соавт., 2009; Balboa L. et al., 2010; Новицкий В.В. и соавт., 2012; Person A.K. et al., 2012].

Степень разработанности. В аспекте изучения особенностей иммунопатогенеза различных клиничко-патогенетических вариантов туберкулеза легких основное внимание уделяется оценке Т-клеточного звена иммунитета, но практически неисследованными остаются молекулярные механизмы дисрегуляции противотуберкулезного иммунного ответа на уровне антигенпрезентирующих клеток и их взаимодействий с Т-лимфоцитами в связи с биологическими свойствами инфицирующего штамма возбудителя и клинической формой туберкулезной инфекции.

Цель исследования: определить патогенетические факторы нарушений функциональной активности дендритных клеток у больных с различными клиничко-патогенетическими вариантами туберкулеза легких.

Задачи исследования:

1. Оценить способность моноцитов крови трансформироваться в дендритные клетки *in vitro* у здоровых доноров и больных туберкулезом легких.
2. Проанализировать состояние рецепторного аппарата, цитокин-секреторную активность дендритных клеток и содержание в них ядерного фактора транскрипции NF-κB у больных инфильтративным и диссеминированным лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких.
3. Определить патогенетические факторы нарушений функциональной активности дендритных клеток в зависимости от клиничко-патогенетического варианта туберкулеза легких и спектра резистентности *Mycobacterium tuberculosis* к препаратам этиотропной терапии.

Научная новизна. Впервые дана комплексная оценка нарушений рецептор-экспрессирующей и цитокин-секреторной функции ДК у больных ТЛ в зависимости от клиничко-формы заболевания, чувствительности возбудителя к препаратам этиотропной терапии и спектра его лекарственной резистентности. Показано, что у больных ТЛ число трансформированных *in vitro* из моноцитов крови ДК с фенотипом CD209⁺ выше, чем у здоровых доноров вне зависимости от клиничко-патогенетического варианта инфекции. Обнаружено, что дисфункция ДК при ТЛ проявляется снижением количества TLR2⁺, CD86⁺ и CD80⁺CD86⁺ (иммуногенных) клеток, что опосредует нарушение индуктивной стадии противотуберкулезного иммунитета. Наряду с этим, содержание в ДК активной формы транскрипционного фактора NF-κB, регулирующего экспрессию клетками молекул костимуляции и секрецию цитокинов, соответствует норме. Одновременно с этим установлено, что вне зависимости от клиничко-формы и варианта ТЛ количество ДК, экспрессирующих молекулы костимуляции CD80 и HLA-DR (за исключением монорезистентного ТЛ), увеличивается. При этом продукция IL-12 и IL-18 ДК *in vitro* у больных ТЛ варьирует в зависимости от формы ТЛ и лекарственной чувствительности возбудителя. Понижение секреции IL-12 отмечается при инфильтративном ТЛ, а

IL-18 – при монорезистентном и множественно лекарственно-устойчивом ТЛ. В то же время для диссеминированного и лекарственно-чувствительного ТЛ характерным является увеличение секреции ДК обоих цитокинов. Полученные результаты свидетельствуют о влиянии *M. tuberculosis* на показатели функциональной активности ДК. При этом проявления рецептор-экспрессирующей (TLR2, HLA-DR, CD86) гипофункции ДК наиболее выражены при ТЛ с лекарственной монорезистентностью возбудителя.

Практическое и теоретическое значение работы. Полученные результаты могут послужить основой для разработки патогенетически обоснованных подходов к направленной коррекции нарушений противотуберкулезного иммунного ответа на этапе его инициации (запуска) посредством активирующего воздействия на функции ДК по связыванию антигена, формированию иммунного синапса и индукции Т-клеток. Использование полученных данных возможно в иммунодиагностике ВИН у больных ТЛ при уточнении стадии нарушений противотуберкулезного иммунного ответа, а также при разработке вакцин нового поколения против туберкулезной инфекции на основе активированных ДК.

Результаты работы применяются в учебном процессе на кафедрах патофизиологии, фтизиатрии и пульмонологии, иммунологии и аллергологии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России для студентов лечебного, педиатрического и медико-биологического факультетов

Методология и методы исследования. Согласно поставленным задачам выбраны высокоинформативные методы исследования, которые выполнялись на базе современных научно-исследовательских лабораторий ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России. В качестве материала исследования использовали моноциты крови, трансформированные в ДК. Основные методы исследования:

1. Выделение, культивирование и трансформация *in vitro* моноцитов периферической крови в ДК с использованием стимуляторов их созревания;
2. Иммунофенотипирование ДК методом проточной цитометрии с определением поверхностных молекул CD209 (маркер миелоидных ДК), TLR2 (рецептор для связывания антигена), HLA-DR (молекулы главного комплекса гистосовместимости для презентации антигена), CD80 и CD86 (молекулы костимуляции);
3. Определение содержания внутриклеточного транскрипционного фактора NF- κ B в ядерных лизатах в ДК (иммуноферментный анализ);
4. Оценка цитокин-секреторной (IL-12, IL-18) активности ДК (иммуноферментный анализ);
5. Статистический анализ результатов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Высокая трансформационная активность моноцитов крови в CD209⁺ дендритные клетки *in vitro* у больных инфильтративным и диссеминированным туберкулезом легких с чувствительностью и устойчивостью возбудителя к

препаратам этиотропной терапии сочетается с признаками дисфункции дендритных клеток.

2. Патогенетическими факторами дисфункции дендритных клеток у больных туберкулезом легких являются: дефицит рецепторов для связывания антигена (TLR2) и костимуляции (CD86) на фоне гиперэкспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости HLA-DR, снижение числа иммуногенных CD80⁺CD86⁺ клеток и вариабельность секреции IL-12 и IL-18 *in vitro* в зависимости от клинико-патогенетического варианта заболевания.

3. Характер нарушений функциональной активности дендритных клеток, трансформированных *in vitro* из моноцитов крови, зависит от спектра лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* с наибольшей выраженностью рецептор-экспрессирующей гиподисфункции клеток в сочетании с дефицитом секреции IL-18 при монорезистентном туберкулезе легких.

Степень достоверности и апробация результатов. Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объемом клинико-экспериментального материала, использованием современных методов (проточная цитометрия, иммуноферментный анализ) и методических подходов, высокотехнологичного оборудования, а также адекватных критериев для статистической обработки результатов.

