

## МАРКЕРЫ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ С ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Е.Н. Беляева, М.Е. Дьякова, Д.С. Эсмедяева, Н.В. Сапожникова, А.А. Старшинова  
Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии,  
Санкт-Петербург, Россия

### Markers of inflammatory response in patients with drug resistance of mycobacterium tuberculosis

E.N. Belyaeva, M.E. Dyakova, D.S. Esmedyaeva, N.V. Sapozhnikova, A.A. Starshinova  
Saint-Petersburg Science Research Institute of Phthiopulmonology, Saint-Petersburg, Russia

#### Резюме

*Цель:* изучение воспалительного ответа у больных с лекарственной устойчивостью микобактерий туберкулеза.

*Материалы и методы:* обследовано 56 пациентов. Первая группа (n=38) – больные с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя (23 мужчины и 15 женщин) от 17,0 до 63,0 лет, вторая группа (n=18) – больные со множественной лекарственной устойчивостью возбудителя (12 мужчин и 6 женщин) в возрасте от 16,0 до 69,0 лет. Референсная группа – 30 практически здоровых доноров.

*Изучались:* уровень церулоплазмينا, гаптоглобина,  $\alpha$ 1-кислого гликопротеина, активность  $\alpha$ 1-протеазного ингибитора и  $\alpha$ 2-макроглобулина, активность аденозиндезаминазы и эластазы.

*Статистическая обработка данных* проводилась с помощью Statistica 7.0.

*Результаты:* в обеих группах уровень гаптоглобина в среднем превышал верхнюю границу референсных значений в 2,5 раза, степень зависела от клинической формы туберкулеза. Уровень  $\alpha$ 1-кислого гликопротеина в обеих группах увеличился в среднем в 1,5 раза ( $p < 0,01$ ). Низкая активность  $\alpha$ 2-макроглобулина и нормальные значения  $\alpha$ 1-протеазного ингибитора были отмечены в обеих группах.

*Активность эластазы* в обеих группах не выходила за пределы референсных значений. Повышенные значения церулоплазмينا отмечены в 39 % и 50 % случаев в обеих группах. Уровень церулоплазмينا выше  $X + \sigma$  выявлялся чаще у больных фиброзно-кавернозным туберкулезом, чем инфильтративным (76,0 % против 10,0 %,  $p = 0,001$  соответственно), а также у пациентов с поликавернозным процессом по сравнению с наличием одиночных полостей ( $p = 0,003$ ) и имеющих полости деструкции более 4,0 см (в 100,0 %,  $p = 0,0004$ ).

*Повышение аденозиндезаминазы* регистрировалось только у больных с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя ( $p = 0,038$ ).

*Заключение:* в обеих группах наиболее выраженные изменения были характерны для гаптоглобина,  $\alpha$ 1-кислого гликопротеина и  $\alpha$ 2-макроглобулина. Активность аденозиндезаминазы в большей мере отражает напряженность иммунного ответа при широкой лекарственной устойчивости возбудителя и, вероятно,

#### Abstract

*Objective:* to study inflammatory response in patients with drug-resistant Mycobacterium tuberculosis.

*Materials and methods.* 56 patients were examined. The first group consisted of (n=38) patients with extensively drug-resistant pathogen (23 men and 15 women) from 17,0 to 63,0 years old, the second group (n=18) – patients with multi-drug resistant pathogen (12 men and 6 women) from 16,0 to 69,0 years old. Reference group – 30 practically healthy donors.

*Were examined:* level of ceruloplasmin, haptoglobin,  $\alpha$ 1-acid glycoprotein, activity of  $\alpha$ 1-proteasome inhibitor,  $\alpha$ 2-macroglobulin, activity of adenosine deaminase and elastase.

*Statistical data processing* was performed using Statistica 7.0.

