

## Значение иммуногенетических характеристик больного в клиническом течении туберкулеза легких

*М.В. Павлова, Л.И. Арчакова, Н.В. Сапожникова, М.Н. Кондакова, О.Т. Титаренко, Б.Е. Кноринг*

*ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава РФ*

### Резюме:

Представлены результаты по изучению иммуногенетических характеристик у больных с туберкулезом легких. У пациентов, имеющих в генотипе HLA-DQB1 \*03 аллель, наблюдалось благоприятное течение туберкулезного процесса, которое связано с особенностями иммунного ответа, характеризующегося повышением базального и индуцированного уровня IL-8, невысоким спонтанным синтезом INF- $\gamma$ . При изучении функциональной активности фагоцитирующих клеток установлено повышение секреторной функции мононуклеаров. Сочетание в генотипе пациентов \*05 аллеля HLA-DQB1\* и \*16 HLA-DRB1\* ассоциировано хроническим течением специфического процесса и повышением уровня гуморального ответа.

**Ключевые слова:** туберкулез, клиническое течение, иммуногенетика, иммунология

На протяжении последнего десятилетия в клинике терапии туберкулеза легких ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава РФ (СПбНИИФ) проводилось изучение прогностической значимости некоторых параметров макроорганизма (иммунологических, генетических, биохимических) при туберкулезе легких.

О возбудителе туберкулеза с его генетикой и фенотипическими особенностями известно в настоящее время гораздо больше, чем о макробиологической характеристике организма больного. Вместе с тем, взаимодействие микро- и макроорганизма рассматривается многими авторами как процесс, в котором вклад макро- и микроорганизма равно значим для определения исхода заболевания [4].

В представленном исследовании изучена зависимость процессов, протекающих в организме больного, от особенностей генетического статуса, и возможности прогноза развития заболевания на основании генетических особенностей больного.

В ряде исследований показана роль генов комплекса гистосовместимости HLA, кодирующие антигены класса II, в развитии туберкулезного процесса, а именно, аллели наиболее полиморфного гена HLA-DRB1\* [1]. В публикациях приводятся данные о повышении частоты встречаемости антигенов локусов HLA –A3, B8, B15 и Cw2 у больных остро прогрессирующим туберкулезом легких на фоне снижения способности

T-лимфоцитов к пролиферативному ответу в реакции бласттрансформации на ППД [7, 8]. Некоторые исследования оценивают генетическую предрасположенность человека к туберкулезу, в том числе и детей [2, 3, 6]. Установлено, что наличие \*04 и \*16 аллелей предрасполагает к развитию заболевания, тогда как наличие \*03, \*11, \*12 аллелями системы HLA-DRB1\* детерминирует устойчивость к развитию этого заболевания. Определена протективная роль аллелей \*01, \*07, \*13 генотипа HLA-DRB1\* в развитии туберкулезной инфекции у подростков, тогда как наличие \*16 аллель определяет восприимчивость к туберкулезу.

**Целью** настоящей работы стало изучение влияния иммуногенетических особенностей организма больного на клиническое течение туберкулезной инфекции.

**Материалы и методы:** в отделении терапии туберкулеза легких СПбНИИФ обследовано за период с 2008 – 2011 гг. 114 пациентов в возрасте от 18 до 66 лет. Больные с туберкулезом легких были распределены по характеру течения специфического процесса на две группы: I группа – с впервые выявленным туберкулезом легких (n=66); II группа – с хроническим течением заболевания (n=48). Распространенность гена HLA-DRB1\* у больных туберкулезом сравнивалась с его распространенностью у 434 здоровых доноров (группа контроля), при этом у 88 - одновременно изучали аллельные варианты гена HLA-DQB1\*.