Результаты, полученные в результате выполнения диссертационной работы, докладывались и обсуждались на Всероссийской научной конференции молодых ученых «Актуальные вопросы инфекционной патологии» (г. Санкт-Петербург, 2011), Межгородской научной конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии» (г. Санкт-Петербург, 2012) и II Всероссийской конференции молодых ученых «Сибирские медицинские чтения» (г. Барнаул, 2012).

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (ГК №16.512.11.2046), РФФИ (Проект №11-04-98057-р_сибирь_a), Совета по грантам Президента Российской Федерации для ведущих научных школ (16.120.11.614-НШ) и на средства персонального гранта компании Carl Zeiss в рамках программы поддержки научно-исследовательской работы молодых ученых вузов России (договор от №8/11 КЦ от 10 апреля 2012 г.).

По материалам диссертации опубликовано 13 работ, из них 6 полнотекстовых статей в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 118 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 6 рисунками и 12 таблицами. Библиографический указатель включает 228 источников, из которых 90 отечественных и 138 зарубежных авторов. Автор принимал непосредственное участие в разработке дизайна и планировании исследования. Результаты получены, проанализированы и обобщены в выводах и положениях лично автором.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертационной работы, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, практическое и теоретическое значение работы.

В первой главе представлен анализ научной литературы по теме исследования, а именно, проанализирован современный взгляд на происхождение дендритных клеток, приведена морфологическая и функциональная их характеристика, проанализированы факторы активации. Один из разделов обзора литературы посвящен описанию участия дендритных клеток в формировании иммунологической толерантности; проанализирована роль дендритных клеток в распознавании микобактерий туберкулеза, а также рассмотрены основные нарушения процессов активации дендритных клеток при туберкулезной инфекции.

Вторая глава диссертации посвящена описанию материалов и методов исследования. В процессе выполнения работы было обследовано 98 пациентов с впервые выявленным туберкулезом легких (ТЛ) (69 мужчин и 29 женщин), средний возраст которых составил $43,10 \pm 10,46$ лет. Все пациенты поступали в Томскую областную туберкулезную клиническую больницу (гл. врач – канд. мед. наук Г.В. Янова), где проводился их клинический осмотр, сбор анамнеза, физикальные методы обследования и постановка диагноза. Диагноз ТЛ устанавливался на основании клинической картины заболевания, рентгенологического исследования легких, данных микроскопического и бактериологического исследования мокроты.

Все больные были обследованы до назначения им специфической противотуберкулезной химиотерапии. В исследование включались пациенты, не имеющие выраженного интоксикационного синдрома, хронической декомпенсированной сердечно-сосудистой, дыхательной, печеночной, почечной недостаточности, декомпенсированного сахарного диабета, злокачественных новообразований и заболеваний крови, психических расстройств, системных аутоиммунных заболеваний, у женщин детородного возраста исключалась беременность.

Обследованные пациенты были разделены на группы в зависимости от клинической формы заболевания: 36 (36,73%) больных с инфильтративным ТЛ (ИТЛ) и 62 (63,27%) больных с диссеминированным ТЛ (ДТЛ), а также в зависимости от лекарственной чувствительности инфицирующего штамма *M. tuberculosis*: 48 (48,98%) больных с лекарственно-чувствительным ТЛ (ЛЧТЛ) и 50 (51,02%) больных с лекарственно-устойчивым ТЛ (ЛУТЛ). Учитывая спектр лекарственной чувствительности инфицирующего штамма *M. tuberculosis*, больные были разделены на группы с моно-, поли- и множественно лекарственно-устойчивым (МЛУ) ТЛ – 23 (23,47%), 12 (12,24%) и 15 (15,31%) пациентов соответственно.

Группу сравнения составили 50 здоровых лиц с сопоставимыми характеристиками по полу и возрасту.

Экспериментальные исследования проводились на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории, лаборатории биологических моделей СибГМУ, лаборатории клинической и экспериментальной патофизиологии кафедры патофизиологии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России.

При выполнении работы были исследованы дендритные клетки, трансформированные из моноцитов периферической крови здоровых доноров и больных ТЛ. Взятие периферической крови осуществлялось утром натощак путем пунктирования локтевой вены в количестве 20 мл, кровь стабилизировалась гепарином (25 ЕД/мл).

Подсчет общего количества лейкоцитов и моноцитов у обследованных лиц проводили общепринятыми гематологическими методами.

Выделение мононуклеарных лейкоцитов из периферической крови, а также последующую экстракцию моноцитов из взвеси мононуклеарных лейкоцитов осуществляли методом градиентного центрифугирования с использованием фиколл-урографина.

Культивирование моноцитов *in vitro* осуществлялось в течение 7 суток с использованием индукторов трансформации моноцитов в ДК и их последующего созревания (Рисунок 1) [Чкадуа Г.З. и соавт., 2010].



Рисунок 1. Трансформация дендритных клеток из моноцитов периферической крови (увеличение $\times 250$): а – незрелые дендритные клетки в полной питательной среде на 3-й день культивирования; б – зрелые («отростчатые») дендритные клетки в полной питательной среде на 6-й день культивирования.

Иммунофенотипирование ДК проводили на 7-е сутки культивирования методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител (eBioscience, USA) и изотипических контролей. Определяли количество клеток, несущих маркер миелоидных ДК CD209, рецептор распознавания TLR2, молекулы костимуляции CD80, CD86, молекулы главного комплекса гистосовместимости HLA-DR.

Концентрацию цитокинов (IL-12, IL-18) измеряли в культуральных супернатантах, полученных на 7-й день культивирования ДК, с помощью

твердофазного иммуноферментного «сэндвичного» метода (ELISA) (наборы eBioscience, USA).

Определение содержания активной формы транскрипционного фактора NF-κB проводили в ядерных лизатах ДК методом иммуноферментного анализа (набор «NF-κB (human p50/p65) Combo Transcription Factor Assay Kit», USA).

Статистическая обработка результатов осуществлялась с помощью программы Statistica версия 2012 (StatSoft Inc., США). Все количественные признаки в группах сравнения не имели нормального распределения (согласно использованному критерию Колмогорова-Смирнова). В связи с этим, для сравнения независимых выборок использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Для всех количественных признаков в сравниваемых группах вычисляли медиану, 25%-й и 75%-й квартили. Степень зависимости между различными параметрами внутри исследуемых групп рассчитывали с помощью ранговой корреляции Спирмена.

Третья глава диссертации посвящена описанию полученных результатов исследования. Числовые данные представлены в виде таблиц, сравнение параметров проведено в зависимости от клинической формы ТЛ (инфильтративный или диссеминированный ТЛ), его варианта (лекарственно-чувствительный или лекарственно-устойчивый ТЛ), а также в зависимости от спектра лекарственной резистентности *Mycobacterium tuberculosis* в группе больных с лекарственно-устойчивым ТЛ.