*Results.* In both groups average level of haptoglobin exceeded the upper limit of normal range 2,5 times; grade depended on clinical form of tuberculosis. Level of  $\alpha$ 1-acid glycoprotein in both groups was increased on average 1,5 times ( $p < 0,01$ ). Low activity of  $\alpha$ 2-macroglobulin and normal values of  $\alpha$ 1-proteasome inhibitor were observed in both groups.

*Activity of elastase* in both groups was within the limits of normal ranges. Elevated values of ceruloplasmin were observed in 39 % and 50 % correspondently in both groups. Level of ceruloplasmin above  $X + \sigma$  was detected more frequently in patients with fibro-cavernous tuberculosis than with infiltrative (76,0 % vs. 10,0 percent,  $p = 0,001$ , respectively), in patients with polycavernous process compared to patients with presence of single cavities ( $p = 0,003$ ) and with cavities of destruction more than 4,0 cm (100,0 %,  $p = 0,0004$ ).

*Increase of adenosine desaminase* was observed only in patients with extensive drug-resistant pathogen ( $p = 0,038$ ).

*Conclusion.* In both groups the most expressed changes were observed in levels of haptoglobin,  $\alpha$ 1-acid glycoprotein and  $\alpha$ 2-macroglobulin. Activity of adenosine desaminase may reflect tension of immune response with extensive drug resistance of the pathogen and probably suggests an adequate response of the organism to ongoing chemotherapy in patients with multidrug-resistant mycobacteria.

позволяет предположить адекватный ответ организма на проводимую химиотерапию у больных со множественной лекарственной устойчивостью микобактерий.

**Ключевые слова:** туберкулез легких, лекарственная устойчивость возбудителя, воспалительный ответ.

## Введение

На глобальном уровне туберкулез со множественной лекарственной устойчивостью микобактерий, по оценкам, имеет место у 3,3% новых случаев туберкулеза и 20% случаев, в которых больные ранее проходили соответствующее лечение, – уровень, который в последние годы изменился незначительно [1 – 3].

В 2014 г., по различным оценкам, МЛУ-ТБ унес жизнь 190 000 человек. В 2014 г. тестирование на лекарственную устойчивость прошли больше больных ТБ, чем когда бы то ни было ранее [4, 5]. Всего в мире было протестировано 58% больных, ранее получавших лечение, и 12% больных, заболевших впервые, что свидетельствует о соответствующем увеличении от существующих показателей в 17% и 8,5% в 2013 г. [6, 7].

Характер и патогенетические особенности туберкулеза зависят от сложного взаимодействия между возбудителем и организмом [8].

Возникающие при этом разнообразные реакции формируют системный воспалительный ответ, представляющий собой сложное взаимодействие различных систем, обуславливающих адекватную защитную реакцию, соответствующую степени повреждения [9]. Многокомпонентность составляющих патологического процесса при туберкулезе легких определяет необходимость учета многочисленных факторов, включающих как биологические свойства микроорганизма, так и особенности реакции организма на инфекцию [10].

Эффективность лечения больного туберкулезом легких напрямую зависит от понимания этих факторов у конкретного больного.

Центральное место в системном воспалительном ответе занимает продукция печенью широкого спектра белков – реактантов острой фазы (РОФ), изменения концентрации которых возрастает в разной степени. Уровень ряда белков возрастает значительно (С-реактивный белок (СРБ), умеренно (гаптоглобин (ГП),  $\alpha$ 1-кислый гликопротеин (АГП),  $\alpha$ 1-протеазный ингибитор ( $\alpha$ 1-ПИ), фибриноген), может остаться в референсных пределах (церулоплазмин (ЦП),  $\alpha$ 2-макроглобулин ( $\alpha$ 2-МГ)) и требовать индивидуальной оценки, а может снижаться (альбумин, трансферрин) [11]. Сложность анализа заключается в том, что для них характерна полифункциональность и все они способны влиять на одно или несколько звеньев воспалительного

**Key words:** lung tuberculosis, drug resistance of agent, inflammatory response.

процесса [12]. Антиоксидантными свойствами обладают ГП, АГП и ЦП. Прямое антибактериальное воздействие показано для ЦП и гемопексина, связывающих медь и гем соответственно [13]. Антипротеазной активностью обладает  $\alpha$ 1-ПИ,  $\alpha$ 2-МГ и АГП. Их важная функция состоит в ингибировании активности эластазоподобных и химотрипсиноподобных протеиназ, поступающих из гранулоцитов в воспалительные экссудаты и вызывающих вторичное повреждение тканей.