Функциональную активность фагоцитирующих клеток оценивали у пациентов (n= 66) по следующим показателям:

- активность аденозиндезаминазы (АДА) и 2-дезоксаденозиндезаминазную активность (2-дезоксАДА), активность изоферментов АДА-1 и АДА-2;
- уровень неоптерина (Нп);
- эластазоподобной активности (ЭП) и концентрации лактоферрина (Лф);
- тест восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) (спонтанное или индуцированное зимозаном).

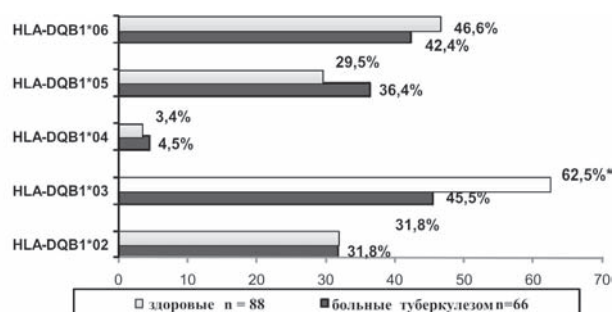
Рассчитывали: индекс стимуляции (Инд.ст.) – отношение стимулированного НСТ-теста к спонтанному и степень прироста (Ст.пр.) – разницу стимулированного и спонтанного НСТ-теста.

Молекулярное типирование аллелей генов HLA локусов DQB1\* и DRB1\* проведено методом

полимеразной цепной реакции (PCR-SSP) с использованием панели отечественных праймеров фирмы «ДНК-технология» на базе лаборатории гематологии и трансфузиологии аккредитованной Европейским обществом иммуногенетиков.

Результаты просчитаны с помощью пакета Statistica 6.0 с использованием: критерия с поправкой Йетса, метода Фишера и Стьюдента (Урбах В.Ю., 1963). Различия признавали значимыми при  $p < 0,05$ . Показатель относительного риска развития заболевания (RR) определяли методом Вульфа (Шабалин В.Н., 1994). Величину показателя RR выше 1 принимали как значимую.

**Результаты и их обсуждение.** У всех больных в I группе с впервые выявленным туберкулезом легких \*03 аллель гена HLA-DQB1\* встречался достоверно реже по сравнению группой контроля (45,5% против 62,5%,  $p < 0,04$ ) (рисунок 1).



**Рисунок 1.** Распределение аллелей локуса HLA-DQB1\* у больных с впервые выявленным туберкулезом легких и у здоровых лиц (%).

Данный аллель является протективным, что подтверждено значением показателя относительного риска (RR=0,5).

После проведения типирования генов HLA I группа разделена на две подгруппы: IA - с наличием \*03 аллелем генотипе DQB1\* (n=30) и IB - с отсутствием \*03 аллеля DQB1\* (n=36).

У больных IA подгруппы с впервые выявленным туберкулезом легких в 90,0% случаев отмечалось благоприятное течение специфического процесса, которое характеризовалось малосимптомными клиническими проявлениями, рентгенологически ограниченным поражением легочной ткани, скудным бактериовыделением (таблица 1).

При иммунологическом исследовании в IA подгруппе установлено повышение уровня базального и индуцированного IL-8, наряду с невысоким спонтанным синтезом INF- $\gamma$ . У больных с благоприятным течением туберкулезной инфекции функциональная активность фагоцитирующих клеток в сыворотке крови, характеризовалась повышением секреторной функции мононуклеаров.

Выявлено повышение активности в сыворотке крови АДА АДА-2, Нп на 30,5%, 41,6%, 36,4%, соответственно, и уменьшение активности АДА-1 на 13,5% ( $p < 0,05$ ); снижение внутриклеточной активности АДА, АДА-1, АДА-2 на 44,4%, 41,6%, 55,8%, соответственно ( $p < 0,05$ ). В сыворотке крови отмечалось повышение активности Лф на 295% ( $p < 0,05$ ), значения активности ЭП выше и ниже пороговой величины, составили 35% и 26,5% соответственно. Бактерицидная функция фагоцитирующих клеток была в пределах референтных значений.