Четвертая глава диссертационной работы посвящена обсуждению полученных результатов с привлечением данных литературы.

В настоящее время общепризнанным является тот факт, что в основе манифестации туберкулезной инфекции лежит дисрегуляция иммунной системы [Маянский А.Н., 2001; Ерохин В.В., 2009; Уразова О.И., 2010; Сахно Л.В и соавт., 2012]. ДК являются клетками первой линии противомикробной защиты, их активационный сигнал в отношении Т-лимфоцитов во многом превышает таковой от макрофагов [Хоченков Д.А., 2009]. Выбор направления дифференцировки Т-лимфоцитов осуществляется на раннем этапе иммунного ответа в ходе презентации им антигена антигенпрезентирующей клеткой (АПК). Сигнал с поверхности ДК, передающийся на Т-клетку, и наработка соответствующих молекул активации (цитокинов) определяет последующую дифференцировку Т-лимфоцитов [Хоченков Д.А., 2008], которая напрямую зависит от степени зрелости ДК, их функциональной активности и цитокинового микроокружения.

Инфектогены, в том числе *M. tuberculosis*, факторы их жизнедеятельности и продукты клеточного распада способны оказывать влияние на процессы созревания ДК из их предшественников – моноцитов, секреторную и антигенпрезентирующую функции тех и других [Есимова И.Е. и соавт., 2012; Шепелькова Г.С. и соавт., 2012; Сахно Л.В., Черных Е.Р., 2012]. Таким образом, структурные и функциональные нарушения ДК можно рассматривать как факторы иммунопатогенеза различных форм ТЛ.

Изменения параметров периферической крови при инфекционных заболеваниях являются интегральными показателями общего состояния организма, характеризуют степень выраженности общетоксического синдрома, состояние защитных реакций и реактивности организма в целом [Назаренко Г.И., Кишкун А.А., 2006; Луговская С.А., Козинец Г.И., 2009].

В результате проведенного исследования было установлено, что у больных ТЛ вне зависимости от клинической формы (инфильтративный, диссеминированный) и варианта (лекарственно-чувствительный, лекарственно-устойчивый) заболевания, а также спектра лекарственной устойчивости инфицирующего штамма *M. tuberculosis* при ЛУТЛ общее количество лейкоцитов значительно превышало соответствующие показатели в контрольной группе. Известно, что специфическое воспаление при ТЛ характеризуется преобладанием реакций гиперчувствительности замедленного типа и формированием гранулемы [Лядова И.В., Гергерт В.Я., 2009]. С одной стороны, гранулема ограничивает поврежденный участок легочной ткани, а с другой – является местом размножения микобактерий, источником множества биологически активных веществ (цитокинов, ферментов, активных форм кислорода и др.), а также токсинов и продуктов жизнедеятельности *M. tuberculosis*. Последние, действуя дистантно, могут негативным образом влиять на функциональную активность клеток крови, в том числе, иммунокомпетентных, особую роль среди которых играют моноциты, поскольку именно они являются предшественниками тканевых макрофагов и ДК [Маянский А.Н., 2001; Каминская Г.О. и соавт., 2009].

При изучении лейкоцитарного состава периферической крови у больных ТЛ вне зависимости от клинической формы и варианта заболевания, при моно- и полирезистентном ТЛ было установлено увеличение количества моноцитов относительно параметров у здоровых доноров. Поскольку моноциты не формируют костномозговой резерв можно утверждать, что увеличение числа моноцитов в крови у обследованных больных ТЛ происходит за счет усиления образования клеток и ускоренного выхода их из костного мозга на периферию.

Установлено, что структурно-функциональный статус мигрирующих из крови в ткань моноцитов определяет фенотипические и функциональные характеристики ДК. Процесс трансформации моноцитов в ДК *in vivo* достаточно сложен, требует соответствующего цитокинового микроокружения, дозы антигена (микроорганизма) и зависит от функционального потенциала самих моноцитов [Wu L., Dakic A., 2004; Liu K., Nussenzweig M.C., 2010].

В ходе проведенного исследования иммунофенотипа и функциональной активности ДК, трансформированных *in vitro* из моноцитов периферической крови, было установлено, что количество в культуре ДК, экспрессирующих маркер CD209, у больных ТЛ вне зависимости от клинической формы, варианта заболевания и спектра устойчивости инфицирующего штамма *M. tuberculosis*, значительно превышало таковое у здоровых лиц. Молекула CD209 является маркером как зрелых, так и незрелых миелоидных ДК [Leon B. et al., 2005; Merad

М., 2009]. Увеличение числа CD209-позитивных ДК *in vitro* у больных ТЛ свидетельствует об усилении трансформационной активности моноцитов периферической крови в ДК.

Как известно, сигнал к активации и последующему созреванию ДК передается через их распознающие рецепторы, в число которых входит как CD209 (DC-SIGN), так и CD282 (TLR2) [Tailleux L. et al., 2005; Srivastava V. et al., 2009]. В число патоген-ассоциированных структур, распознаваемых ДК, входят компоненты клеточной стенки *M. tuberculosis*, которые, соединяясь с рецептором на поверхности ДК, в частности с TLR2, способны индуцировать процессы внутриклеточной передачи активационного сигнала и, тем самым, влиять на последующие механизмы иммунного ответа [Апт А.С., Кондратьева Т.К., 2008].

В результате анализа особенностей иммунофенотипа ДК, трансформированных из моноцитов периферической крови, было установлено снижение (относительно значений в группе контроля) числа TLR2-позитивных ДК у больных как инфильтративным, так и диссеминированным ТЛ.

Роль TLR2 в процессе сигнальной трансдукции в АПК велика; его недостаточная экспрессия на клетках при туберкулезной инфекции может являться одной из причин замедления и нарушения процессов последующей активации и созревания ДК, поскольку именно через сигнальную трансдукцию от рецепторов TLR-семейства обеспечивается активация и последующая экспрессия молекул главного комплекса гистосовместимости (HLA), костимуляции (CD80, CD86), а также секреция регуляторных цитокинов (IL-12, IL-18) [Симбирцев А.С., 2005; Пальцев М.А. и соавт., 2009; Хаитов Р.М. и соавт., 2009; Тухватулин А.И. и соавт., 2010].