Регулятором воспалительного ответа является эластаза (Эл), которая в разных ситуациях может выступать как провоспалительный, так и как противоспалительный агент [14].

Важным модулятивным компонентом синдрома системного воспалительного ответа является аденозин, внеклеточная аккумуляция которого приводит к снижению активности иммунных клеток, к защите тканей от повреждения. Одним из возможных путей изучения указанной взаимосвязи аденозина и функционального состояния иммунных клеток является исследование активности аденозиндезаминазы, регулирующей уровень аденозина, конвертируя его в инозин [13].

В литературе имеются единичные данные, посвященные изучению системного воспалительного ответа у больных лекарственно-устойчивым туберкулезом легких. Однако сопоставления выраженности системного воспалительного ответа у больных туберкулезом легких со множественной и широкой лекарственной устойчивостью *Mycobacterium tuberculosis* до сих пор не проводилось.

**Цель исследования** – сопоставить особенности системного воспалительного ответа у больных туберкулезом легких со множественной и широкой лекарственной устойчивостью *Mycobacterium tuberculosis*.

## Материалы и методы

Обследованные 56 больных туберкулезом легких (ТЛ) были разделены на 2 группы в соответствии с профилем лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) к противотуберкулезным препаратам (ПТП). Первую группу (n=38) составили больные с широкой лекарственной устойчивостью МБТ к ПТП (ШЛУ МБТ; 23 мужчины и 15 женщин) в возрасте 17,0–63,0

лет ( $M = 35,0$ ), вторую ( $n = 18$ ) — со множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ МБТ; 12 мужчин и 6 женщин) в возрасте 16,0–69,0 лет ( $M = 40,0$ ). Группы были идентичны по клиническим формам туберкулеза — по распространенности специфического процесса; по наличию и размеру полости деструкции, по длительности заболевания, доминирующими были ФКТ и ИТЛ (табл. 1).

Таблица 1

### Клиническая характеристика больных туберкулезом легких

Признаки	Группы больных, n (%)	
	ШЛУ МБТ	МЛУ МБТ
<i>Клинические формы ТЛ</i>		
Диссеминированный ТЛ	4 (11,0)	2 (11,0)
Инфильтративный ТЛ (ИТЛ)	10 (26,0)	5 (28,0)
Казеозная пневмония	2 (5,0)	—
Очаговый ТЛ	—	1 (6,0%)
Фиброзно-кавернозный ТЛ (ФКТ)	22 (58,0)	10 (55,0)
<i>Распространенность специфического процесса</i>		
В пределах одной доли	16 (42,0)	9 (50,0)
В пределах одного легкого	7 (18,0)	1 (6,0)
В пределах двух легких	15 (40,0)	8 (44,0)
<i>Наличие полости деструкции</i>		
Нет	6 (16,0)	2 (11,0)
Одна полость	12 (31,0)	7 (39,0)
Многочисленные полости	20 (53,0)	6 (50,0)
<i>Размеры полости деструкции</i>		
До 4,0 см	22 (71,0)	10 (67,0)
Более 4,0 см	9 (29,0)	5 (33,0)
<i>Длительность заболевания</i>		
Менее 5 лет	24 (63,0)	14 (78,0)
Более 5 лет	14 (37,0)	4 (22,0)

Референсную группу (РГ) составили 30 практически здоровых доноров с сопоставимыми характеристиками по полу и возрасту.

