

**В.В. Новицкий, А.К. Стрелис, О.И. Уразова, Т.А. Шилько, Е.А. Рябова, И.Е. Есимова, О.В. Филинчук, О.В. Воронкова, В.А. Синицына**

## **АКТИВНОСТЬ СИСТЕМЫ ДНК-РЕПАРАЦИИ МОНОНУКЛЕАРОВ КРОВИ ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ ЛЕГКИХ**

ГОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет, Томск

У больных инфильтративным лекарственно-чувствительным туберкулезом легких до лечения отмечается выраженное снижение индекса стимуляции ДНК-репарации в лимфоцитарных клетках периферической крови с дальнейшей нормализацией показателя после двух месяцев противотуберкулезной терапии. У больных диссеминированным туберкулезом легких и казеозной пневмонией активность системы ДНК-репарации в лимфоцитах остается в пределах нормы. Изучение ДНК-репарации в моноцитарных клетках показало повышение активности ДНК-репарации как до, так и после курса интенсивного антимикобактериального лечения.

**Ключевые слова:** ДНК-репарация, мононуклеарные лейкоциты, лекарственно-чувствительный туберкулез легких

Репарация ДНК — важнейший процесс, обеспечивающий целостность генома клетки. Эксцизионная репарация ДНК путем удаления поврежденных азотистых оснований вызывает защиту геномной ДНК от повреждений эндогенными генотоксическими факторами. Установлено, что подавление репаративного синтеза ДНК приводит к накоплению в ДНК одонитевых брешей, которые в дальнейшем трансформируются в двунитевые разрывы. Это вызывает инактивацию клетки и ее гибель [2]. Одним из таких эндогенных факторов, способных индуцировать угнетение процессов ДНК-репарации, являются микобактерии туберкулеза (МБТ).

Туберкулез по уровню смертельных исходов занимает лидирующее место среди инфекционных заболеваний во всем мире. Высокая летальность при туберкулезной инфекции связана с недостаточным пониманием патогенеза данного заболевания, в том числе механизмов угнетения иммунного ответа [8]. Исходя из этого, целью нашей работы явилось изучение активности ДНК-репарационной системы мононуклеаров периферической крови у больных туберкулезом легких.

### **Материал и методы исследования**

Было обследовано 36 мужчин в возрасте 23-55 лет, больных туберкулезом легких: инфильтративным —  $n=12$ , диссеминированным —  $n=12$ , казеозной пневмонией —  $n=12$ . Больные были обследованы до лечения и через 2 месяца ин-

тенсивной стандартной противотуберкулезной химиотерапии. Диагноз туберкулеза легких устанавливали на основании данных микроскопии мокроты и рентгенологического исследования легких (общепринятые методы). Контрольные группы составили 11 здоровых доноров и 12 пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ).

Лимфоциты и моноциты выделяли центрифугированием на градиенте плотности фиколлаурографина ( $1,077$  и  $1,082$  г/см<sup>3</sup>) в течение 20 мин при 1500 об/мин. Активность ДНК-репарационной системы лимфоцитарных клеток исследовали методом сцинтилляционной радиометрии [4]. В качестве источника ультрафиолетового излучения использовали две бактерицидные лампы «ДБ-15» ( $\lambda=254$  нм), расположенные на фиксированном расстоянии (30 см) от объекта, что определяет дозу и мощность облучения соответственно  $15$  Дж/м<sup>2</sup> и  $1,6$  Дж/с. Измерение радиоактивности (импульс/с) проводили на толуоловом сцинтилляционном счетчике Mark III (США).

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью критериев Стьюдента и Манна-Уитни.

### **Результаты и их обсуждение**

Проведенные нами исследования показали, что уровень репаративного синтеза ДНК в лимфоцитах у больных инфильтративным туберкулезом легких до лечения оказался сниженным по сравнению с таковым в группе здоровых доноров

и у больных ХОБЛ (Таблица 1) и восстанавливался до нормальных значений после двух месяцев интенсивной противотуберкулезной терапии. При этом у больных диссеминированной формой туберкулеза легких и казеозной пневмонией активность ДНК-репарации в лимфоцитах оставалась в пределах нормы (Таблица 1).