Сравнительный анализ количественного содержания в культуре ДК с фенотипом TLR2⁺ в зависимости от варианта ТЛ показал, что у больных с ЛУТЛ, как и с ЛЧТЛ, отмечалось снижение числа клеток с исследуемым фенотипом по сравнению с нормой, но у пациентов с ЛУТЛ оно было выше, чем при ЛЧТЛ. При этом анализ содержания ДК, экспрессирующих TLR2, у больных ЛУТЛ в зависимости от спектра лекарственной резистентности инфицирующего штамма *M. tuberculosis* выявил разнонаправленные изменения количества TLR2-позитивных ДК в клеточной культуре по сравнению с показателями у здоровых лиц. Так, у пациентов с монорезистентным ТЛ отмечалось снижение процентного содержания TLR2-позитивных ДК, при полирезистентном ТЛ оно было в пределах нормы, а у больных с МЛУ ТЛ регистрировалось повышение количества клеток, экспрессирующих данный рецептор (Таблица 1).

В данном случае можно предположить, что инфектоген (*M. tuberculosis*) определенным образом оказывает влияние на клетки организма хозяина, в частности на моноцитарные клетки крови, изменяя «предуготовленность» последних к реализации своих функций непосредственно в очаге воспаления – фагоцитоз и презентацию антигена Т-лимфоцитам.

Современные исследования подтверждают наличие перекрестных и взаимоингибирующих внутриклеточных сигнальных путей с рецептора TLR2 и DC-SING (CD209) в АПК [Мейл Д. и соавт., 2007; Кооук Y. et al., 2003; Antosz H. et al., 2013; Anwar M.A. et al., 2013]. Так, например, сигнальная трансдукция в ДК, инициированная с рецептора DC-SING, приводит к секреции ими иммуносупрессорного IL-10 (что характерно для толерогенных клеток) и, в целом, к ингибированию процесса созревания ДК [Geurtsen J. et al, 2009; Balboa L. et al, 2010]. Напротив, взаимодействие лиганда с TLR2 опосредует процесс созревания, активации ДК и запуск специфического иммунного ответа, что характерно для иммуногенных ДК [Бережная Н.М., Сепиашвили Р.И., 2011; Brown J. et al., 2011].

Таблица 1

Характеристика рецепторного аппарата дендритных клеток у больных с лекарственно-устойчивым туберкулезом легких в зависимости от спектра лекарственной устойчивости *M. tuberculosis*, Me (Q1-Q3)

Количество дендритных клеток, экспрессирующих соответствующие CD-маркеры, %	Здоровые доноры (n=50)	Больные с лекарственно-устойчивым туберкулезом легких		
		Моно-резистентный (n=23)	Поли-резистентный (n=12)	Множественно лекарственно-устойчивый (n=15)
CD80	1,30 (1,12-1,91)	1,50 (1,30-1,70)	3,30 (2,10-7,00) p ₁ <0,05; p ₂ <0,01	5,50 (0,90-5,80) p ₁ <0,01; p ₂ <0,01; p ₃ <0,05
CD86	60,35 (48,05-71,25)	34,30 (11,60-37,10) p ₁ <0,001	32,75 (18,10-34,80) p ₁ <0,001	39,80 (35,30-41,50) p ₁ <0,01; p ₃ <0,05
CD80/86	46,85 (43,47-56,51)	27,30 (20,60-40,20) p ₁ <0,05	27,04 (15,90-41,07) p ₁ <0,05	22,56 (15,30-40,85) p ₁ <0,05
TLR2	3,73 (3,70-3,95)	1,79 (0,30-2,67) p ₁ <0,001	3,60 (2,50-4,72) p ₂ <0,05	4,35 (4,28-4,51) p ₁ <0,05; p ₂ <0,001; p ₃ <0,05
HLA-DR	78,50 (64,70-80,95)	57,50 (38,30-62,10) p ₁ <0,01	93,45 (84,15-98,15) p ₁ <0,01; p ₃ <0,01	95,90 (90,50-98,90) p ₁ <0,01; p ₃ <0,01

Примечание. p₁ – уровень статистической значимости различий по сравнению с соответствующими параметрами у здоровых доноров; p₂ – по сравнению с соответствующими показателями у больных с монорезистентным ЛУТЛ; p₃ – по сравнению с соответствующими показателями у больных с полирезистентным ЛУТЛ.

Таким образом, на основании полученных данных можно предположить, что у больных ТЛ сигнал к созреванию ДК, поступающий с рецепторов TLR2, является не только недостаточным в силу низкой их экспрессии, но и (в случае

полирезистентного и МЛУ ТЛ) может быть ингибирован конкурирующим сигналом с рецептора DC-SING.

Конечным результатом сигнальной трансдукции от рецептора распознавания является активация транскрипционных факторов NF- κ B, IRF3, IRF7 и группы факторов транскрипции AP-1 (транскрипционные факторы митоген активируемого протеинкиназного каскада). Функция NF- κ B заключается в усилении транскрипции в ядре ДК генов цитокинов (IL-12, IL-18, а также IL-1, IL-6, IL-8, TNF α), молекул костимуляции (CD80, CD86) и факторов адгезии [Хаитов Р.М. и соавт., 2007; Oliveira-Nascimento L. et al., 2012].

При исследовании внутриклеточного содержания NF- κ B в ДК, трансформированных из моноцитов периферической крови, у больных с различными клиническими формами лекарственно-чувствительного и лекарственно-устойчивого ТЛ не было обнаружено статистически значимых его изменений по сравнению с группой здоровых лиц. На фоне низкой экспрессии TLR2 это может свидетельствовать об активации наработки фактора через альтернативные пути сигнальной трансдукции. Очевидно, что у больных ТЛ внутриклеточный уровень NF- κ B поддерживается в пределах нормы в силу высокой экспрессии рецептора CD209 [Gringhuis S.I. et al., 2007]. Однако, как указано выше, активация CD209-зависимой сигнальной трансдукции способствует формированию толерогенных ДК.

Необходимым условием со стороны ДК является представление Т-клетке информации о микобактериальном антигене в комплексе с молекулами главного комплекса гистосовместимости (HLA), а также «направляющий» и усиливающий дифференцировку Т-клеток сигнал с костимуляторных молекул [Мейл Д. и соавт., 2007; Ярилин А.А., 2010]. В результате проведенного исследования было зарегистрировано, что у больных ТЛ вне зависимости от клинической формы и варианта заболевания количество HLA-DR⁺ ДК превышает норму (исключение составили больные с монорезистентным ТЛ). С одной стороны, высокая экспрессия молекул HLA-DR на поверхности ДК у больных ТЛ свидетельствует об отсутствии нарушений со стороны презентации антигена наивным Т-лимфоцитам; с другой стороны, загрузка антигена может происходить только в условиях формирования эффективного сигнала при связывании ДК с патогеном и его последующем процессинге (расщеплении). При этом ввиду особых биологических свойств *M. tuberculosis* (наличие толстой гидрофобной клеточной оболочки) процессинг и загрузка антигена на HLA, а также формирование HLA-пептидного комплекса могут нарушаться. Так, сравнительный анализ количества HLA-DR-позитивных ДК в группах больных ЛУТЛ в зависимости от спектра лекарственной устойчивости инфицирующего штамма возбудителя показал его снижение сравнительно с контролем только в группе больных с монорезистентным ТЛ (Таблица 1). Возможной причиной этому может быть низкий уровень экспрессии TLR2 на ДК у данной группы больных (Таблица 1).