Для характеристики воспалительного процесса в сыворотке крови исследовали маркеры воспаления: реактанты острой фазы воспаления (РОФ) — уровень церулоплазмينا (ЦП) определяли методом Рафина, гаптоглобина (ГП),  $\alpha 1$ -кислого гликопротеина (АГП) — иммунотурбодиметрическим методом с использованием наборов Konelab («Thermo Fisher Scientific», Финляндия), активность  $\alpha 1$ -протеазного ингибитора ( $\alpha 1$ -ПИ) и  $\alpha 2$ -макроглобулина ( $\alpha 2$ -МГ) — методом Эрлангера и Хавербекова, активность аденозиндезаминазы (АДА) и эластазы (Эл) — методами G. Giusti и L. Visser, E.R. Blout спектрофотометрически соответственно.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 7.0. Метрические показатели представлялись в виде среднего и ошибки среднего ( $X \pm m$ ), порядковые — в виде минимум — максимум. Оценка достоверности различия метрических показателей проводилась с использованием непараметрического U-критерия Вилкоксона — Манна — Уитни, проверка значимости результатов ранговых коэффициентов корреляции Спирмена — на основе статистики Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

Согласно результатам проведенного исследования, у больных ТЛ с МЛУ и ШЛУ МБТ к ПТП выявлены однонаправленные изменения ряда РОФ: повышение уровней ГП и АГП, снижение активности  $\alpha 2$ -МГ и сохранение уровня  $\alpha 1$ -ПИ в референсных пределах (табл. 2).

Таблица 2

### Характеристики воспалительного ответа у больных туберкулезом легких с различным профилем лекарственной устойчивости возбудителя

Показатели	Группы		
	РГ	ШЛУ МБТ	МЛУ МБТ
ГП, г/л	1,02±0,06	1,98±0,15*	2,04±0,19*
	1,04	2,15	1,96
	0,81–1,3	0,31–3,5	0,92–3,9
АГП, г/л	0,95±0,07	1,57±0,13*	1,44±0,14*
	0,96	1,41	1,55
	0,46–1,23	0,34–4,41	0,29–2,53
ЦП, г/л	0,23±0,009	0,3±0,017	0,28±0,016
	0,24	0,29	0,28
	0,2–0,28	0,13–0,49	0,19–0,42
Эл, мЕ	157,6±5,34	183,3±13,8	173,7±12,7
	163,0	173,9	157,6
	108,7–173,9	76,0–608,5	108,7–282,5
$\alpha 1$ -ПИ, нмоль/мин	1,60 ± 0,13	1,5±0,09	1,53±0,13
	1,43	1,3	1,51
	0,66 – 2,85	0,82–2,89	0,91–2,57
Эл/ $\alpha 1$ -ПИ	123,0±12,8	144,1±15,1	135,3±17,7
	113,7	139,4	141,2
	64,4 – 263,5	33,9–558,3	49,4–266,3
$\alpha 2$ -МГ, нмоль/мин	2,55 ± 0,13	2,12±0,09*	1,84±0,11*
	2,46	2,1	1,85
	1,64 – 3,55	0,99–3,22	1,13–2,7
АДА, ед/л	14,02±0,28	19,73±1,08**, *	16,6±1,95
	14,1	18,8	15,8
	10,7–18,3	11,2–35,6	8,9–43,3

\* — отличия значимы по сравнению с референсными значениями;

\*\* — отличия значимы между исследуемыми группами.

В обеих группах уровень ГП в среднем превышал верхнюю границу референсных значений в 2,5 раза, а степень его повышения зависела от кли-



Таким образом, течение туберкулеза легких с множественной и широкой лекарственной устойчивостью микобактерий сопровождается развитием системного воспалительного ответа, степень выраженности которого зависит от профиля лекарственной устойчивости.