У больных IB подгруппы, не имеющих \*03 аллеля в гене HLA-DQB1\*, в 44,4% случаев ( $p < 0,05$ ) отмечались выраженные или умеренно выраженные симптомы интоксикации, локальные проявления болезни в виде ослабления дыхания и наличие укорочения над зоной поражения регистрировали у 66,7% больных ( $p < 0,05$ ) (таблица 2).

**Таблица 1.** Характеристика бактериовыделения у больных с впервые выявленным туберкулезом легких

Группа наблюдения	МБТ(+) методом б/скопии (n, %)	МБТ (+) методом посева (n, %)	Интенсивность бактериовыделения (n, %)		
			До 20 кол	20-100 кол	>100 кол
I (A) подгруппа (n=30)	73,3 (23)	83,3(25)	40,0(10)	52,0 (13)	8,0 (2)
I (B) подгруппа (n=36)	94,4*(34)	94,4 (34)	23,5 (8)	38,2 (13)	38,2* (13)

Таблица 2. Симптомы интоксикации у больных, с впервые выявленным туберкулезом легких

Группа наблюдения	слабость, утомл., потливость (n, %)	температура тела (n, %)	выраженность интоксикации (n,%)		
			отсутствуют	Умерен.	выраж.
<b>IA подгруппа n=30</b>	30,0 (9)	10,0(3)	90,0 (27)	3,3(1)	6,7(2)
<b>IB подгруппа n=36</b>	52,8* (19)	52,8(19)	44,4* (16)	36,1(13)	19,4(7)

\*  $p < 0,05$  – достоверно между группами I и II

У пациентов группы IB определяли значительные нарушения гематологических показателей: ускорение СОЭ установлено практически у всех пациентов (91,7%; 33), умеренно выраженный лейкоцитоз наблюдался в 11,1% (4), лимфопения - у каждого второго (44,4%;16).

Рентгенологические проявления специфического воспаления в легочной ткани визуализировали часто в виде инфильтратов с размытыми границами, т.е. наличием перифокальной реакции, экссудативным или казеозно-некротическим типом тканевой реакции. Распространенность поражения более 2 сегментов отмечено только у 86,1% ( $p < 0,05$ ), а полости распада в легочной ткани более 2 см выявлены у 82,4% ( $p < 0,05$ ) больных.

У каждого третьего больного данной подгруппы зарегистрировано интенсивное бактериовыделение (38,2%,  $p < 0,05$ ).

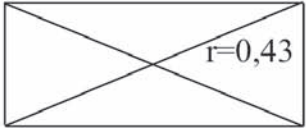

У пациентов, не имеющих в генетическом паспорте \*03 аллеля HLA-DQB1\* (IB), секреторная функция иммунокомпетентных клеток сохранялась и подтверждалась

высокими показателями спонтанного и индуцированного IL-8 и INF  $\gamma$ , что возможно носит компенсаторный характер, поскольку способствует своевременной миграции иммунокомпетентных клеток в очаг воспаления. В этой группе больных выявлено значительное повышение активности в сыворотке крови АДА на 56% ,АДА2,, на 71.6%, Нп на 36.6% , при снижении активности АДА1 на 13.5%. Соотношения показателей интенсивности кислородного взрыва у больных с впервые выявленным туберкулезом представлены в таблице 3.

В группе больных с благоприятным течением специфического процесса ечено наличие прямой связи между значениями степени прироста НСТ-теста мононуклеаров и нейтрофилов в ( $r=0,49$ ,  $p =0,001$ ). В группе с неблагоприятным течением часть связей утрачивается, что позволяет предполагать нарушение взаимоотношений между клетками.

