

Авербах М. М., Космиади Г. А., Андриевская И. Ю., Черноусова Л. Н., Крушинская Е. А., Панова Л. В.

ТЕСТ СТИМУЛЯЦИИ ЛИМФОЦИТОВ С WST-1 РЕАГЕНТОМ В ДИАГНОСТИКЕ ПОБОЧНЫХ РЕАКЦИЙ С ПРОТИВОТУБЕРКУЛЁЗНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ 1 И 2 РЯДА

ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулёза» Министерства науки и высшего образования РФ, 107564, Москва, Россия

Побочные лекарственные реакции на противотуберкулёзные препараты (ПТП) встречается у больных туберкулёзом в 6-20% и выявляются в реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТ) по включению в ДНК бласта H^3 тимидина, что имеет в настоящий момент значительные ограничения. Использована РБТ с WST-1 реагентом для выявления непереносимости на основные ПТП 1 и 2 ряда у 11 больных туберкулёзом лёгких, имевших побочные лекарственные реакции (6 чел. – поражения печени, 3 чел. – эозинофилия крови, 2 – поражения мелких суставов). 6 человек контактов по туберкулёзу составили контрольную группу. Оценка пролиферативной активности культур клеток обследованных больных с помощью WST-1 показала, что у всех обследованных больных с гепатотоксической реакцией индекс SI >2 и достоверно превышал показатели в контрольной группе ($3,28 \pm 0,59$, 95% CI – 1,16 и $0,74 \pm 0,16$, 95% CI – 0,31, соответственно) при стимуляции культур клеток только рифампицином и не достигал этого порога при стимуляции другими препаратами. При стимуляции клеточных культур митогеном ФГА SI у больных >2, наиболее высокий у больных с гепатотоксическими реакциями, тогда как в контрольной группе у 2-х из 7 обследованных он <2 ($4,93 \pm 0,53$, 95% CI – 1,04 и $1,97 \pm 0,3$, 95% CI – 0,59, соответственно). Не выявлена с помощью WST-1 реагента стимуляция культур клеток ППД-Л в группе больных непереносимостью и в группе контактов по туберкулёзу. У больных с эозинофилией и поражением суставов SI низкий на все исследованные лекарства и не отличался от группы контроля. Чувствительность WST-1 реагента в тесте стимуляции лимфоцитов исследованными лекарствами не достаточна для определения лекарственной непереносимости к ПТП.

Ключевые слова: туберкулёз; лекарственная аллергия; иммунологическая диагностика.

Для цитирования: Авербах М. М., Космиади Г. А., Андриевская И. Ю., Черноусова Л. Н., Крушинская Е. А., Панова Л. В. Тест стимуляции лимфоцитов с WST-1 реагентом в диагностике побочных реакций с противотуберкулёзными препаратами 1 и 2 ряда. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65(9): 552-556. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-9-552-556>

Averbakh M. M., Kosmiadi G. A., Andrievskaya I. Y., Chernousova L. N., Krushinskaya K. A., Panova L. V.

LYMPHOCYTE STIMULATION TEST IN THE DIAGNOSTICS OF ADVERSE REACTIONS TO ANTITUBERCULOSE LINE 1 AND 2 DRUGS

Central TB Research Institute of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Moscow, Russia

Adverse drug reactions to anti-TB drugs (ADR) are found in 6-20% of patients and have various clinical manifestations and are detected in the lymphocyte stimulation test (LST), recorded by the incorporation on H^3 thymidine, but nowadays it has significant limitations. We used LST with WST-1 reagent to detect ADR to the main 1-st and 2-nd line antituberculosis drugs in 11 tuberculosis patients who had ADR (6 – hepatotoxic reaction, 3 – blood eosinophilia and 2 – with joint pain syndrome). 6 people with tuberculosis contacts made up the control group. LST evaluation with WST-1 showed that in patients with a hepatotoxic reaction, the SI index was >2 and exceeded the values in the control group ($3,28 \pm 0,59$, 95% CI – 1.16 and $0,74 \pm 0,16$, 95% CI – 0.31, respectively) upon stimulation of cell cultures with rifampicin alone but not with other drugs. Cell cultures stimulated with the PHA mitogen have SI >2 in ADR patients (mainly with hepatotoxic reactions). Control group SI was <2 ($4,93 \pm 0,53$, 95% CI – 1, 04 and $1.97 \pm 0,3$, 95% CI – 0.59, respectively). We have not detected PPD-L cell cultures stimulation with WST-1 reagent both in the group of patients with ADR and the control group. In patients with eosinophilia and joint pain syndrome SI was low for all studied drugs and did not differ from the control group. The sensitivity of the LST test with WST-1 reagent is not sufficient to determine ADR to anti-TB drugs.

Key words: tuberculosis; drug allergy; immunologic diagnostics.

For citation: Averbakh M.M., Kosmiadi G.A., Andrievskaya I.Y., Chernousova L.N., Krushinskaya K.A., Panova L.V. Lymphocyte stimulation test in the diagnostics of adverse reactions to antituberculous line 1 and 2 drugs. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2020; 65(9): 552-556 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-9-552-556>

For correspondence: Averbakh Mikhail Mikhailovich, Doctor of Medical Science, professor, principal researcher Immunology Department; e-mail: amm50@mail.ru

Information about authors:

Averbakh M.M., <https://orcid.org/0000-0001-7706-3841>
Kosmiadi G.A., <https://orcid.org/0000-0002-5446-5378>
Andrievskaya I.Y., <https://orcid.org/0000-0003-2997-942X>
Chernousova L.N., <https://orcid.org/0000-0001-6288-7549>
Krushinskaya E. A., <https://orcid.org/0000-0003-4049-428X>
Panova L.V., <https://orcid.org/0000-0003-2417-8295>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study supported by Scientific Research No. 0515-2019-0016 «Personalized Approaches to the Treatment of Respiratory Tuberculosis in Children and Adolescents».

Received 11.04.2020
Accepted 21.04.2020

Для корреспонденции: Авербах Михаил Михайлович, д-р мед. наук, проф., гл. науч. сотр., отдел иммунологии; e-mail: amm50@mail.ru

Введение. Клинические признаки непереносимости противотуберкулёзных препаратов (ПТП) встречаются у 6-20% больных, степень их выраженности обусловлена сочетанием индивидуальных особенностей реагирования иммунной системы на химическую структуру того или иного препарата и наличием сопутствующей патологии со стороны печени, почек, желудочно-кишечного тракта, сопутствующих вирусных инфекций [1]. Реакция бласттрансформации лимфоцитов (РБТ) является основным методом оценки непереносимости ПТП, её применяют в отношении основных ПТП изониазида, рифампицина, рифампина, этамбутола, пиразинамида. В одном из ранних исследований тест РБТ применён для выявления сенсибилизации к ПТП у больных с клиническими проявлениями непереносимости в виде эозинофилии, нейтропении, кожного зуда, высыпаний, гепатотоксичности, шума в ушах, выявлено некоторое повышение индекса стимуляции в ответ на ПТП у больных, имевших явления непереносимости, характеризующиеся повышением АЛТ, АСТ, эозинофилией и нейтропенией. Значения индекса стимуляции выше у больных с непереносимостью рифампицина, чем этамбутола [2].

Поскольку лекарства, в том числе и ПТП, выступают в иммунных реакциях как гаптены, имеющие разнообразную химическую структуру, иммунный ответ на них может иметь особенности. Клинические проявления непереносимости на ПТП возникают в основном через 2-3 нед. от начала их использования, в основе этих реакций могут лежать иммунопатологические реакции 4 типа согласно классификации Р. Gell и R. Coombs [3]. Реакции этого типа подразделены на варианты IVa, IVb, IVc, IVd соответственно фенотипу Т-клеток вовлекаемых в патологический процесс [4]. Какой из подтипов лежит в основе иммунопатологических реакций на ПТП пока не совсем ясно. Предполагается, что число лимфоцитов, способных реагировать пролиферацией в ответ на лекарственные вещества, невелико по сравнению с количеством клеток, стимулируемых митогенами или другими поликлональными стимулами (например: анти-CD₃-антитела), срок культивирования клеток в связи с этим должен составлять 5-6 суток [4]. На основании многочисленных исследований с различными лекарственными препаратами установлено, что значимым для выявления реакции на химиопрепараты является индекс стимуляции в 2 и более раз [5].

Основываясь на этих методических положениях для проведения РБТ показано, что у больных туберкулёзом с непереносимостью на препараты 1 ряда изониазид (INH), рифампицин (RFP), этамбутол (EMB), пиразинамид (PZA) увеличение индекса стимуляции лимфоцитов (SI₂) выявлено на INH, RFP, EMB, но не PZA [6].

В исследовании 69 больных туберкулёзом с различными клиническими проявлениями непереносимости (кожные сыпи, гепатит, лихорадка, эозинофилия) проведена РБТ с большим набором ПТП (INH, RIF, EMB, PZA, PAS, SM, LVFX, TH, CS). Выявлена положительная реакция у 20 больных (n=20), в основном на изониазид (INH, n=15), в меньшей степени на рифампицин (RIF, n=5), этамбутол (EMB, n=4), сульфаметоксазолон (SM, n=2), левофлоксацин и ПАСК (LVFX, PAS – по 1 случаю) [7].

При постановке РБТ у 8 больных туберкулёзом с проявлением непереносимости в виде синдрома кожной сыпи, эозинофилии, системных симптомов (DRESS – drug rash with eosinophilia and systemic symptoms) индекс

стимуляции $\geq 2,0$ выявлен на изониазид (6 из 8), пиразинамид (3 из 8), этамбутол (2 из 8) и у 3-х больных SI₂ $\geq 2,0$ на все исследованные препараты [8]. Исследований по применению РБТ для изучения непереносимости на амикацин и капреомицин не найдено.

Сравнивали информативность проводимого в ряде стран провокационного кожного теста с ПТП и РБТ. Указанные тесты проводили в отношении изониазида, рифампина, этамбутола, пиразинамида. Методом РБТ повышенная чувствительность к ПТП обнаружена в 10,7% и методом провокационного теста в 25,7% случаев. Сделан вывод о небольшой значимости РБТ для выявления непереносимости к ПТП [7]. Определение диагностической ценности РБТ на более значительном контингенте больных (176 пациентов), имевших положительный провокационный тест, клинические и лабораторные признаки непереносимости изониазида, рифампицина, этамбутола, пиразинамида показало, что чувствительность РБТ с указанными ПТП составила соответственно 57,8; 37,1; 42,4; 23,1%; специфичность 93,4; 94,0; 97,5; 98,8% [6].

Результаты РБТ в предшествующие годы учитывались по включению Н³ тимидина в ДНК пролиферирующих клеток. Введенные международные ограничения на применение в лабораторной диагностике радиоактивных меток стимулировало применение иных методов учёта реакции. Были разработаны колориметрические методы оценки клеточной пролиферации, жизнеспособности клеток и токсического действия на них лекарственных веществ. В этих методах используют 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ), 3-(4,5-диметил) тиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфофенил)-2Н-тетразолий (МТS), соль тетразолия (WST-1) и резазурин (Alamar Blue). Два последних препарата являются предпочтительными для рутинного лабораторного применения вследствие их растворимости в воде и упрощают методику оценки результатов пролиферации [9]. МТТ, в форме соли тетразолия, получая положительный заряд, легко проникает в клетку и преобразуется с помощью митохондриальной дегидрогеназы в формазан. Формазан не растворим в воде и должен быть растворен кислотой до измерения поглощения. WST-1 является отрицательно заряженным соединением и не может проникнуть в клетку. Оценка выраженности воздействия на клетки с применением WST-1 и резазурина происходит по образованию растворимой в воде соли формазана. Эти анализы являются косвенными методами оценки пролиферации клеток на основе учёта активности клеточных дегидрогеназ, а не за счёт прямой оценки числа пролиферирующих клеток [10].

Цель исследования – изучение возможности применения теста WST-1 реагента для выявления непереносимости ПТП 1 ряда (рифампицин, изониазид) и 2 ряда (пиразинамид, этамбутол, амикацин, капреомицин) в культурах лимфоцитов больных туберкулёзом.

Материал и методы. Обследованы 11 больных с туберкулёзом органов дыхания в возрасте 14-16 лет, имевших клинические признаки непереносимости ПТП, из общего числа 67 пациентов, проходивших лечение в подростковом отделении ЦНИИТ в течение года. Клинические формы у больных, вошедших в исследование: инфильтративный туберкулёз – 5 случаев, очаговый туберкулёз – 4, туберкулёз внутригрудных лимфатических узлов (ТВГЛУ) – 1, туберкулёз множественных

локализаций – 1. В 2-х из 11 случаев, по результатам микробиологических исследований, определена множественная лекарственная устойчивость к ПТП. Лечение назначалось с учётом данных теста на лекарственную чувствительность микобактерий туберкулёза, схема корректировалась в зависимости от наличия данных о непереносимости ПТП в анамнезе и/или сопутствующих патологий. Контрольную группу составили 7 пациентов, проходивших обследование в поликлиническом отделении в связи с контактом с больными туберкулёзом.

В исследовании использованы следующие ПТП. Изониазид (Isoniazid (Sigma-Aldrich I3377), этамбутол (Ethambutol dihydrochloride (Sigma-Aldrich E4630), пиразинамид (Pyrazinocarboxamide (Sigma-Aldrich P7136), амикацин (Amikacin sulfate (Sigma-Aldrich A2324), капреомицин (Capreomycin (Sigma-Aldrich C4142), которые растворяли в стерильной дистиллированной воде до концентрации 1000 мкг/мл и использовали как сток-растворы. Рифампицин (Rifampicin (Sigma-Aldrich R3501) первоначально растворяли в 5 мл этилового спирта 96%, затем доводили до концентрации 1000 мкг/мл в стерильной дистиллированной воде.

Пролиферативную активность лимфоцитов оценивали с помощью WST-1 Cell Proliferation Assay Kit II (ab65475) (Abcam-USA). Мононуклеарные клетки периферической крови изолированы из гепаринизированной крови с помощью Ficoll-Paque™ Premium (плотность 1,007±0,001 г/мл) (Диаэм, Россия). После трёхкратного отмывания в растворе Хенкса, клетки ресуспендировали в концентрации 1x10⁶/мл в среде RPMI 1640 (ПанЭКО, Россия), обогащённой 10% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, 2 мМоль L-глутамина (Gibco), 0,1 моль 2-ME, 1% раствором незаменимых аминокислот, гентамицином (50 мкг/мл). Мононуклеарные клетки (в объёме 80 мкл) помещали в трипликатах в лунки 96-луночного планшета (Costar), и добавляли 90-120 мкл культуральной среды и 10-30 мкл тестируемых ПТП. Контрольные образцы инкубировали без добавления ПТП. В качестве сравнительных стимулов использован митоген ФГА в дозе 5 мкг/мл, ППД-Л 20 мкг/мл. Клетки инкубировали 5 дней при 37°C в CO₂-инкубаторе в атмосфере с 5% CO₂. Исходя из имеющихся теоретических представлений о том, что количество

клеток, сенсibilизированных ПТП, невелико [5], для проведения теста взято максимальное количество клеток 8x10⁴ на лунку, используемое в реакции с WST-1 [8]. ПТП добавляли в следующих дозах: рифампицин 50 мкг/мл, изониазид 80 мкг/мл, пиразинамид 90 мкг/мл, этамбутол 50 мкг/мл, амикацин 60 мкг/мл, капреомицин 50 мкг/мл. При выборе доз исследуемых ПТП ориентировались на границы разброса содержания ПТП в периферической крови при применении суточной терапевтической дозы каждого ПТП. По окончании инкубации, согласно инструкции производителя, в каждую лунку добавляли по 10 мкл WST реагента и инкубировали 2 часа. Результаты учитывали по показателю абсорбции на микропланшетном ридере ImmunoChem 2100 с использованием фильтра 430 нм. Результаты выражали в виде индекса (SI = культура с ПТП/культура без ПТП). Результаты оценивали как положительные при SI≥2. Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета Microsoft Excel 10.0

Результаты и обсуждение. При проведении противотуберкулёзной терапии явления непереносимости ПТП отмечены: в 6 из 11 случаев – гепатотоксические реакции; в 3-х – аллергические реакции, в виде повышения эозинофилов в периферической крови; в 2-х – токсические реакции, с развитием суставного болевого синдрома. После коррекции химиотерапии, нормализация показателей и исчезновение жалоб отмечены через 3 нед, через 2 мес, через 10 дней соответственно. Клинико-лабораторные данные представлены в табл. 1.