#### Литература

1. Companion handbook to the WHO guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis / World Health Organization; 2014. — 448 p.
2. Tuberculosis in Russia its history and its status today / P. Yablonskii [et al.] // American Journal of Respiratory and Clinical Care Medicine. -2015.-Vol.191.-№4.-P.372-376.
3. Лекарственная устойчивость Mycobacterium tuberculosis при различных локализациях заболевания / П.К. Яблонский [и др.] // Инфекция и иммунитет. — 2016. — Т. 6, № 2. — С. 133–140.
4. Стерликов, С.А. Проблема борьбы с лекарственно-устойчивым туберкулезом в Российской Федерации / С.А. Стерликов // Здоровье населения и среда обитания. — 2014. — № 6 (255). — С. 21–23.
5. Лучкевич, В.С. Тенденции эпидемической ситуации по туберкулезу в России на современном этапе (обзор) / В.С. Лучкевич, Е.А. Хасанова // Медицинский альянс. 2016; 3:20-23.
6. Влияние ранних методов диагностики множественной лекарственной устойчивости на эффективность лечения пациентов с туберкулезом органов дыхания / Н.В. Сапожникова [и др.] // Инфекционные болезни. — 2014. — Т.12, № 1. — С. 273.
7. Сравнительный анализ результатов определения лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза к рифампицину и изониазиду различными методами исследования / Т.Г. Смирнова [и др.] // Туберкулез и болезни легких. — 2015. — № 5. — С. 171–172.
8. Khan F, Khan M. Inflammation and acute phase response. Intern. J. of Applied Biology and Pharmaceutical Technol. 2010; 1 (2): 312-21.
9. Kaufmann SHE, Dorhoi A. Inflammation in tuberculosis: interactions, imbalances and interventions. Current Opinion in Immunology. 2013; 25: 441–9.
10. Adanin S, Yalovetskiy, Nardulli BA, et al. Inhibiting adenosine deaminase modulates the systemic inflammatory response syndrome in endotoxemia and sepsis. Am J Physiol. 2002;282:1324–1332.
11. Conlon B.A, Law WR. Macrophages are a source of extracellular adenosine deaminase-2 during inflammatory responses. Clin Exp Immunol. 2004;138:14–20.
12. Law WR, Valli VE, Conlon BA. Therapeutic potential for transient inhibition of adenosine deaminase in systemic inflammatory response syndrome. Crit Care Med. 2003;31: 1475–1481.
13. Активность аденозиндезаминазы плазмы крови и лизатов мононуклеарных клеток у пациентов с туберкулезом легких с разным уровнем лекарственной устойчивости к противотуберкулезным препаратам / О.О. Янович [и др.] // Туберкулез и болезни легких. — 2015. — № 4. — С. 58-61.
14. Hochepped T, Berger F, Baumann H, Libert C. Alpha-1-acid glycoprotein: an acute phase protein with inflammatory and immunomodulating properties. Cytokine Growth Factor Rev. 2003; 14 (1): 25-34.
15. Sadrzadeh SMH, Bozorgmehr J. Haptoglobin phenotypes in health and disorders. Am J Clin Pathol. 2004; 121:97–104.
16. Дьякова, М.Е. Аденозиндезаминаза в патогенезе инфилтративного туберкулеза легких и пневмонии / М.Е. Дьякова [и др.] // Медицинский альянс. — 2015. — № 4. — С. 60–67.

#### References

1. Companion handbook to the WHO guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis / World Health Organization; 2014. — 448 p.
2. Tuberculosis in Russia its history and its status today / P. Yablonskii [et al.] // Am J Respir Crit Care Med. 2015;191 (4):372-376.
3. Lekarstvennaya ustoychivost' Mycobacterium tuberculosis pri razlichnykh lokalizatsiyakh zabolevaniya / P.K. Yablonskiy [i dr.] // Infektsiya i immunitet. — 2016. — T.6, № 2. — S. 133-140.
4. Sterlikov S.A. Problema bor'by s lekarstvenno-ustoychivym tuberkulezom v Rossiyskoy Federatsii // