

МЕЗЕНХИМНЫЕ КЛЕТКИ СТРОМЫ КОСТНОГО МОЗГА ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ ГЕНИТАЛИЙ У КРОЛИКОВ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ С МОРФОЛОГИЧЕСКИМ КОНТРОЛЕМ)

УДК 616-002.5:615.281.873.21
DOI: 10.17816/RCF15247-55

© **Б.М. Ариэль¹, Ф.М. Гусейнова¹, Т.И. Виноградова¹, Н.В. Заболотных¹, Д.А. Ниаури^{2,4}, Н.М. Юдинцева³, М.Л. Витовская¹, О.Л. Рубцова¹, М.З. Догондзе¹, П.К. Яблонский^{1,2}**

¹ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» МЗ РФ;

²Санкт-Петербургский государственный университет;

³ФГБУН «Институт цитологии» РАН;

⁴ФГБУН «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта» РАН, Санкт-Петербург, Россия

Для цитирования: Ариэль Б.М., Гусейнова Ф.М., Виноградова Т.И., и др. Мезенхимные клетки стромы костного мозга при туберкулезе гениталий у кроликов (экспериментальное исследование с морфологическим контролем) // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. – 2017. – Т. 15. – № 2. – С. 47–55. doi: 10.17816/RCF15247-55

Поступила в редакцию 17.04.2017

Принята к печати 30.05.2017

Ключевые слова:

мезенхимные клетки стромы костного мозга; экспериментальный туберкулезный сальпингит; клеточная терапия; репарация; миофибробласты; тиоуреидоиминометилпиридиния перхлорат.

Резюме

Целью данного исследования явилась оценка терапевтической эффективности использования аллогенных мезенхимных клеток стромы костного мозга (МСК) (5 млн/мл однократно) в сочетании со специфической терапией при экспериментальном туберкулезе женских гениталий (20 кроликов по-

роды шиншилла). Показано, что однократное введение МСК через 3 месяца после заражения купировало туберкулезный пансальпингит, направив его в сторону репарации с реэпителизацией труб. Отмечено активное участие в репаративной реакции миофибробластов, дифференцирующихся из МСК и способствующих нормализации взаимоотношений эпителия и соединительной ткани. Наряду с этим восстановлению структурно-функциональной целостности маточных труб способствовало и введение в состав специфической терапии перхлорона, синергично усилившего действие других противотуберкулезных препаратов в активизации фагоцитарной функции макрофагов с достижением абациллирования.

MESENCHYMAL STEM CELLS OF THE BONE MARROW IN TREATMENT OF GENITAL TUBERCULOSIS IN RABBITS (EXPERIMENTAL RESEARCH WITH MORPHOLOGICAL CONTROL)

© **B.M. Ariel¹, F.M. Guseinova¹, T.I. Vinogradova¹, N.V. Zabolotnykh¹, D.A. Niaury^{2,4}, N.M. Yudintceva³, O.L. Rubtsova¹, M.Z. Dogonadze¹, M.L. Vitovskaya¹, P.K. Yablonsky^{1,2}**

¹Saint Petersburg Scientific Research Institute of Phthisiopulmonology;

²St Petersburg State University;

³Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences;

⁴FSBSI "The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott", Saint Petersburg, Russia

For citation: Ariel BM, Guseinova FM, Vinogradova TI, et al. Mesenchymal stem cells of the bone marrow in treatment of genital tuberculosis in rabbits (experimental research with morphological control). *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2017;15(2):47-55. doi: 10.17816/RCF15247-55

Received: 17.04.2017

Accepted: 30.05.2017

◆ **Keywords:** mesenchymal stromal cells of the bone marrow; experimental tuberculous salpingitis; reparation; cellular therapy; myofibroblasts; thioureidoiminomethylpyridinium perchlorate.

◆ **Abstract.** The aim of this study was to evaluate a therapeutic efficacy of allogenic mesenchymal bone marrow stem cells (MSCs) (5 million / ml dose) in combination with specific therapy in experimental female genital tuberculosis (20 female "Chinchilla" rabbits). It has been shown that on

the background of specific therapy the injection of MSCs actively affects reparative processes and promotes reepithelialization of the fallopian tubes 2 months after the inoculation. An active position of myofibroblasts differentiating from the MSC in the reparative reaction and promoting a normalization of epithelium and connective tissue relations

Поиск путей восстановления проходимости маточных труб и необратимого повреждения эндометрия, развивающихся как исход туберкулеза женских гениталий, — важнейшая задача терапии последнего, поскольку генитальный туберкулез является важным этиологическим фактором бесплодия у женщин репродуктивного возраста [9, 23, 25]. Эта редко встречающаяся патология (с частотой не выше 1–2 % в популяции) протекает латентно, чаще всего в виде туберкулезного сальпингита, под маской какой-либо иной гинекологической патологии, не имеет склонности к генерализации, характерной для многих других форм туберкулеза, распространяется главным образом в полость матки (в 50 % случаев). Морфо- и патогенез туберкулеза женских гениталий до конца не изучен, экспериментальных исследований крайне мало [1].

Одним из направлений репарационной медицины, способной привести к восстановлению фертильности при туберкулезе женских гениталий, является клеточная терапия, основанная на трансплантации в пораженный орган мезенхимных клеток стромы костного мозга (МСК) для стимуляции восстановительных процессов. Восстановительная функция MSC обусловлена их мультипотентностью, способностью мигрировать к месту повреждения, закрепляться, дифференцироваться и осуществлять функцию замещенных клеток. Именно эти свойства MSC дают возможность использовать их для репарации и регенерации тканей, например, миокарда, нервной ткани, костей, сухожилий, хрящей [13, 16, 18].

Опубликованы исследования по обоснованию применения MSC и в терапии туберкулеза органов дыхания [10, 19, 21, 24].