Костимуляторный сигнал является вторым необходимым условием для

активации Т-лимфоцитов при формировании иммунного синапса с АПК [Medvedev A.E. et al., 2006]. Костимуляторные молекулы начинают экспрессироваться на поверхности ДК в процессе их созревания. Корцепторы CD80 и CD86 принадлежат к семейству молекул В7 (В7-1 и В7-2 соответственно) и являются лигандами для молекул семейства CD28 и СТЛА-4, которые экспрессируются на поверхности как наивных, так и активированных Т-лимфоцитов [Хоченков Д.А., 2009; Ярилин А.А., 2010].

В результате настоящего исследования было установлено, что у больных ТЛ вне зависимости от его клинической формы, как при лекарственно-чувствительном, так и при лекарственно-устойчивом варианте заболевания, в клеточных культурах регистрировалось пониженное (относительно контрольных значений) содержание ДК, несущих на своей поверхности молекулу CD86 (Таблица 2).

Таблица 2

Характеристика рецепторного аппарата дендритных клеток у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания, Me (Q1-Q3)

Количество дендритных клеток, экспрессирующих соответствующие CD-маркеры, %	Здоровые доноры (n=50)	Больные туберкулезом легких	
		Инфильтративный (n=36)	Диссеминированный (n=62)
CD80	1,30 (0,82-1,91)	2,50 (0,98-4,55) $p_1 < 0,05$	2,60 (0,60-5,65) $p_1 < 0,05$
CD86	60,35 (48,05-71,25)	31,70 (24,10-35,60) $p_1 < 0,001$	43,90 (37,40-45,10) $p_1 < 0,05; p_2 < 0,05$
CD80/86	46,85 (43,47-56,51)	27,04 (15,90-41,07) $p_1 < 0,05$	26,14 (16,05-40,60) $p_1 < 0,05$

Примечание. Здесь и в таблице 3: p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению с соответствующими параметрами у здоровых доноров; p_2 – по сравнению с соответствующими параметрами у больных с инфильтративным туберкулезом легких.

Особенностью костимуляторных молекул является их индуцибельная экспрессия. При взаимодействии микробных продуктов с TLR на поверхности ДК транскрипция генов молекул костимуляции резко увеличивается в результате активации таких транскрипционных факторов, как NF- κ B, IRF7, AP-1 и открытого недавно – PU.1 [Balboa L. et al., 2010; Kanada S. et al., 2010]. Возможно, что, несмотря на нормальное содержание активной формы фактора NF- κ B в ДК, «мощности» сигнального каскада от рецептора TLR2 (в виду его дефицита на ДК у больных ЛЧТЛ и большей части больных ЛУТЛ) недостаточно для активации транскрипции гена, кодирующего CD86.

Молекула CD80 участвует в передаче сигнала внутрь Т-лимфоцита и является ключевой костимуляторной молекулой, опосредующей активацию Т-клеток, их пролиферацию и дифференцировку [Sansom D.M. et al., 2003;

Pentcheva-Hoang T. et al., 2004; Zheng Y. et al., 2004; Gerdes N., Zirlik A., 2011; Хоченков Д.М., Гаврилова М.В., 2012; Merrill J.T., 2013].

Как показали результаты проведенного исследования, у больных ТЛ регистрировалось увеличение (по сравнению с контролем) количества ДК, экспрессирующих на своей поверхности молекулу CD80; исключение составила группа больных с монорезистентным ТЛ (Таблицы 1, 2).

Исследования иммунного синапса и открытие гомолога CD28 – молекулы CTLA-4 (*Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4*) (CD152) показали участие CD80 не только в процессах активации, но и в механизмах супрессии Т-лимфоцитов и последующего запуска их апоптотической программы [Sansom D.M. et al., 2003; Saito T., Yokosuka T., 2006; Gu P. et al., 2012]. Согласно исследованиям зарубежных ученых, одним из последствий взаимодействия молекул CD80 и CTLA-4 является формирование Т-регуляторных лимфоцитов и периферической толерантности [Sallusto F., Lanzavecchia A., 2002]. Известно также, что молекула CD86 ответственна за костимуляцию на раннем этапе презентации антигена, в отличие от CD80, наличие которой требуется в более поздние периоды Т-клеточного прайминга [Ярилин А.А., 2010]. Повышение экспрессии молекул CD80 на поверхности ДК в условиях дефицита молекул CD86 не может компенсировать последний. Более того, активационный сигнал с ДК в этом случае является неэффективным в силу отсутствия первичной костимуляции [Greaves P., Gribben J.G., 2012; Chen L., Flies D.V., 2013].

Основным транскрипционным фактором, ответственным за экспрессию молекул костимуляции, в частности CD80, является NF- κ B [Ярилин А.А., 2010]. Возможно, что, несмотря на конкурирующую сигнальную трансдукцию с рецепторов CD209 и TLR2, ген, кодирующий CD80, транскрибируется и молекула костимуляции «выставляется» на поверхности ДК. При этом корреляционный анализ выявил наличие прямой слабой зависимости между данными показателями ($r=0,28$, $p<0,05$).

Известно, что для формирования «зрелого» (или состоятельного) иммунного синапса, как структурированной зоны контакта между ДК и Т-лимфоцитом, необходима экспрессия обеих костимуляторных молекул на поверхности ДК – CD80 и CD86. В ходе настоящего исследования было установлено, что у больных ТЛ вне зависимости от клинической формы (ИТЛ или ДТЛ) и варианта (ЛЧТЛ или ЛУТЛ) заболевания количество ДК с фенотипом CD80⁺CD86⁺ снижалось по сравнению с соответствующими значениями у здоровых лиц (Таблицы 1, 2). Снижение количества иммуногенных CD80⁺CD86⁺ ДК у больных ТЛ может способствовать нарушению процессов костимуляции и презентации антигена наивным Т-лимфоцитам, а также опосредовать их переход в состояние анергии [Чурина Е.Г., 2013].