Изучение уровня ДНК-репарации в моноцитах периферической крови у больных с изучаемыми формами туберкулеза легких позволило выявить увеличение индекса стимуляции ДНК-восстановления при диссеминированном туберкулезе легких и казеозной пневмонии до лечения по сравнению с соответствующими значениями в контроле и у больных ХОБЛ. После 2 месяцев химиотерапии у больных казеозной пневмонией величина этого показателя все еще сохранялась повышенной, при диссеминированном туберкулезе легких – нормализовалась. Кроме того, регистрировалось увеличение ДНК-репаративной активности в моноцитарных клетках у больных инфильтративным туберкулезом легких (Таблица 1).

Таблица 1  
**Индекс стимуляции репарации ДНК  
в лимфоцитах и моноцитах периферической крови  
у здоровых доноров, больных хронической  
обструктивной болезнью легких  
и туберкулезом легких**

Группы обследованных		ИС ДНК-репарации лимфоцитов	ИС ДНК-репарации моноцитов
Здоровые доноры		1,09±0,17	0,71±0,12
Больные ХОБЛ		1,83±0,60	0,85±0,14
Больные туберкулезом легких	До лечения		
	Инфильтративная форма	0,58±0,21 $p_1 < 0,05$ ; $p_2 < 0,05$	1,40±0,38
	Диссеминированная форма	1,18±0,10 $p_3 < 0,05$	1,45±0,16 $p_1 < 0,01$ ; $p_2 < 0,05$
	Казеозная пневмония	1,17±0,05	1,58±0,19 $p_1 < 0,05$ ; $p_2 < 0,05$
	После 2 месяцев лечения		
	Инфильтративная форма	0,81±0,18	1,99±0,22 $p_1 < 0,01$ ; $p_2 < 0,01$
	Диссеминированная форма	1,34±0,23	1,39±0,31
	Казеозная пневмония	1,25±0,25	1,68±0,32 $p_1 < 0,05$ ; $p_2 < 0,05$

Примечание: ИС – индекс стимуляции, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких,  $p_1$  – достоверность различий по сравнению с аналогичными показателями у здоровых доноров;  $p_2$  – у больных хронической обструктивной болезнью легких;  $p_3$  – у больных с инфильтративной формой туберкулеза легких в соответствующий период исследования

Факт снижения ДНК-репаративного синтеза в лимфоцитах у больных инфильтративным туберкулезом легких, вероятно, объясняется патогенетической сущностью данного заболевания. Инфильтративный туберкулез, как известно, не возникает в интактных зонах легочной ткани, а развивается, как правило, в тех участках легких, которые уже «посетила» туберкулезная инфекция, то есть в зонах легочной ткани, способных ответить бурной гиперергической воспалительной реакцией на возбудитель. Центральным звеном иммунопатогенеза инфильтративного туберкулеза легких является длительная циркуляция в организме сенсибилизированных к микобактериальным антигенам Т-лимфоцитов [7]. Столь продолжительный контакт лимфоцитов с инфектом может служить, на наш взгляд, допустимым объяснением снижения уровня ДНК-репарации в клетках вследствие «истощения» ресурсов системы восстановления ДНК. При диссеминированном туберкулезе легких и казеозной пневмонии патогенетическая роль лимфоцитов реализуется на более поздней стадии развития заболевания, и эти клетки в меньшей степени подвергаются инфекционному повреждению.

Повышение индекса стимуляции ДНК-репаративного синтеза в моноцитах у больных туберкулезом легких указывает на важную роль моноцитарных клеток в патогенезе заболевания. Макрофаги формируют «первую линию защиты» на пути микобактерий, попавших в организм, а в дальнейшем служат средой их обитания. Второй основной функцией клеток макрофагального ряда является презентация переработанных микобактериальных антигенов, что абсолютно необходимо для запуска последующих иммунологических реакций [1]. Кроме того, макрофаги участвуют в синтезе важнейших медиаторов иммунного ответа при туберкулезе, таких, как интерлейкин-1 (ИЛ-1), ИЛ-8 и др. [5, 6]. Считается, что спонтанная продукция ИЛ-1 мононуклеарными клетками периферической крови является более специфичным индикатором активности воспалительного процесса, нежели показатели СОЭ или С-реактивного белка [9]. Макрофаги также принимают участие в регуляции активности иммунного ответа, оказывая иммуносупрессорное действие самостоятельно либо опосредованно через Т-супрессоры [3]. Однако центральной функцией макрофагов в патогенезе туберкулеза легких является, прежде всего, их цитотоксическая активность по отношению к микобактериям туберкулеза, обеспечивающая в конечном итоге возможность выздоровления. Таким образом, повышение активности системы ДНК-репарации в моноцитах, являющихся не только мишенью