Оценка пролиферативной активности культур клеток больных с помощью WST-1 показала, что у всех обследованных больных с гепатотоксической реакцией индекс SI >2 достоверно превышал показатели в контрольной группе при стимуляции культур клеток рифампицином (3,28±0,59, 95% CI – 1,16 и 0,74±0,16, 95% CI – 0,31, соответственно), но не достигал этого порога при стимуляции другими препаратами (табл. 2). При стимуляции культур клеток митогеном ФГА SI>2 был у всех обследованных больных, причём наиболее высокий у больных с гепатотоксическими реакциями, и статистически не отличался от контрольной группы (4,93±0,53; 95% CI – 1,04 и 1,97±0,3; 95% CI – 0,59, соответственно). С помощью WST-1 реагента не выявлена стимуляция

Таблица 1

Лабораторные показатели клинических групп ПТП

| Клиническая группа | Лейкоциты, 10 ⁹ /л | Эозинофилы, % | ALT/ACT Ме/L | Мочевина, мкмоль/л |
|---------------------------|-------------------------------|---------------|-----------------|--------------------|
| Гепатотоксические реакции | | | | |
| Б – 1 | 4,7 | 1 | 329,5/155,1 | - |
| Б – 2 | 5,1 | 2 | 265,5/143,7 | - |
| Б – 5 | 5,4 | 2 | 104,0/94,7 | - |
| Б – 8 | 6,2 | 5 | 251,3/186,5 | - |
| Б -10 | 4,0 | 4 | 658,3/465,6 | - |
| Б -15 | 5,5 | 2 | 195,3/125,5 | - |
| Эозинофилия | | | | |
| Б – 9 | 7,2 | 17 | 28,5/32,3 | - |
| Б – 11 | 5,8 | 42 | 7,7/19,9 | - |
| Б -12 | 10,6 | 15 | 8,9/17,2 | - |
| Суставной синдром | | | | |
| Б – 7 | 5,5 | 5 | 29,2/28,2 | 564 |
| Б – 13 | 5,0 | 1 | 16,8/19,6 | 382 |

РБТ культур мононуклеаров крови WST-1 у больных с непереносимостью ПТП

| Стимул | RIF | INH | PZA | EMB | Amk | Cm | ФГА | ППД-Л |
|---------------------------|-------|------|------|------|------|------|--------|-------|
| | SI= | SI= | SI= | SI= | SI= | SI= | SI= | SI= |
| Гепатотоксические реакции | | | | | | | | |
| Б – 1 | 3,4 | 1,1 | 1,8 | 1,3 | 1,2 | 1,4 | 8,7 | 1,4 |
| Б – 2 | 3,4 | 0,9 | 0,9 | 1,2 | 1,1 | 1,1 | 5,6 | 1,2 |
| Б – 5 | 5,3 | 0,8 | 1,3 | 1,3 | 1,4 | 1,1 | 4,9 | 1,1 |
| Б – 8 | 1,9 | 0,9 | 0,9 | 1,1 | 1,3 | 1,4 | 3,4 | 1,2 |
| Б – 10 | 2,9 | 1,2 | 1,4 | 1,3 | 0,9 | 1,0 | 4,9 | 1,1 |
| Б – 15 | 4,4 | 1,2 | 0,9 | 0,9 | 1,3 | 1,3 | 2,1 | 1,4 |
| М | 3,28* | 1,0 | 1,06 | 1,12 | 1,2 | 1,18 | 4,93 * | 1,23 |
| m | 0,59 | 0,06 | 0,09 | 0,05 | 0,17 | 0,06 | 0,53 | 0,04 |
| СI | 1,16 | 0,11 | 0,18 | 0,09 | 0,33 | 0,12 | 1,04 | 0,08 |
| Эозинофилия | | | | | | | | |
| Б – 9 | 1,4 | 1,1 | 1,2 | 1,1 | 0,9 | 1,1 | 2,9 | 1,4 |
| Б – 11 | 1,3 | 1,1 | 1,1 | 0,9 | 1,1 | 1,1 | 2,9 | 1,2 |
| Б – 12 | 0,9 | 1,0 | 1,1 | 1,1 | 1,1 | 0,9 | 2,6 | - |
| Суставной синдром | | | | | | | | |
| Б – 9 | 2,0 | 1,0 | 0,9 | 1,0 | 0,9 | 1,0 | 3,4 | 1,3 |
| Б – 13 | 1,6 | 1,6 | 1,0 | 1,0 | 1,4 | 1,1 | 3,1 | 1,4 |
| Контрольная группа | | | | | | | | |
| Б – 1 | 0,7 | 0,8 | 0,5 | 0,8 | 0,8 | 0,8 | 2,1 | 1,1 |
| Б – 2 | 0,7 | 0,6 | 0,4 | 0,5 | 0,6 | 0,6 | 1,9 | 1,0 |
| Б – 3 | 0,7 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,7 | 0,6 | 2,1 | 1,2 |
| Б – 4 | 1,6 | 1,5 | 1,3 | 1,4 | 1,5 | 1,4 | 3,4 | 1,0 |
| Б – 5 | 0,6 | 0,8 | 0,7 | 0,7 | 0,9 | 0,8 | 1,9 | 1,1 |
| Б – 6 | 0,4 | 0,8 | 0,6 | 1,1 | 0,9 | 0,9 | 1,2 | 1,1 |
| Б – 7 | 0,5 | 0,8 | 0,9 | 1,0 | 1,2 | 1,2 | 1,2 | 1,5 |
| М | 0,74 | 0,82 | 0,7 | 0,77 | 0,94 | 0,9 | 1,97 | 1,14 |
| m | 0,16 | 0,13 | 0,13 | 0,15 | 0,13 | 0,13 | 0,3 | 0,07 |
| СI | 0,31 | 0,25 | 0,25 | 0,3 | 0,25 | 0,25 | 0,59 | 0,14 |

Примечание. * – $p \leq 0,05$ (t – тест) по отношению к группе контроля;
RIF – рифампицин, INH – изониазид, PZA – пиперазид, EMB – этамбутол, Amk – амикацин, Cm – капреомицин.

культур клеток ППД-Л, как в группе больных с непереносимостью, так и в группе контактов по туберкулёзу.

У больных с эозинофилией на амикацин или капреомицин стимуляция культур клеток этими препаратами не выявлена. Отрицательный SI отмечен у больных с суставным синдромом при стимуляции культур клеток пиперазидом. Отсутствие повышения SI на амикацин и капреомицин у больных с эозинофилией и на пиперазидом у больных с суставным синдромом, находится в противоречии с клиническими и лабораторными данными, свидетельствующими в пользу указанных синдромов в ответ на применение ПТП, поскольку их отмена в последующем вела к нормализации лабораторных показателей.

Заключение. Исследование стимуляции лимфоцитов ПТП 1 ряда у больных туберкулёзом с явлениями непереносимости ПТП показало, что WST-1 реагент выявляет ответ культур лимфоцитов лишь на стимуляцию рифампицином и не регистрирует активизацию культур клеток в случае использования их в качестве стимула других ПТП.

Полученные данные находятся в противоречии с результатами ранних исследований, в которых при использовании в качестве метки H^3 тимидина была выявлена стимуляция мононуклеаров периферической крови больных на изониазид, рифампицин, этамбутол и пиперазид [2,6,7].

В ряде исследований получены клоны Т-клеток при стимуляции мононуклеаров крови у больных с непереносимостью изониазида или рифампицина [11], и показана принадлежность большинства Т-клеток к фенотипу CD_4^+ и редко к $CD_4^+CD_8^+$ [8,11].

Согласно концепции, «гаптен-носитель» лекарства (гаптены) могут распознаваться иммуноглобулинами или иными мелкими пептидами и презентироваться Т-лимфоцитам антиген-презентирующими клетками (АПК). Иная возможность активации Т-клеток связана с образованием метаболитов лекарств и их последующим связыванием с рецепторами АПК (например: сульфаметоксазолом и его метаболитом SMX-NO). Возможно также их непосредственное встраивание в пространственные карманы молекул МНС I и II класса Т-лимфоцитов с последующей активацией клеток. Согласно этому варианту взаимодействия с рецепторами МНС или TCR (*p-i-concept*), лекарства модифицируют рецепторы Т-клеток и, тем самым, модифицируют (угнетают или усиливают) их функцию [12]. Какой из этих предполагаемых механизмов имеет место в случае ПТП 1 и 2 ряда пока не известно, поскольку метаболит изониазида и его комплекс с сывороточным альбумином человека не активны в РБТ лимфоцитов, тогда как сам препарат вызывал пролиферативный ответ [11].

Чувствительность WST-1 реагента, по-видимому, недостаточна для определения непереносимости к ПТП 1 и 2 ряда, что может быть связано с ограничением по количеству клеток, культивируемых в каждой лунке и/или мало выраженной реакцией этой тест-системы на «слабые» антигенные стимулы, что показано в тесте стимуляции спленоцитов мышей при применении в качестве антигенов различных концентраций моноклональных анти-CD₃ и анти-CD₂₈ антител [10].

Финансирование. Работа выполнена в рамках НИР № 0515-2019-0016 «Персонализированные подходы к лечению туберкулёза органов дыхания у детей и подростков».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 2-12 см. REFERENCES)

1. Маслаускене Т.П., Николаева С.В. Побочное действие противотуберкулезных препаратов. *Сибирский медицинский журнал*. 2005; 52 (3): 13-9.

REFERENCES

1. Maslauskene T.P., Nikolaeva S.V. Side-effects of antituberculosis drugs. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2005; 52 (3): 13-9. (in Russian)
2. Umeki S. Adverse effects of antitubercular drugs and significance of measurement of the drug-stimulating lymphocyte transformation rate. *Jpn. J. Med.* 1989; 28(3):335-40.
3. Coombs P.R., Gell P.G. Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. Gell R.R., ed. *Clinical aspects of immunology*. Oxford: Oxford University Press; 1968.
4. Pichler W.J., Tilch J. The lymphocyte transformation test in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Allergy*. 2004; 59(8):809-20.

5. Lochmatter P., Zawodniak A., Pichler W.J. *In vitro* tests in drug hypersensitivity diagnosis. *Immunol. Allergy Clin. N. Am.* 2009; 29(3):537-54.
6. Sun Q., Sha W., Gui X-W., Xiao Y-J., Zeng W-H., Sun W-W., Xiao H.P., Ye W.Y. Drug-induced lymphocyte stimulation test in the prediction of drug induced hypersensitivity to antituberculosis drugs. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2015; 82(2):172-6.
7. Suzuki Y., Miwa S., Shirai M., Ohba H., Murakami M., Fujita K., Suda T., Nakamura H., Hayakawa H., Chida K. Drug lymphocyte stimulation test in the diagnosis of adverse reactions to antituberculosis drugs. *Chest*. 2008;134(5):1027-32.
8. Ye Y.-M., Hur G.-Y., Kim S.-H., Ban G.-Y., Jee Y.-K., Naisbitt D.J., Park H.S., Kim S.H. Drug-specific CD₄⁺ T-cell immune responses are responsible for antituberculosis drug induced maculopapular exanthema and DRESS. *Br. J. Dermatol.* 2017;176(2):378-86.
9. Riss T.L., Moravec R.A., Niles A.L., Benink H.A., Worzella T.J., Minor L. Cell viability assays. In book: *Assay guidance manual*. Sittampalam G.S., Coussens N.P., Nelson H., eds. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company ;and the National Center for Advancing Translational Sciences; 2013. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK144065/>.
10. Koyanagi M., Kawakabe S., Arimura Y. A comparative study of colorimetric cell proliferation assays in immune cells. *Cytotechnology*. 2016; 68(4):1489-98.
11. Usui T., Meng X., Saide K., Farrell J., Thomson P., Whitaker P. et al. From the Cover: Characterization of Isoniazid-Specific T-Cell Clones in Patients with anti-Tuberculosis Drug-Related Liver and Skin Injury. *Toxicol. Sci.* 2017; 155(2):420-31.
12. Britschgi M., von Greyerz S., Burkhart C., Pichler W.J. Molecular Aspects of Drug Recognition by Specific T Cells. *Current Drug Targets*. 2003; 4(1):1-11.

Поступила 11.04.20

Принята к печати 21.04.20