При этом больным с различной динамикой процесса свойственна разная структура соотношений

Таблица 3. Соотношения характеристик НСТ-теста мононуклеаров и нейтрофилов

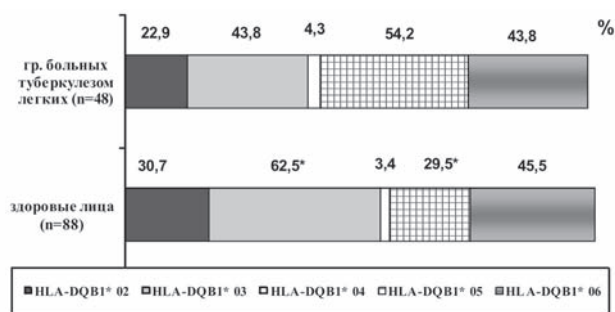
При благоприятном течении туберкулеза				Пр неблагоприятном течении туберкулеза.			
НСТ с.мн.	$r=0,55$	НСТ с.н		НСТ с.мн.	$r=0,59$	НСТ с.н	
$r=0,61$		$r=0,56$				$r=0,87$	
НСТи.мн.	$r=0,62$	$r=0,39$	НСТ и.н.	НСТи.мн			НСТ и.н.

показателей функции изучаемых фагоцитов, нарушается скоординированность в деятельности фагоцитирующих клеток при менее благоприятном прогнозе. Для больных обеих групп характерно однонаправленное изменение функциональной активности фагоцитирующих клеток: повышение секреторной функции мононуклеаров (по уровням АДА, АДА-2, Нп), нейтрофилов (по концентрации Лф и ЭП активности) и снижение синтезирующей функции. В группе с менее благоприятным течением туберкулеза секреторная функция мононуклеаров выше. Бактерицидная функция фагоцитирующих клеток зависела от течения туберкулезного процесса.

При анализе частот различных отклонений (от пороговой величины) в показателях НСТ-теста моноцитов и нейтрофилов можно констатировать, что наращивание в них резервов окислительного метаболизма, реализуемых при развитии кислородного взрыва, носило более системный и выраженный характер при неблагоприятном течении туберкулеза. Не исключено, что выраженность системного воспалительного ответа в этой группе являлся следствием или причиной нарушений межклеточной кооперации.

Во II группе пациентов с хроническим течением специфического процесса (n=48) установлена положительная ассоциация \*05 аллеля гена HLA-DQB1\* и \*16 аллеля гена HLA-DRB1\* с неблагоприятным вариантом развития специфического процесса, что подтверждено показателями относительного риска (\*05 - RR= 2,8; \*16- RR=4,6) (рисунок 2).

$p < 0,05$  – достоверно между больными и здоровыми лицами



**Рисунок 2.** Сравнение частоты распределения аллелей гена HLA-DQB1\* в группе больных с хроническими формами туберкулеза легких и у здоровых лиц

В исследовании не получено данных о зависимости клинической картины заболевания у больных фиброзно-кавернозным туберкулезом и наличия в генотипе сочетания \*07 аллеля гена HLA-DRB1\* и \*03 HLA-DQB1\*, \*01 аллеля гена HLA-DRB1\* и \*05 HLA-DQB1\*.

У больных фиброзно-кавернозным и кавернозным туберкулезом легких сохранялась выработка INF –у в ответ только на неспецифическую стимуляцию, индуцированная ППД продукция INF –у была

незначительной. При этом уровень продукции INF –у индуцированной ФГА был достоверно ниже у больных с прогрессирующим течением заболевания.

Спонтанная и индуцированная продукция IL-8 при фиброзно-кавернозном и кавернозном туберкулезе легких значительно превышает таковую у здоровых людей, при этом спонтанный синтез данного цитокина был интенсивнее, чем у больных с прогрессирующим течением специфического процесса. Продукция IL-8 в ответ на стимуляцию ППД и на неспецифическую ФГА у пациентов с благоприятным течением хронических форм туберкулеза была выше.

### ВЫВОДЫ

1. Больные с впервые выявленным туберкулезом легких в сравнении со здоровыми людьми достоверно реже являются носителями \*03 аллеля локуса HLA-DQB1\* и не отличаются по частоте встречаемости аллелей локуса HLA-DRB1\*.

2. При наличии в генотипе \*03 аллеля HLA-DQB1\* у впервые выявленных больных туберкулезом преобладают ограниченные поражения легких, продуктивный тип тканевой реакции, близкие к норме показатели клеточного и незначительная активация гуморального иммунитета, что доказывает протективную роль \*03 аллеля HLA-DQB1\*.

3. Сочетания в генотипе пациентов \*05 аллеля HLA-DQB1\* и \*16 аллеля HLA-DRB1\*, \*02 аллеля HLA-DQB1\* и \*04 аллеля HLA-DRB1\* положительно ассоциируются с развитием хронических, прогрессирующих форм заболевания, характеризующихся преобладанием активности гуморального звена иммунитета.

4. Больных впервые выявленным туберкулезом легких характеризует однонаправленность изменений секреторной и синтезирующей функций циркулирующих мононуклеаров и нейтрофилов при различии их бактерицидной функции.

### Список литературы.

1. Бубнова, Л.Н. Главный комплекс гистосовместимости человека – к 50-летию открытия/ Л.Н.Бубнова// Вестник гематологии.-2009.-ТомV.- №4.- С.3-4.
2. Дорошенкова, А.Е. Генетические особенности детей, больных различными формами туберкулеза органов дыхания/ А.Е. Дорошенкова, Н.В. Ставицкая // Туб и болезни легких.- 2011.-№4-С.132.
3. Кондакова, М.Н. Клинико-генетические особенности патогенеза туберкулеза органов дыхания у подростков: 14.00.26, 14.00.09/ М.Н. Кондакова; ФГУ «СПбНИИФ» Росмедтехнологий.-СПб.-2005.-с.37.
4. Ерохин В.В. Патоморфогенез туберкулеза // Материалы юбил. сессии ЦНИИТ РАМН. - М., 2000. - С.13-17.



5. Совершенствование терапии на основе изучения иммуногенетических факторов в формировании туберкулеза легких / Л.И. Арчакова и [др.] // Рос. иммун. журн. - 2008. - Т.2 (11), №2-3. – С.188-189.
6. Течение остропрогрессирующего туберкулеза легких у больных с различным фенотипом антигенов HLA/ В.Ю.Мишин и [др.]// Акт. вопросы диагностики и лечения туберкулеза. - СПб., 2005. – С.86-89.
7. Association of HLA-DQ and HLA-DR alleles with susceptibility or resistance to HIV-1 infection among the population of Chaco Province, Argentina// P.Motta et al./ Medicina (B Aires).-2002.-Vol.62(3).-P.245-248.

PHARMA V.A.M.  
VALERE IN ALIQUO MALUM

## ГЛУТОКСИМ®

### ИННОВАЦИОННЫЙ ПРЕПАРАТ

единственный зарегистрированный  
ПРЕДСТАВИТЕЛЬ НОВОГО КЛАССА<sup>1</sup> –  
РЕГУЛЯТОРОВ ЗАЩИТНЫХ СИСТЕМ ОРГАНИЗМА<sup>2</sup>

**УСКОРЯЕТ**

закрытие полостей распада

**УВЕЛИЧИВАЕТ**

частоту и сокращает сроки абациллирования

**УСКОРЯЕТ**

регресс инфильтративных и очаговых изменений в лёгких

<sup>1</sup> Easton D.M., Nijnik A., Mayer M.L. et al. Potential of immunomodulatory host defense peptides as novel anti-infectives. Trends in Biotechnology 2009, 27: 582-590.

<sup>2</sup> IDR, innate defense regulators – регуляторы защитных систем организма

ИННОВАЦИОННЫЙ