Целью данной работы стало исследование терапевтической эффективности использования MSC (с адекватным морфологическим контролем) при экспериментальном туберкулезе гениталий у кроликов. Есть все основания полагать, что мультипотентность MSC, их высокая мобильность и способность проникать в патологический очаг с последующей дифференцировкой могут обеспечить нормальный ход репаративных реакций в маточных трубах при туберкулезе гениталий.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Туберкулез гениталий моделировали в левой маточной трубе по оригинальной методике [6]. Для заражения использовали суспензию, содержащую

was registered. At the same time, the introduction of a new antituberculous drug – tioureidoiminomethylpyridinium perchlorate (perhlozon) to the specific treatment, was contributed to a restoration of structural and functional integrity of the fallopian tubes, by reinforcing the effect of etiotropic substances and by accelerating abacillation.

10^7 колониеобразующих единиц в 0,2 мл физиологического раствора (заражающая доза) стандартизованного лабораторного вирулентного тест-штамма *Mycobacterium tuberculosis* Erdman (МБТ), чувствительного к противотуберкулезным препаратам (из коллекции ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России). Опыты проведены на 20 половозрелых кроликах-самках породы шиншилла, полученных из ФГУП «Питомник лабораторных животных „Рапполово“» (Ленинградская область), в соответствии с этическими принципами обращения с лабораторными животными [17].

Характеристика групп наблюдения: 1-я группа ($n = 6$) — зараженные без последующего лечения (контроль заражения); 2-я группа ($n = 7$) — леченные только противотуберкулезными препаратами (ПТП); 3-я группа ($n = 7$) — получавшие ПТП в комплексе с МСК. Динамику инфекционного процесса прослеживали комплексно по результатам иммунодиагностики (аллерген туберкулезный рекомбинантный, ДСТ, ЗАО «Генериум», Россия), микробиологического метода (посевы гомогенатов ткани маточной трубы на питательную среду Левенштейна – Йенсена), гистеросальпингографии и лапароскопии.

Противотуберкулезную терапию начинали при положительных результатах кожной пробы — Диаскинтест через 1 месяц от момента заражения с использованием изониазида (ОАО «Мосхимфармпрепараты им. Н.А. Семашко», Россия, внутримышечно, 10 мг/кг), рифампицина («Маклеодз Фармсьютикалз ЛТД», Индия, внутривенно, 10 мг/кг), этамбутола («Люпин ЛТД», Индия, внутривенно, 20 мг/кг) и перхлорона (тиоиминометилпиридиния перхлорат, ОАО «Фармасинтез» Россия, внутривенно, 15 мг/кг). Клетки костного мозга получали из гребня подвздошной кости половозрелого здорового кролика, выделение и культивирование MSC проводили по стандартной методике [8], иммунофенотипирование клеток третьего пассажа — с помощью моноклональных антител Abcam (США) на проточном цитофлуориметре Epics XL (Beckman Coulter). Относительное количество позитивных клеток по иммунофенотипическим маркерам CD90 и CD105, характерным для MSC, составило 81 и 92 % соответственно, гемопозитивский маркер CD45 отсутствовал. Аллогенные MSC, окрашенные прижизненно PKH-26 (1kit Lot 122k0428 PKH26 RED-Fluorescent-cell linker mini kit, Sigma-Aldrich, США) по стандартной методике [15], в концентрации 5 млн/мл трансплантировали однократ-

но под серозную оболочку левого маточного рога через 2 месяца от начала химиотерапии (рис. 2, а).

Животных выводили из опыта через 4 месяца от начала комплексной этиотропной терапии путем введения в латеральную вену уха препарата для анестезии золетила (золозепам + тилетамин, «Вирбак СА», Франция) в дозе, в 5 раз превышающей терапевтическую. Меченые МСК в маточной трубе определяли в криосрезах ткани (15–20 мкм), ядра клеток дополнительно окрашивали DAPI (4,6-диамидино-2-фенилиндола дигидрохлорид, Sigma-Aldrich, США). В качестве заключающей среды использовали Mounting medium (Pharmacia Biotech, Швеция). Идентификацию окрашенных клеток проводили с помощью конфокального микроскопа Leica TCS SL (Zeiss, Германия) с использованием аргонового лазера (при длине волны 405 нм выявляли ядра; при длине волны 488 нм — РКН-26). Для гистологического исследования оставшуюся часть маточной трубы фиксировали в 10 % растворе формалина, заливали в парафин, окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Цилю – Нельсену. Для статистической обработки полученных данных использовали традиционные параметрические методы (вычисление средних арифметических, стандартных ошибок и достоверности различий при $p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Через 5 месяцев после заражения на всем протяжении маточной трубы вплоть до ее устья имелась однотипная картина тяжелого воспалительного процесса: стенка трубы была гиперемирована и отечна, на серозной оболочке определялись рыхлые фибринозные наложения, а в брюшной полости (*resp.* малом тазу) — серозно-фибринозный экссудат. Гистеросальпингография показала, что через 60 и 120 суток после заражения обе трубы были облитерированы: контраст задерживался и не поступал в брюшную полость.

Гистологическое исследование стенки левой (зараженной) трубы кроликов 1-й группы выявило тяжелые некробиотические изменения, максимально выраженные в эпителии. Весь эпителиальный пласт разрыхлялся, отмечалось образование мелких язвенных дефектов и эрозий, в дне которых определялись ядерный детрит и распадающиеся лейкоциты, эпителиоциты резко увеличивались в размерах и округлялись, цитоплазма их просветлялась и вакуолизировалась, а ядра уплощались и оттеснялись к периферии, под клеточную оболочку (рис. 1, а). Такие клетки имели разительное сходство с койлоцитами, появляющимися в эпителиальной выстилке шейки матки при вирусных поражениях у женщин и неоднократно отмеченными в литературе. Эти цитопатические изменения носили либо диффузный, либо очаговый характер, с формированием вокруг

«койлоцитов» лимфоидного вала, изолировавшего их в эпителиальном пласте среди соседних, менее поврежденных эпителиоцитов. Собственная пластинка слизистой оболочки, едва заметная в нормальной трубе, была утолщена, полнокровна, разрыхлена и густо инфильтрирована клетками воспалительного экссудата, среди которых преобладали вакуолизованные макрофаги, лимфоциты, единичные псевдоэозинофильные лейкоциты и многочисленные фибробласты, плохо различимые в окружающей клеточной массе. Некробиотические изменения в собственной пластинке были выражены менее значительно, чем в эпителии. Обнаруживалась типичная гранулематозная реакция: казеозно-некротические очаги с ландкартообразными контурами, окруженные эпителиоидноклеточным валом, скоплениями фибробластов, лимфоидных элементов и единичными клетками Лангханса. В таких участках эпителий был рыхло связан с инфильтративно измененной собственной пластинкой или же отторгался в просвет трубы.