Костимуляторный сигнал является не единственным условием для активации Т-лимфоцитов и их последующей дифференцировки в Т-лимфоциты-хелперы типа 1 (Th1). Основную «направляющую» функцию осуществляют

иммунорегуляторные цитокины, которые, в частности, секретируются ДК при их антиген-опосредованной активации [Хаитов Р.М., 2011; Xu M. et al., 2010]. Для оценки цитокин-секреторной активности ДК, трансформированных из моноцитов периферической крови, в настоящей работе у больных ТЛ было проведено определение концентрации ИЛ-12 (его биологически активного гетеродимера – ИЛ-12p70) и ИЛ-18 в супернатантах клеточных суспензий ДК после индукции клеток антигеном (бактериальным ЛПС).

Известно, что ИЛ-12 нарабатывается уже на начальных этапах активации ДК и является цитокином с плеiotропным типом действия, активируя как сами АПК, так и наивные Т-лимфоциты [Кетлинский С.А., 2005]. Кроме того, ИЛ-12 способствует поддержанию пула Th1-лимфоцитов путем индукции секреции ими ростового фактора ИЛ-2 и подавления функциональной активности Т-лимфоцитов-хелперов типа 2 (Th2) [Фрейдлин И.С., 1999; Olleros M.L. et al., 2007; Cooper A.M., Khader S.A., 2008]. В ходе исследования было зарегистрировано, что у пациентов с инфильтративной формой ТЛ уровень секреции ИЛ-12 оказался ниже, а у больных с ДТЛ, напротив, выше соответствующего параметра у здоровых доноров (Таблица 3).

Исследования последних лет, касающиеся иммунопатогенеза отдельных клинических форм ТЛ, свидетельствуют о том, что для ИТЛ характерно наиболее выраженное угнетение клеточно-опосредованных иммунных реакций по сравнению с диссеминированным ТЛ [Воронкова О.В. и соавт., 2010], что, по-видимому, и является следствием недостаточной продукции при ИТЛ одного из основных Th1-ассоциированных цитокинов – ИЛ-12.

Таблица 3

Концентрация цитокинов в супернатантах культуральных суспензий дендритных клеток у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания, Ме (Q1-Q3)

Концентрация цитокинов, пг/мл	Здоровые доноры (n=50)	Больные туберкулезом легких	
		Инфильтративный (n=36)	Диссеминированный (n=62)
ИЛ-12	16,69 (14,67-20,87)	12,50 (8,67-13,70) p ₁ <0,05	34,40 (25,85-44,90) p ₁ <0,001; p ₂ <0,001
ИЛ-18	31,03 (30,25-34,04)	32,56 (16,51-34,54)	37,78 (35,90-44,90) p ₁ <0,05; p ₂ <0,05

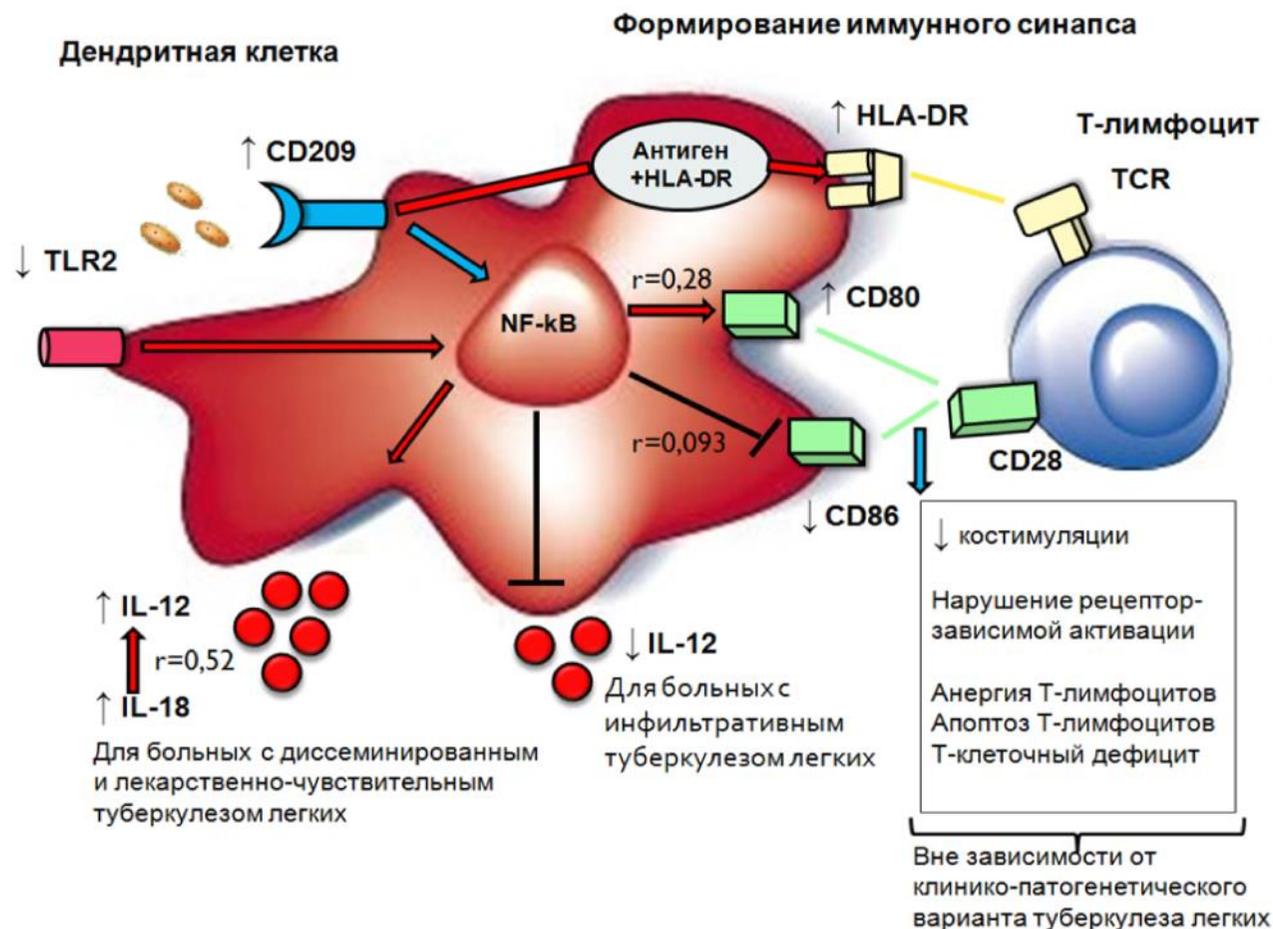
Повышенный уровень стимулированной продукции ИЛ-12 у пациентов с диссеминированным ТЛ, а также при ЛЧТЛ и ЛУТЛ (монорезистентном и множественно лекарственно-устойчивом) свидетельствует о высокой цитокин-секреторной реактивности ДК. Однако известно, что ИЛ-12 способен оказывать влияние на процессы пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов только в синергизме с молекулами костимуляции (в частности, с CD86) [Cooper M.A., 2009]. Поскольку в результате проведенных исследований у всех больных ТЛ была выявлена недостаточность CD86-экспрессирующей функции ДК, а также

снижение числа иммуногенных ДК с фенотипом CD80⁺CD86⁺, можно предположить что эффекты цитокина в отношении Т-клеток окажутся нереализованными, даже в случае его избыточной продукции.

