

Естественные киллерные клетки у больных с инфильтративным туберкулезом при действии препаратов противотуберкулезной химиотерапии в системе *in vitro*

М.А. Каралян, А.В. Азнаурян, З.Р. Тер-Погосян, З.А. Каралян, Г.Л. Мкртчян

*Кафедра гистологии ЕрГМУ им. М. Гераци, Противотуберкулезный диспансер МЗ РА
375025 Ереван, ул. Корюна, 2*

Ключевые слова: инфильтративный туберкулез, иммунология, естественные киллерные клетки, рифампицин, изониазид

Длительность течения и разнообразие клинических проявлений туберкулеза обуславливают необходимость поддержания иммунного гомеостаза больного с помощью иммунорегуляции, понимаемой нами как взаимодействия собственно иммунных реакций и факторов естественной резистентности. На сегодняшний день все больше внимания уделяется роли иммунной системы при разных формах туберкулезного процесса [13]. Настоящая работа является частью исследования, призванного выявить особенности естественного иммунного статуса у больных туберкулезом. Как известно, наиболее важными звеньями естественной резистентности организма являются естественные киллерные клетки (ЕКК) и макрофаги. Состояние иммунной системы актуально и в связи с появлением сообщений об увеличении частоты лекарственной устойчивости различных форм микобактерий [20], когда роль иммунных реакций резко возрастает.

В настоящее время большое значение придается роли макрофагальной системы в развитии и прогрессировании туберкулезного процесса [3, 5, 8, 9, 14, 22, 25]. К сожалению, гораздо меньше уделяется внимания проблемам взаимодействия различных клеточных субпопуляций, в том числе и макрофагов при туберкулезном процессе [4, 8, 10, 12, 23]. И практически не изучено при туберкулезном процессе одно из основных звеньев естественного иммунитета – ЕКК, принимающие участие во всех реакциях иммунной системы и являющиеся основным звеном резистентности организма [7].

Нами изучено влияние препаратов противотуберкулезной химиотерапии на количественные показатели и активность ЕКК *in vitro*. В возросшем в последние годы интересе к противотуберкулезному иммунитету особое место занимает химиотерапия туберкулеза [2, 6, 17–19]. В более ранних исследованиях изучался в основном иммунный контроль над терапией туберкулеза [9, 11]. Позже стали предприниматься по-

пытки иммунотерапии туберкулеза [16]. В исследованиях по иммунологии туберкулеза преимущественно изучался естественный иммунитет, и в частности, система мононуклеарных фагоцитов. Лишь единичные работы затрагивают проблемы взаимодействия лимфоцитов и макрофагов при туберкулезе [10, 26]. Недостаточно изучено влияние такого важного звена естественной резистентности, как ЕКК.

Как известно, ЕКК вместе с системой мононуклеарных фагоцитов осуществляют самый ранний этап противоопухолевой защиты. Их активность по отношению к инфекционным агентам менее изучена, однако возможность осуществлять ими без предварительной иммунизации лизис практически всех чужеродных клеток позволяет считать это звено иммунитета чрезвычайно важным, особенно при первичном контакте с патогенными микроорганизмами. Работа проведена в условиях *in vitro*. Целесообразность подобного исследования обусловлена данными литературы о корреляции между исследуемыми показателями в подобных исследованиях *in vivo* и *in vitro* [17, 19].

Материал и методы

Для определения количественных показателей клеток с естественной киллерной активностью предлагается использовать методику, разработанную на основе биев – моноклональных антител (CD56+), насаженных на железные шарики (Dyna beads M-450 фирмы Dynal A.S. N-0212 Oslo Norway). Методика является вполне современным способом определения количественных показателей различных клеточных субпопуляций. С этой целью была исследована периферическая кровь у больных с диагнозом инфильтративного туберкулеза до начала противотуберкулезной химиотерапии (n=37), в качестве контроля использовалась кровь клинически здоровых доноров (n=23).

Таблица 1

Влияние рифампицина и изониазида на активность ЕКК у больных инфильтративным туберкулезом при 4- и 16- часовой инкубации

Группа	Число больных	Активность ЕКК, %		
		4- часовая инкубация		
		контроль	изониазид	рифампицин
Доноры	29	37.4±3.1	33.4±2.9	28.9±2.2*
Больные	43	36.9±3.7	34.8±3.0	30.3±3.5
16- часовая инкубация				
Доноры	29	42.1±4.8	35.7±3.9	30.4±2.9*
Больные	43	44.5±6.2	36.3±4.1	31.7±3.0*

* $p < 0.05$ – достоверно по сравнению с контролем

Также нами было изучено действие рифампицина и изониазида на цитотоксическое действие (ЦТД) ЕКК. В эксперименте использовалась кровь больных до начала противотуберкулезной химиотерапии. С этой целью из крови больных с диагнозом инфильтративного туберкулеза ($n=43$) выделяли мононуклеары по методу Воуит [15]. ЦТД ЕКК определяли по методу Гордиенко [1]. В качестве контроля использовалась кровь клинически здоровых доноров ($n=29$). ЦТД ЕКК изучали при инкубации ЕКК с исследуемыми препаратами в течение 4 и 16 часов в атмосфере CO_2 .

Оба изучаемых препарата использовались в терапевтических дозах – 0.01 мг/мл .

Результаты и обсуждение

Данные изучения действия изониазида и рифампицина на ЦТД ЕКК при 4- часовой инкубации приведены в табл. 1.

Согласно полученным нами результатам наблюдалась тенденция к снижению ЦТД ЕКК при воздейст-

вии изониазида и достоверное снижение активности ЕКК при воздействии рифампицина, по сравнению с контролем. У больных инфильтративным туберкулезом наблюдалась лишь тенденция к снижению ЦТД ЕКК. Таким образом, изониазид в терапевтических дозах не оказывает существенного иммуносупрессирующего действия на ЕКК как у больных с диагнозом инфильтративного туберкулеза, так и у доноров. Рифампицин вызывает достоверное снижение ЦТД ЕКК у доноров.

Результаты исследований с 16-часовой инкубацией препаратов представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, при 16-часовой инкубации ЕКК с исследуемыми препаратами отмечено достоверное снижение ЦТД не только у доноров, но, в отличие от 4-часовой инкубации, и у больных инфильтративным туберкулезом.

Нами были исследованы также численные показатели клеток с рецептором CD56+, который, как известно, является одним из основных рецепторов среди клеток с естественной киллерной активностью (табл.2).

Таблица 2

Влияние рифампицина и изониазида на количество CD56+ клеток у больных инфильтративным туберкулезом

Группа	n	Количество CD56+ клеток (тыс/мл)		
		контроль	изониазид	рифампицин
Доноры	23	58.1±7.97	50.9±8.41	49.3±7.26
Больные	37	50.6±13.3	48.5±12.1	49.7±11.2



Рис.1. Влияние рифампицина на ЦТД ЕКК при 4- и 16- часовой инкубации

Как видно из табл. 2, оба исследуемых препарата не оказывают выраженного иммуносупрессивного действия на количество CD56+ клеток. Однако у доноров, в целом имеющих несколько более высокие цифры количества CD56+ клеток, наблюдается тенденция к снижению изучаемого показателя как при инкубации с изониазидом, так и с рифампицином.

Таким образом, изучение действия двух важных препаратов противотуберкулезной химиотерапии – изониазида и рифампицина на показатели одного из звеньев естественного иммунитета показало общее иммуносупрессивное действие препаратов, проявляю-

щееся в достоверном снижении ЦТД ЕКК у доноров при инкубации эффекторных клеток с рифампицином в течение 4 часов и достоверном снижении ЦТД ЕКК у больных и у доноров при 16-часовой инкубации в условиях *in vitro* (рис. 1). В работе показано также, что изониазид не оказывает столь выраженного действия на активность ЕКК и вызывает лишь тенденцию к снижению ЦТД даже при 16-часовой инкубации (рис.2).

При изучении количественных показателей CD56+ клеток установлено отсутствие достоверных изменений при воздействии обоих препаратов.



Рис.2. Влияние изониазида на ЦТД ЕКК при 4- и 16-часовой инкубации

Поступила 19.03.01

**Բնական սպանիչ բջիջները ինֆիլտրացված փուքերկուցով հիվանդների մոտ՝
հակափուքերկուցային քիմիաթերապիայի դեղամիջոցների ազդեցության
պայմաններում in vitro համակարգում**

Մ.Ա. Կարալյան, Ա.Վ. Ազնաուրյան, Զ.Ռ. Տեր-Պողոսյան, Զ.Ա. Կարալյան, Գ.Լ. Մկրտչյան

Հետազոտվել են բնական դիմադրողականության օղակներից մեկի որոշ ասպեկտները՝ բնական սպանիչ բջիջները (ԲՄԲ) թրախտային պրոցեսում և հակաթրախտային դեղամիջոցների ազդեցության տակ:

Աշխատանքում հետազոտվել են ԲՄԲ-ի քանակական ցուցանիշները և հետազոտվել են նրանց ցիտոտոքսիկ ազդեցությունը (ՅՍՄ): Յույց է տրվել

ռիֆամպիցինի իմունասուպրեսիվ ազդեցությունը 16-ժամյա ինկուբացիայի ժամանակ: Միևնույն ժամանակ ռիֆամպիցինը չի ցուցաբերել ՅՍՄ ԲՄԲ-ի սուպրեսիա թրախտով հիվանդների մոտ 4-ժամյա ինկուբացիայի պայմաններում:

Իզոնիազոլը ուներ ավելի թույլ արտահայտված ազդեցություն հետազոտվող ցուցանիշների վրա, առաջացնելով միայն դրանց իջեցման միտում:

**Natural killer cells in patients with infiltrative tuberculosis under the effect of
preparations of antituberculous chemotherapy in vitro**

M.A. Karalyan, A.V. Aznauryan, Z.R. Ter-Pogossyan, Z.A. Karalyan, G.L. Mkrtchyan

Some aspects of one link of natural resistance, the natural killer cells (NKC), has been studied in tuberculosis process under the effect of antituberculous therapy.

The quantitative indices of NKC and their cytotoxic effect were also investigated (CE). The immunosuppressive effect of rifampicin during 16-hour incubation was

demonstrated. At the same time rifampicin didn't show suppressive action on CE of NKC in patients with tuberculosis during 4- hour incubation.

Izoneazid had a weaker effect on these indices, showing only a tendency to their decrease.

Литература

1. Гордиенко С. М. Лаб. дело, 1983, 9, с. 45.
2. Грачева М. П. Проблемы туберкулеза, 1980, 3, с. 60.
3. Грачева М. П., Наровлянская С. Е. и др. Проблемы туберкулеза, 1988, 2, с. 52.
4. Ерохин В. В., Гедымин Л. Е. Проблемы туберкулеза, 1992, 5-6, с. 37.
5. Илькович М. М., Довнар Т. Е., Кинго и др. Проблемы туберкулеза, 1984, 9, с. 60.
6. Ломакин М. С. Иммунобиологической надзор. М., 1990.
7. Малыгин А. А. Цитология, 1985, 5, с. 5.
8. Селедцова Г. В., Козлов В. А. Проблемы туберкулеза, 1991, 5, с. 54.
9. Сибирная Р. И. Проблемы туберкулеза, 1980, 9, с. 69.
10. Сокурено Л. С., Морозов В. Л. и др. Здравоохранение Киргизии, 1989, 2, с. 14.
11. Чернушенко Е. Ф., Шатров В. А. и др. Проблемы туберкулеза, 1986, 1, с. 59.
12. Шатров В. А., Кузнецова Л. В., Беляновская Т. И. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии, 1985, 5, с. 76.
13. Freedman A.G., Casadevall A. Clin. Microb., Reviews, July 1998, 11, 3, p. 514.
14. Barnes P.F., Modlin R.L. Curr.Top.Microbiol.Immunol., 1996;197.
15. Boyum A. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1968, 61, 4, p. 629.
16. Condos R., Rom W., Schluger N. Lancet, 1997, 5, 24; 349 (9064), p 1513.
17. Crowle A.J., Sbarbaro J. A., Judson F. N., Douvas G. S., May M.H. Am. Rev. Respir. Dis., 1984., 130 (5), p. 839.
18. Crowle A.J. Semin. Respir. Infect., 1986, 1, p. 262.
19. Gangadharm P.R., Pratt P.F. Am. Rev. Respir. Dis., 1983., 128 (6), p 1044.
20. Isaeva E. G., Lapteva N. A. Probl. Tuberk., 1984, 6, p. 59.
21. Kubin M, Havelkov M. J. of Clin. Microb., Aug. 1999, 37, p. 2715.
22. Lagrange P H., Hurtrel B., Brandley M., Thickstun P.M. Bull. Eur. Physiopathol. Respir., 1983, 19 (2), p 163.
23. O'Brien L., Roberts B., Andrew P.W. Curr. Top. Microbiol.Immunol., 1996; 215: 97.
24. Saunders B.M., Cheers C. Infect.Immun., 1996 Oct; 64(10): 4236.
25. Schlesinger L.S. Top.Microbiol.Immunol., 1996; 215: 71.
26. Schwander S. K., Sada E., Torres M. et al. J. Infect. Dis., 1996, 173 (5), p. 1267.