В мышечной и серозной оболочках регистрировались разрыхление, отек, очаговая лимфогистиоцитарная реакция и некробиотические изменения; в просвете трубы — обильные некротические массы, представлявшие собой распавшиеся эпителиальные клетки, нейтрофилы и макрофаги, ядерный детрит. Задержка некротических масс в просвете трубы вследствие нарушения перистальтики отмечалась весь период наблюдения (*resp.* до 5 месяцев). Обнаруживались сосудистые расстройства в виде чередования гиперемии и ишемии, проявлявшейся сужением просвета сосудов вплоть до щелевидной формы в результате сдавления периваскулярным лимфогистиоцитарным инфильтратом. При окраске по Цилю – Нельсену в некротических массах регистрировалось большое количество неравномерно расположенных микобактерий, главным образом в виде палочек с типичной пространственной ориентацией и группировкой, а иногда и в виде зернистых форм, лежащих либо свободно в некротических массах, либо внутриклеточно в эпителиоидных клетках, макрофагах и клетках Лангханса (рис. 1, б).

В незараженной трубе кроликов 1-й группы наблюдались разрыхление стенки, в том числе и эпителиального покрова, обусловленное отеком и гиперемией, периваскулярные лимфоидные скопления в мышечной оболочке. Специфические грануляции и микобактерии не выявлялись.

У кроликов, леченных только ПТП (группа 2), наблюдалось отчетливое уменьшение воспалительной реакции и некробиотических изменений. Некротиические массы в просвете трубы отсутствовали, что свидетельствует о восстановлении перистальтики и эвакуаторной способности трубы. Не выявлено некробиотических изменений эпителиального пласта, гранулематозной реакции и микобактерий.

В то же время во всех слоях стенки трубы обнаружены признаки избыточного фиброзирования.

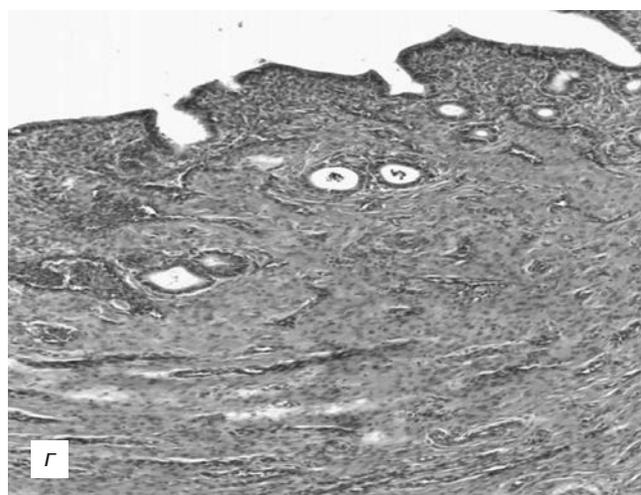
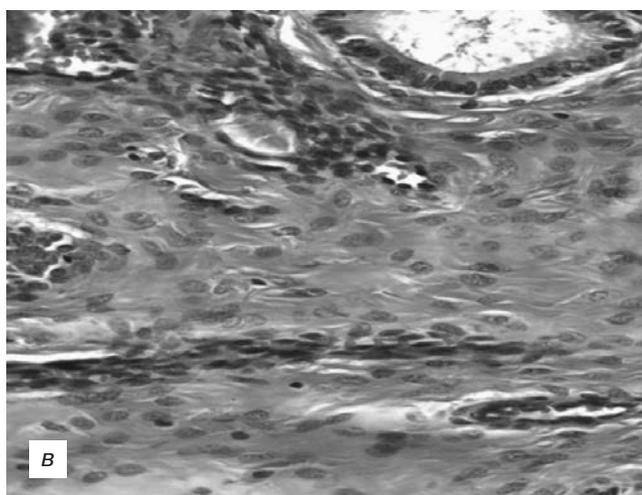
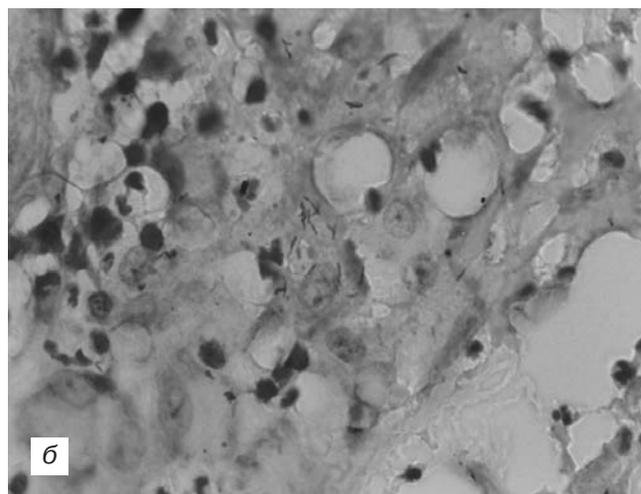
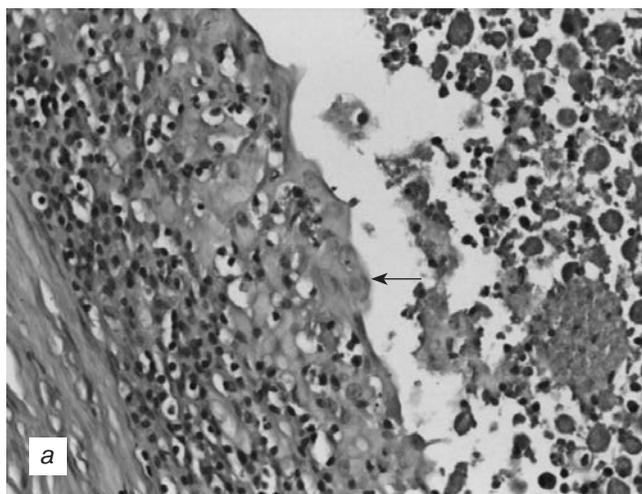


Рис. 1. Стенки маточной трубы через 5 месяцев после заражения: *а* — тяжелые некробиотические изменения у нелеченого животного, максимально выраженные в эпителии. Клетки эпителия, схожие с «койлоцитами» (←). Окраска гематоксилином и эозином. $\times 450$; *б* — большое количество микобактерий в некротических массах в просвете трубы нелеченого животного. Окраска по Цилю – Нельсену. $\times 1100$; *в* — разрастание миофибробластов в собственной пластинке слизистой оболочки кролика через 4 месяца терапии. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 450$; *г* — тяжи клеток типа фиброцитов и аморфный неклеточный матрикс, окрашенный амфифильно, в мышечной и серозной оболочках трубы через 4 месяца терапии противотуберкулезными препаратами. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 280$

В слизистой оболочке отмечалось формирование довольно грубых мало разветвленных сосочковых структур с фиброзированной стромой. Эпителиальная выстилка сохранялась, хотя была разрыхленной и часто истонченной. Она состояла из уплощенных эпителиоцитов, среди которых определялись реснитчатые (в небольшом количестве) и фестончатые секреторные клетки цилиндрической формы, многочисленные лимфоидные элементы, единичные «койлоциты», а также небольшие их скопления, не окруженные лимфоидным валом. Отмечалось значительное утолщение собственной пластинки с разрастанием своеобразных крупных многоотростчатых клеток со светлой однородной цитоплазмой и средних размеров ядрами овальной формы, порой соединяющихся своими отростками в своеобразный синцитий. Такие морфологические детали служат, очевидно, достаточным основанием для идентификации этих

клеток в качестве миофибробластов (рис. 1, *в*). Определялись тяжи клеток, напоминавших зрелые фиброциты и ориентированных вдоль пучков новообразованных коллагеновых волокон разной толщины. Обнаружен также аморфный неклеточный матрикс, окрашенный амфифильно (с легким преобладанием базофилии), в котором местами выявлялись единичные атрофические железы и мелкие сосуды с утолщенной гомогенизированной стенкой и уплощенным эндотелием, какие нередко встречаются в грануляционной ткани, придавая ей заметное морфологическое своеобразие (рис. 1, *г*). Клеточные скопления и волокнистые структуры ориентировались местами хаотично, местами циркулярными тяжами, идущими параллельно мышечным волокнам внутреннего слоя. В мышечном слое наблюдалось чередование гиперемизированных и ишемизированных очагов, а между пучками мышечных волокон выявлялись периваскулярные