отрицательного воздействия микобактерий, но и важным звеном в противотуберкулезном иммунитете, можно рассматривать как защитно-приспособительную реакцию, направленную на восстановление поврежденных участков цепи ДНК и, тем самым, повышение выживаемости столь важных эффекторов противотуберкулезной защиты.

#### Выводы

1. Течение инфильтративного туберкулеза легких сопровождается угнетением индекса стимуляции ДНК-репарации в лимфоцитах крови с последующим его восстановлением до уровня нормы после двух месяцев интенсивной антимикобактериальной химиотерапии.

2. При диссеминированной форме туберкулезной инфекции и казеозной пневмонии активность системы ДНК-репарации в лимфоцитарных клетках сохраняется в пределах нормы.

3. Состояние процессов ДНК-репаративного синтеза в моноцитах при туберкулезе легких характеризуется повышением индекса стимуляции ДНК-репарации как до, так и после курса интенсивной противотуберкулезной терапии.

#### ACTIVITY OF THE BLOOD MONONUCLEAR CELL DNA REPAIR SYSTEM AT PULMONARY TUBERCULOSIS

V.V. Novitsky, A.K. Strelis, O.I. Urazova, T.A. Shilko, E.A. Ryabova, I.E. Esimova, O.V. Filinyuk, O.V. Voronkova, V.A. Sinicya

Health state in patients with infiltrative drug-sensitive pulmonary tuberculosis is characterized by evident decrease of stimulation index of DNA repair in lymphocytic cells of peripheral blood before medical treatment and normalization of this rate after a 2-month anti-tuberculous therapy. Activity of the system of DNA repair in lymphocytes of patients with disseminated pulmonary tuberculosis and caseous pneumonia remained within in norm. Investigation of DNA repair in monocytic cells showed the increase

of activity of DNA repair before as well as after the course of intensive anti-micobacterial treatment.

#### Литература

1. *Авербах М.М.* Иммунология и иммунопатология туберкулеза / М.М. Авербах. — М., 1976. — 145 с.
2. *Василенко Н.Л.* Ферменты прямой, эксцизионной и коррекционной систем репарации высших и низших организмов и их биологическая роль / Н.Л. Василенко, Г.А. Невинский // Молекулярная биология. — 2003. — Т. 37. — № 6. — С. 944-960.
3. *Вахидова Г.А.* Иммунологические механизмы патогенеза туберкулеза / Г.А. Вахидова, В.В. Еремеев, А.М. Убайдуллаев // Проблемы туберкулеза. — 1991. — № 5. — С. 69-72.
4. *Дубинин Н.П.* Репаративные механизмы клеток и вирусы / Н.П. Дубинин, Г.Д. Засухина. — М., 1975. — 145 с.
5. *Кетлинский С.А.* Цитокины мононуклеарных фагоцитов в регуляции реакции воспаления и иммунитета / С.А. Кетлинский, Н.М. Калинина // Иммунология. — 1995. — № 3. — С. 30-44.
6. *Фрейдлин И.С.* Ключевая позиция макрофагов в цитокиновой регуляторной сети / И.С. Фрейдлин // Иммунология. — 1995. — № 3. — С. 44-48.
7. *Хоменко А.Г.* Современные представления о патогенезе туберкулеза / А.Г. Хоменко // Русский медицинский журнал. — 1998. — Т. 6. — № 17. — С. 23-26.
8. *Boussiotis V.A.* IL-10-producing T cells suppress immune response in anergic tuberculosis patients / V.A. Boussiotis, E.Y. Tsay, E.J. Yunis // J. Clin. Invest. — 2000. — Vol. 105. — P. 1317-1325.
9. *Chensue S.W.* Release of interleukin-1 by peripheral blood mononuclear cell in patients with tuberculosis and active inflammation / S.W. Chensue, M.P. Davey, D.G. Remick // Infect. Immun. — 1986. — Vol. 52. — № 1. — P. 341-343.