В ходе исследования способности ДК секретировать IL-18 было зарегистрировано увеличение секреции IL-18 (по сравнению с соответствующими параметрами в группе здоровых доноров) у больных с ДТЛ (Таблица 3), ЛЧТЛ и при полирезистентном варианте ТЛ. При этом концентрация цитокина в супернатантах культуральных суспензий ДК при ИТЛ (Таблица 3) и в общей группе больных с ЛУТЛ оказалась сравнимой с нормой, а при монорезистентном и МЛУ ТЛ – ниже нормы. Необходимо отметить, что в отношении диссеминированной формы ТЛ было показано одновременное повышение секреции ДК обоих цитокинов – как IL-18, так и IL-12 (Таблица 3). По-видимому, данный факт обусловлен тем, что IL-18 способен аутокринно стимулировать ДК через рецептор IL-18R, который содержит TIR-домен и запускает MyD88-зависимый сигнальный путь без участия рецептора типа TLR2, что в свою очередь приводит к усилению транскрипции генов, в том числе гена *IL12* [Хаитов Р.М. и соавт., 2009; Ярилин А.А., 2010]. Так, проведенный корреляционный анализ выявил прямую зависимость средней силы между показателями секреции IL-12 и IL-18 у больных ДТЛ ($r=0,52$; $p<0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резюмируя полученные данные, можно выделить ряд патогенетических факторов, которые лежат в основе дисфункции ДК и иммунопатогенеза туберкулеза (Рисунок 2). Так, при ТЛ трансформация моноцитов в ДК *in vitro* в условиях их индукции происходит активнее, чем у здоровых доноров. Однако такого рода активное созревание моноцитов крови в ДК сочетается с признаками изменений функционального статуса трансформированных клеток. Показано, что у больных ТЛ сигнал активации ДК не может быть достаточно эффективным в силу дефицита поверхностных рецепторов для связывания антигена TLR2 и повышенной экспрессии молекул CD209, конкурирующих с TLR2. При этом в силу повышенной экспрессии на ДК молекул главного комплекса гистосовместимости класса II – HLA-DR, способность ДК презентировать антиген не страдает (за исключением больных с монорезистентным ТЛ). С другой стороны, показано, что у больных ТЛ уровень транскрипционного фактора NF-κB в ДК не изменяется, но, несмотря на это, снижается экспрессия молекул костимуляции CD86 и количество иммуногенных CD80⁺CD86⁺ ДК. Таким образом, страдает ранний этап иммунного ответа ввиду нарушения костимуляции и отсутствия условий, необходимых для формирования иммунного синапса между ДК и Т-лимфоцитом и активации Т-клеток. Данная ситуация усугубляется гипосекрецией ДК одного из ключевых цитокинов активации Т-клеток – IL-12 (при ИТЛ), а также IL-18 (при монорезистентном и МЛУ ТЛ), стимулирующего экспрессию на Т-клетках рецептора к IL-12.



Примечание: TLR2 - толл-подобный рецептор типа 2 для связывания антигена на поверхности дендритной клетки; CD209 - рецептор инициализации дендритных клеток (маркер дендритных клеток миелоидного происхождения); NF-κB - ядерный фактор транскрипции; HLA-DR - молекулы главного комплекса гистосовместимости класса II на поверхности дендритной клетки; CD80/CD86 - молекулы коstimуляции на поверхности дендритной клетки; TCR - T-клеточный рецептор для распознавания антигена; CD28 - молекула коstimуляции на поверхности T-лимфоцита.

Красный цвет стрелки - активация, синий - угнетение.

Рисунок 2. Патогенетические факторы дисфункции дендритных клеток у больных туберкулезом легких на основании результатов собственных исследований и (в рамке) данных литературы.

Полученные результаты подчеркивают актуальность дальнейшего, более детального изучения молекулярных механизмов дисрегуляции противотуберкулезного иммунного ответа на разных этапах его реализации с целью выявления критериев диагностики его нарушений, а также для разработки методов патогенетически обоснованной их коррекции с учетом клинико-патогенетического варианта туберкулезной инфекции.

ВЫВОДЫ

1. У больных туберкулезом легких увеличение относительного и абсолютного количества моноцитов в крови сочетается с повышением их трансформационной активности в дендритные клетки в условиях *in vitro* с максимальной ее выраженностью при множественно лекарственно-устойчивом варианте болезни.
2. Дефицит на дендритных клетках рецепторов для связывания антигена типа TLR2, конкурирующих за адаптерные молекулы с рецепторами CD209, не влияет на содержание активной формы внутриклеточного транскрипционного фактора NF- κ B у больных туберкулезом легких.
3. Дисбаланс рецепторов на дендритных клетках, формирующих иммунный синапс с Т-лимфоцитами, у больных лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких вне зависимости от клинической формы заболевания проявляется гиперэкспрессией молекул HLA-DR и CD80 на фоне дефицита молекул CD86 и числа иммуногенных клеток с иммунофенотипом CD80⁺CD86⁺.
4. Секреция цитокинов дендритными клетками *in vitro* у больных туберкулезом легких различается в зависимости от клинико-патогенетического варианта заболевания. Нормальный уровень продукции IL-18 дендритными клетками сочетается с гипосекрецией IL-12 при инфильтративном туберкулезе легких и с гиперсекрецией IL-12 при лекарственно-резистентном туберкулезе легких; при диссеминированном и лекарственно-чувствительном туберкулезе легких определяется гиперсекреция обоих цитокинов.
5. При монорезистентном туберкулезе легких признаки дисфункции дендритных клеток являются более выраженными, чем при поли- и множественно-резистентном его вариантах – повышение секреции IL-12 *in vitro* сочетается с дефицитом секреции IL-18 и гипоэкспрессией на клетках рецепторов, необходимых для активации Т-лимфоцитов – молекул для связывания антигена (TLR2), его презентации (HLA-DR) и костимуляции (CD86).
6. При полирезистентном туберкулезе легких дефицит на дендритных клетках молекул CD86 для костимуляции Т-лимфоцитов на ранних этапах презентации антигена сочетается с гиперэкспрессией гомологичных им молекул костимуляции CD80, а также HLA-DR в комплексе с повышением секреции IL-18.

7. При множественно лекарственно-резистентном туберкулезе легких гипосекреция IL-18 дендритными клетками и нарушение их костимулирующей функции вследствие дефицита молекул CD86 сочетаются с повышением продукции IL-12 и экспрессии молекул для связывания и презентации антигена (TLR2, HLA-DR).

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Клинико-иммунологическая характеристика Beijing-туберкулеза в Томской области / Р.Р. Хасанова, О.И. Воронкова, О.И. Уразова, З.К. Хайтова, И.Е. Есимова, А.А. Кошкина // Материалы XI съезда фтизиатров России, г. Москва, 1-3 июня 2011. – Туберкулез и болезни легких. – 2011. – № 4. – С. 96.
2. Эпидемиологические и иммунопатологические особенности Beijing-туберкулеза в Томской области / Р.Р. Хасанова, О.И. Воронкова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, И.О. Наследникова, З.К. Хайтова, Е.Г. Чурина, И.Е. Есимова // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2011. – № 3 (58). – С. 4-10.
3. IL-12-продуцирующая активность антигенпрезентирующих клеток при туберкулезе легких с множественной лекарственной / Р.Р. Хасанова, О.В. Воронкова, О.И. Уразова, З.К. Хайтова, И.Е. Есимова // Материалы всероссийской научной конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы инфекционной патологии - 2011», г. Санкт-Петербург, 3-4 февраля 2011 г. – СПб., 2011. – С. 73.
4. Особенности дендритных клеток у больных туберкулезом легких / З.К. Хайтова, О.И. Уразова, О.В. Воронкова, Р.Р. Хасанова // Материалы II всероссийской конференции молодых ученых «Проблемы биомедицинской науки третьего тысячелетия», г. Санкт-Петербург, 12-14 ноября 2012 г. – СПб., 2012. – С. 241-243.
5. Уровень секреции IL-12 и TNF α у больных туберкулезом легких / Р.Р. Хасанова, О.И. Уразова, О.В. Воронкова, З.К. Хайтова, Н.В. Теплова // Материалы XVII межгородской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии - 2012», г. Санкт-Петербург, 23-25 апреля 2012 г. – СПб., 2012. – С. 138-139.
6. Цитокинпродуцирующая активность мононуклеарных лейкоцитов крови при туберкулезе легких с множественной лекарственной устойчивостью / Р.Р. Хасанова, О.В. Воронкова, О.И. Уразова, З.К. Хайтова, И.Е. Есимова, А.А. Кошкина // Материалы XI съезда фтизиатров России, г. Москва, 1-3 июня 2011. – Туберкулез и болезни легких – 2011. – № 5. – С. 209.
7. Роль дендритных клеток в противотуберкулезном иммунитете / З.К. Хайтова, О.В. Воронкова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, Н.В. Теплова, Е.Г. Чурина, И.О. Наследникова, Ю.В. Колобовникова // Российский иммунологический журнал. – 2012. – Т. 6 (15), № 2. – С. 119-123.

8. Особенности иммунофенотипа дендритных клеток и Т-лимфоцитов у больных туберкулезом легких / З.К. Хаитова, О.И. Уразова, Р.Р. Хасанова, И.Е. Есимова, В.В. Новицкий, О.В. Воронкова // **Фундаментальные исследования.** – 2012. – № 12 (часть 2). – С. 386-390.
9. Иммунофенотипическая характеристика дендритных клеток у больных остро прогрессирующим туберкулезом легких / З.К. Хаитова, Р.Р. Хасанова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, О.В. Воронкова // Сборник статей третьей международной научно-практической конференции «высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине» г. Санкт-Петербург, 26-28 апреля, 2012. – СПб., 2012 г. – Т. 2. – С. 126-129.
10. Особенности продукции IL-12 β мононуклеарными лейкоцитами крови у больных туберкулезом легких с множественной лекарственной устойчивостью / И.С. Небесная, Р.Р. Хасанова, З.К. Хаитова // Материалы II Всероссийской конференции молодых ученых «Сибирские медицинские чтения» г. Барнаул, 18 мая 2012 г. – Барнаул, 2012. – С. 26-28.
11. Хаитова, З.К. Молекулярные механизмы дезактивации дендритных клеток у больных туберкулезом легких / З.К. Хаитова // **Бюллетень сибирской медицины.** – 2013. – Т. 12, № 1. – С. 139–142.
12. Продукция IL-12 β мононуклеарными лейкоцитами крови у больных туберкулезом легких в зависимости от спектра лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* / Р.Р. Хасанова, О.И. Уразова, О.В. Воронкова, В.В. Новицкий, З.К. Хаитова, И.Е. Есимова, Е.Г. Чурина, А.А. Кошкина // **Иммунология.** – 2013. – Т. 34, № 2. – С. 115-118.
13. Особенности иммунофенотипа и цитокинсекреторной активности дендритных клеток у больных туберкулезом легких / З.К. Хаитова, О.И. Уразова, О.В. Воронкова, Р.Р. Хасанова, В.В. Новицкий // **Фундаментальные исследования.** – 2013. – № 9 (часть 1). – С. 152-155.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АПК – антигенпрезентирующая клетка
 ВИН – вторичная иммунологическая недостаточность
 ДК – дендритная клетка
 ДТЛ – диссеминированный туберкулез легких
 ИТЛ – инфильтративный туберкулез легких
 ЛУТЛ – лекарственно-устойчивый туберкулез легких
 ЛЧТЛ – лекарственно-чувствительный туберкулез легких
 МЛУ ТЛ – множественно лекарственно-устойчивый туберкулез легких
 ТЛ – туберкулез легких
 CD (*cluster of differentiation*) – кластер дифференцировки
 HLA (*human leukocytes antigen*) – человеческий лейкоцитарный антиген
 IL (*Interleukin*) – интерлейкин
 NF- κ B (*nuclear factor κ B*) – ядерный фактор транскрипции κ B
 TLR (*Toll-like receptor*) – Toll-подобный рецептор