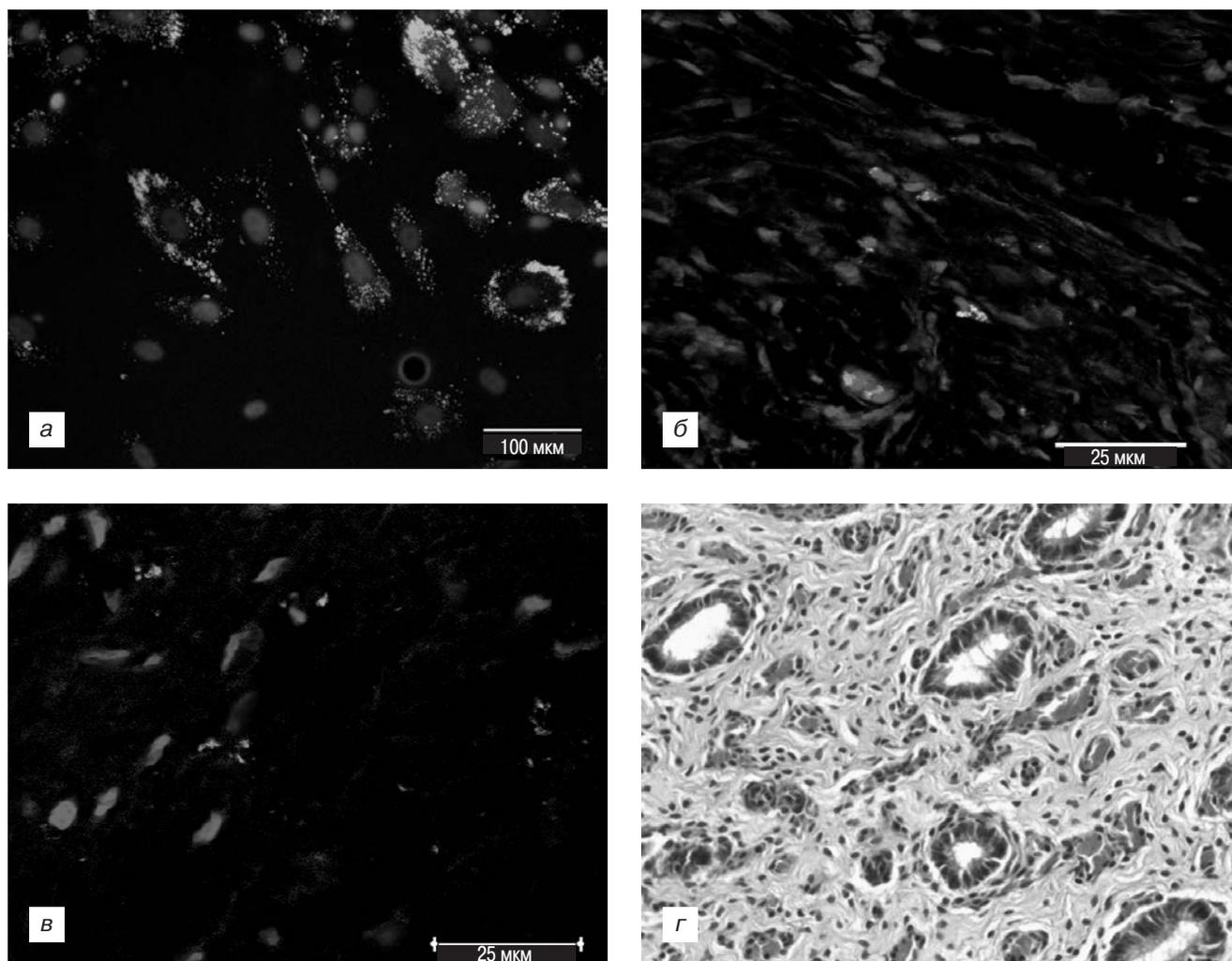


Рис. 2. Стенки маточной трубы самки кролика с туберкулезом гениталий, леченной МСК на фоне противотуберкулезной терапии: а-в — конфокальная микроскопия (ядра синего цвета); $\times 40$; г — окраска гематоксилином и эозином. $\times 450$; а — МСК в монослое *in vitro* окр. РКН-26 (Scale bar: 100 мкм); б, в — МСК в криосрезях маточной трубы (Scale bar: 25 мкм); г — единичные железистоподобные образования в серозной оболочке, состоящие из секреторных и реснитчатых клеток

лимфогистиоцитарные скопления. Серозная оболочка была утолщена, обнаруживались разрыхление и фиброз субсерозной клетчатки.

Через 2 месяца после трансплантации МСК (что соответствовало 5 месяцам с момента заражения) эти клетки определялись в криосрезях стенки маточной трубы кроликов (рис. 2, б, в).

Сочетание специфической терапии с введением МСК значительно изменило характер фиброзных трансформаций в маточной трубе. Практически не отмечалось избыточной складчатости слизистой оболочки. Ее складки большей частью были тонко ветвящимися и лишь в некоторых местах такими же сросшимися, как у кроликов, леченных только ПТП. Эпителий располагался на тонкофибриллярной основе и был представлен секреторными и реснитчатыми клетками с явным преобладанием последних. В собственной пластинке подслизистой оболочки, где у кроликов 2-й группы имелись значительно выраженные фиброзные изменения и разрастания миофибробластов, у кроликов, получавших МСК,

определялись тонкие, рыхло расположенные коллагеновые волокна и нежнобазофильный бесклеточный матрикс, на фоне которого выделялись фибробласты и немногочисленные миофибробласты, в этом случае почти не отличимые друг от друга по цитологическим нюансам. Между коллагеновыми волокнами и неклеточным матриксом были видны концевые отделы желез в виде правильно сформированных округлых железистоподобных образований, состоящих из секреторных и реснитчатых клеток без каких-либо дистрофических и атрофических признаков (рис. 2, г). Рядом с этими эпителиальными структурами в серозной оболочке выявлялись многочисленные остроконечные или полипоидные отростки эндотелиальных клеток, направленные к аналогичным отросткам эндотелия ближайшего капилляра, а также типичные элементы созревающей неспецифической грануляционной ткани в виде мелких новообразованных сосудов с утолщенной стенкой, сочным эндотелием и такими же сочными адвентициальными клетками.

Таким образом, у кроликов, которым на фоне терапии ПТП вводили МСК, наблюдалась завершающая стадия туберкулезного сальпингита с преобладанием регенераторной реакции в слизистой и подслизистой оболочках при почти полном восстановлении структуры мышечных слоев.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наши наблюдения показали, что при введении кроликам МБТ в стенку маточной трубы возникает тяжелый туберкулезный пансальпингит. Это типичный первичный туберкулез без генерализации, когда специфические изменения развиваются лишь в зараженной трубе, тогда как в другой изменения носят параспецифический характер [11, 12].

Очевидно, с помощью специфической и/или специфической терапии с использованием МСК удастся направить воспалительный процесс в русло репаративной реакции. В таком случае более или менее полное восстановление структурной целостности труб сопровождается и нормализацией физиологических функций, в частности клеточного иммунитета. Восстанавливается способность макрофагов уменьшать концентрацию антигенов до того предельного уровня, когда они могут эффективно восприниматься без развития иммунологического паралича [2, 5].

У кроликов 2-й и 3-й групп в очагах повреждения не обнаруживались МБТ. Ускорение сроков абацилляции нельзя не связать с применением перхлорона в составе комплексной терапии. Согласно нашим наблюдениям, перхлорон — это активный, малотоксичный противотуберкулезный препарат, оказывающий антимикобактериальное действие *in vitro* и *in vivo* с минимальной ингибирующей концентрацией в диапазоне $\leq 0,78-6,75$ мкг/мл. В комплексе с другими препаратами он синергично усиливает их активность. Судя по литературным данным, это связано с тем, что при совместном введении определенных препаратов внутриклеточный рост микобактерий, в том числе лекарственно устойчивых штаммов, угнетается вследствие активации аутофагоцитоза [20]. Применение перхлорона в составе комплексной терапии в течение 3 месяцев позволяет увеличить частоту «улучшения» и «значительного улучшения» состояния у пациентов с распространенным туберкулезом легких, как с чувствительным, так и с устойчивым к противотуберкулезным препаратам (в том числе с множественной устойчивостью) [14].

При благоприятном развитии воспаления в условиях антибактериальной терапии и введения МСК (3-я группа) во всей полноте выявились и некоторые любопытные детали иммуногенеза, а именно активное участие миофибробластов. Возможно, это одно из неперемных условий регенерации эпителия. Как известно, дивергентная

дифференцировка МСК происходит в нескольких направлениях. С одной стороны, в направлении эндотелиальных клеток, остеокластов, макрофагов и тучных клеток, с другой — в направлении остеобластов, адипоцитов и нефагоцитирующих ретикулярных клеток, в том числе и миофибробластов, которые вряд ли составляют исключение, учитывая ту важнейшую роль, которая принадлежит им как активным участникам процесса репарации [7, 25]. Мы были лишены возможности доказать наличие миофибробластов в воспалительном очаге иммуногистохимически, однако цитологические особенности этих клеток столь ярки, что выявляют присутствие миофибробластов в *locus morbi* с большой вероятностью.

Эти «загадочные» клетки появляются и исчезают по мере завершения их функций, а в некоторых патологических условиях, в том числе при экспериментальном туберкулезном сальпингите, как было показано выше, они способны к длительной персистенции. При туберкулезном сальпингите у кроликов источник дифференцировки миофибробластов — МСК сохранялись в грануляционной ткани до 2 месяцев после введения, оставаясь вполне жизнеспособными и функционально активными, судя по тому, что они окрашивались прижизненным красителем РКН-26 в *locus morbi* спустя 2 месяца после трансплантации. Очевидно, именно их длительная персистенция предотвращала развитие грубого рубцевания. Описаны наблюдения, когда у эмбрионов ягнят раны бесследно заживали с участием миофибробластов без формирования рубца [22].

Таким образом, первый опыт применения МСК в терапии экспериментального туберкулезного сальпингита выходит далеко за рамки решения сугубо прикладных задач гинекологии и фтизиатрии. Многие аспекты воспалительного процесса раскрылись при этом полнее и нагляднее, чем при исследовании случайно полученного материала у больных туберкулезом. Нам удалось показать, что поступление в организм кроликов противотуберкулезных препаратов вместе с МСК модифицирует воспалительный процесс, «создавая в нем, говоря словами И.В. Давыдовского, новые ритмы, смягчая те или иные стороны, особенно экссудацию, стимулируя клеточную пролиферацию, то есть фактор, завершающий цикл воспаления» [4].

Вопрос лишь в том, каким образом иллюстрировать этот постулат полувековой давности примерами современных представлений о гистофизиологии МСК. Есть много убедительных наблюдений, что для МСК характерны те же бактерицидные механизмы, что и для макрофагов, которые воздействуют на патогены свободными радикалами кислорода, молекулами NO и гидролитическими ферментами лизосом, сливающихся с фагосомами. Значительная бактерицидная роль принадлежит и аутофагоцитозу, в известной мере интенсифицирующемуся при введении МСК совместно с противотуберку-

лезными, противоопухолевыми и антипаразитарными препаратами [20]. При этом большая часть МБТ погибает, что мы и наблюдали в наших опытах, констатируя отрицательный Диаскинтест, трехкратное снижение уровня С-реактивного протеина и числа лейкоцитов в периферической крови, отсутствие роста МБТ в посевах гомогенатов слизистой оболочки маточных труб [3, 14]. Какая-то малая часть МБТ при таком раскладе сохраняется в МСК и макрофагах, находя в их цитоплазме своего рода нишу для выживания, более или менее длительного. Столь продолжительная персистенция МБТ имеет большое значение в патогенезе туберкулеза и требует специального обсуждения, что выходит за рамки данной работы.

Экспериментальное изучение туберкулезного салпингита позволяет оценить общие представления, касающиеся патогенеза воспалительного процесса. Именно в таком ракурсе видится нам его биологическое значение как связующего звена между теоретической патологией и клиникой в решении одной из насущнейших медицинских проблем.

ВЫВОДЫ

1. При введении кроликам МБТ в стенку фаллопиевой трубы развивается типичный туберкулезный пансальпингит, протекающий по типу первичного туберкулеза.
2. С помощью специфической противотуберкулезной терапии, а также при ее сочетании с использованием МСК удается купировать воспалительный процесс, направив его в сторону репарации с более или менее полной нормализацией структуры и функции труб.
3. Наличие миофибробластов в воспалительном очаге является необходимым и достаточным условием реэпителизации внутренней выстилки трубы и фактором, сдерживающим раннее фиброзирование и деформацию ее ампулярного отдела.
4. Ускорение сроков абациллирования обусловлено применением перхлорона, синергично усиливающего эффективность других противотуберкулезных препаратов в составе комплексной терапии.

Работа выполнена в рамках государственной работы «Экспериментальные разработки» Государственного задания Минздрава России на 2015 и плановый период 2016 и 2017 годов и при финансовой поддержке ОАО «Фармасинтез» Россия.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Беллендир Э.Н., Реккель Ю.И., Патрикийн И.Т. Патогенез туберкулеза женских половых органов в свете новых экспериментальных данных // Проблемы ту-

- беркулеза. – 1983. – № 10. – С. 59–63. [Bellendir EN, Rekkel' Yul, Patrikyan IT. Pathogenesis of female genitals tuberculosis in the light of new experimental data. *Problemy tuberkuleza*. 1983;10:59-63 (In Russ.)]
2. Бернет Ф. Клеточная иммунология. – М.: Мир, 1971. [Burnet F. Cellular immunology. Moscow: Mir; 1971. (In Russ.)]
3. Гусейнова Ф.М., Ниаури Д.А., Виноградова Т.И., и др. Первый опыт применения стромальных клеток костного мозга в терапии экспериментальной туберкулезной инфекции женских половых органов // Таврический медико-биологический вестник. – 2015. – Т. 18. – № 1. – С. 22–26. [Guseynova FM, Niauri DA, Vinogradova TI, et al. The first experience of mesenchymal stem cells usage in therapy of experimental female genital tuberculosis. *Tavricheskiy mediko-biologicheskii vestnik*. 2015;18(1):22-26 (In Russ.)]
4. Давыдовский И.В. Общая патология человека. – М.: Медицина, 1969. – 612 с. [Davydovskiy IV. Human general pathology. Moscow: Meditsina; 1969. 612 p. (In Russ.)]
5. Здродовский П.Ф. Проблемы инфекции, иммунитета и аллергии. – М.: Медгиз, 1963. [Zdrodovskiy PF. Problems of infection, immunity and allergy. Moscow: Medgiz; 1963. (In Russ.)]
6. Патент РФ на изобретение № 2600926/ 27.10.16. Бюл. № 30. Гусейнова Ф.М., Ниаури Д.А., Виноградова Т.И., и др. Способ моделирования туберкулеза женских половых органов. [Patent RUS No 2600926/ 27.10.16. Byul. No 30. Guseynova FM, Niauri DA, Vinogradova TI, et al. Female genital tuberculosis and way of its modeling. (In Russ.)] Доступно по: http://www1.fips.ru/fips_servl/fips_servlet?... Ссылка активна на 11.05.2017.
7. Паюшина О.В. Мезенхимные стромальные клетки из эмбриональных и дефинитивных источников: фенотипические и функциональные особенности: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – М., 2015. [Pajushina OV. Mesenchymal stromal cells from embryonic and definitive tissue sources: phenotypic and functional characteristics. [dissertation] Moscow; 2015. (In Russ.)]
8. Сахенберг Е.И., Николаенко Н.С., Пинаев Г.Н. Исследование расплывания и организации актинового цитоскелета стромальных клеток костного мозга и клеток хряща при их раздельном и совместном культивировании на разных белках внеклеточного матрикса // Цитология. – 2014. – Т. 56. – № 10. – С. 708–716. [Sakhenberg EI, Nikolaenko NS, Pinaev GP. Actin cytoskeleton organization and spreading of bone marrowstromal cells and cartilage cells during their combined and independent cultivation on different extracellular matrix proteins. *Tsitologiya*. 2014;56(10):708-16. (In Russ.)]
9. Семеновский А.В., Ариэль Б.М., Попова С.С., Кочорова М.Н. Морфология и клинические проявления туберкулеза гениталий у женщин // Архив патологии. – 1998. – Т. 60. – № 2. – С. 39–42. [Semenovskiy AV, Ariel' BM, Popova SS, Kochorova MN. Structural and clinical manifestations of genital tuberculosis in women. *Arkh Patol*. 1998;60(2):39-42. (In Russ.)]
10. Скрыгина Е.М., Скрыгин А.Е., Исайкина Я.И., Солодовникова В.В. Лечение пациентов с множественно ле-

- карственно устойчивым туберкулезом с использованием аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток // Рецепт. – 2011. – № 2. – С. 84–93. [Skryagina EM, Skryagin AE, Isaykina YaI, Solodovnikova VV. The treatment of patients with multidrug-resistant pulmonary tuberculosis by using mesenchymal stromal cells autologous transplantation. *Retsept*. 2011;(2): 84-93. (In Russ.)]
11. Струков А.И. Формы легочного туберкулеза в морфологическом освещении. Часть 1 / Под ред. проф. Б.М. Ариэля. – Библиотека патологоанатома. – СПб.: ГБУЗ «ГПАБ», 2014. – Вып. 151. – 87 с. [Strukov AI. Different forms of pulmonary tuberculosis in their morphological essence. Vol. 1. Ed by prof. B.M. Ariel'. *Biblioteka patologoanatora*. Saint Petersburg: GBUZ "GPAB"; 2014. Vol. 151. 87 p. (In Russ.)]
 12. Струков А.И. Формы легочного туберкулеза в морфологическом освещении. Часть 2 / Под ред. проф. Б.М. Ариэля. – Библиотека патологоанатома. – СПб.: ГБУЗ «ГПАБ», 2014. – Вып. 152. – 86 с. [Strukov AI. Different forms of pulmonary tuberculosis in their morphological essence. Vol. 2. Ed by prof. B.M. Ariel'. *Biblioteka patologoanatora*. Saint Petersburg: GBUZ "GPAB"; 2014. Vol. 152. 86 p. (In Russ.)]
 13. Тепляшин А.С., Шарифуллина С.З., Чупикова Н.И., Сепиашвили Р.И. Перспективы использования мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга и жировой ткани в регуляции регенерации опорных тканей // Аллергология и иммунология. – 2015. – Т. 16. – № 1. – С. 138–148. [Teplyashin AS, Sharifullina SZ, Chupikova NI, Sepiashvili RI. The perspective use of bone marrow multipotent mesenchymal stromal cells and adipose tissue cells in regulation of bone and cartilage tissues regeneration. *Allergologiya i immunologiya*. 2015;16(1):138-148. (In Russ.)]
 14. Яблонский П.К., Виноградова Т.И., Левашев Ю.Н., и др. Доклинические и клинические исследования нового противотуберкулезного препарата Перхлозон // Терапевтический архив. – 2016. – Т. 88. – № 3. – С. 111–115. [Yablonskiy PK, Vinogradova TI, Levashev YuN, et al. A novel antituberculous drug Perkhlozon: preclinical and clinical trials. *Terapevticheskii arkhiv*. 2016;88(3):111-115. (In Russ.). doi: 10.17116/terarkh2016883111-115. (In Russ.)]
 15. Albertine K, Gee M. *In vivo* labeling of neutrophils using a fluorescent cell linker. *J Leukoc Biol*. 1996;59(5): 631-638.
 16. Bae JS, Jin HK, Lee JK, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells contribute to the reduction of amyloid- β deposits and the improvement of synaptic transmission in a mouse model of pre-dementia Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*. 2013;10(5):524-31. doi: 10.2174/15672050113109990027.
 17. Council of Europe. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. CETS No. 123, 1991.
 18. D'souza N, Rossignoli F, Golinelli G, et al. Mesenchymal stem/stromal cells as a delivery platform in cell and gene therapies. *BMC Med*. 2015;13:186. doi: 10.1186/s12916-015-0426-0.
 19. Joshi L, Chelluri LK, Gaddam S. Mesenchymal stromal cell therapy in MDR/XDR tuberculosis: A concise review (2015). *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2015Dec;63(6): 427-33. doi: 10.1007/s00005-015-0347-9.
 20. Khan A, Hunter RL, Jagannath C. Emerging role of mesenchymal stem cells during tuberculosis: The fifth element in cell mediated immunity. *Tuberculosis (Edinb)*. 2016;101S:S45-S52. doi: 10.1016/j.tube.2016.09.019.
 21. Parida SK, Madansein R, Singh N, et al. Cellular therapy in tuberculosis. *Int J Infect Dis*. 2015 Mar;32:32-8. doi: 10.1016/j.ijid.2015.01.016.
 22. Schürch W, Seemayer TA, Gabbiani G. Myofibroblast. In: *Histology for Pathologists*. Ed by S.E. Mills. 3rd ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2002. P. 123-164.
 23. Sharma JB. Current diagnosis and management of female genital tuberculosis. *J Obstet Gynaecol India*. 2015Dec;65(6):362-71. doi: 10.1007/s13224-015-0780-z.
 24. Skrahin A, Ahmed RK, Ferrara G, et al. Autologous mesenchymal stromal cell infusion as adjunct treatment in patients with multidrug and extensively drug-resistant tuberculosis: an open-label phase 1 safety trial. *Lancet Respir Med*. 2014 Feb;2(2):108-22. doi: 10.1016/S2213-2600(13)70234-0.
 25. Tomasek JJ, Gabbiani G, Hinz B, et al. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodeling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002;3(5):349-363. doi: 10.1038/nrm809.
 26. Türkmen IC, Başsüllü N, Comunoğlu C, et al. Female genital system tuberculosis: a retrospective clinicopathological study of 1,548 cases in Turkish women. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2012;286(2):379-384. doi: 10.1007/s00404-012-2281.

◆ Информация об авторах

Борис Михайлович Ариэль — д-р мед. наук, профессор, научный консультант ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: arielboris@rambler.ru.

Фаина Махмудовна Гусейнова — аспирант кафедры акушерства, гинекологии и репродуктологии медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург; ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: fainochka09@mail.ru.

◆ Information about the authors

Boris M. Ariel — Dr. Med. Sci., Professor, Scientific Consultant, Saint Petersburg Scientific Research Institute of Phthysiopulmonology, St Petersburg, Russia. E-mail: arielboris@rambler.ru.

Faina M. Guseynova — Post-Graduate Student, Saint Petersburg State University, St Petersburg, Russia; Saint Petersburg Scientific Research Institute of Phthysiopulmonology, St Petersburg, Russia. E-mail: fainochka09@mail.ru.

◆ Информация об авторах

Татьяна Ивановна Виноградова — д-р мед. наук, профессор, главный научный сотрудник ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: vinogradova@spbniif.ru.

Наталья Вячеславовна Заболотных — д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: zabol-natal@yandex.ru.

Дарико Александровна Ниаури — д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства, гинекологии и репродуктологии медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург, отделение оперативной гинекологии ФГБНУ «НИИ АГИР им. Д.О. Отта». E-mail: d.niauri@mail.ru.

Наталья Михайловна Юдинцева — канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биологии клетки в культуре отдела клеточных культур ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург. E-mail: yudintceva@mail.ru.

Мария Львовна Витовская — канд. мед. наук, старший научный сотрудник ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: mariavit72@mail.ru.

Марине Зауриевна Догонадзе — канд. биол. наук, старший научный сотрудник ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: marine-md@mail.ru.

Ольга Леонидовна Рубцова — заведующая клинико-диагностической лабораторией ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: di.momot@yandex.ru.

Петр Казимирович Яблонский — д-р мед. наук, профессор, директор ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России, Санкт-Петербург; декан медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург. E-mail: glhirurgb2@mail.ru.

◆ Information about the authors

Tatiana I. Vinogradova — Dr. Med. Sci., Professor, Chief Researcher, Saint Petersburg Scientific Research Institute of Phthiopulmonology, St Petersburg, Russia. E-mail: vinogradova@spbniif.ru.

Natalia V. Zabolotnykh — Dr. Med. Sci., Leading Researcher, Saint Petersburg Scientific Research Institute of Phthiopulmonology, St Petersburg, Russia. E-mail: zabol-natal@yandex.ru.

Dariko A. Niaury — Dr. Med. Sci., Professor, Head of Dept., Saint Petersburg State University, St Petersburg, Russia; Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O.Ott, St Petersburg, Russia. E-mail: d.niauri@mail.ru.

Natalia M. Yudintceva — PhD, Leading Researcher, Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, St Petersburg Russia. E-mail: yudintceva@mail.ru.

Maria L. Vitovskaya — PhD, Senior Researcher, Saint Petersburg Scientific Research Institute of Phthiopulmonology, St Petersburg, Russia. E-mail: mariavit72@mail.ru.

Marine Z. Dogonadze — PhD, Senior Researcher, Saint Petersburg Scientific Research Institute of Phthiopulmonology, St Petersburg, Russia. E-mail: marine-md@mail.ru.

Olga L. Rubtsova — Head of Dept., Saint Petersburg Scientific Research Institute of Phthiopulmonology, St Petersburg, Russia. E-mail: di.momot@yandex.ru.

Piotr K. Yablonsky — Dr. Med. Sci., Professor, Director, Saint Petersburg Scientific Research Institute of Phthiopulmonology, St Petersburg, Russia; Head of Medical Faculty, Saint Petersburg State University, St Petersburg, Russia. E-mail: glhirurgb2@mail.ru.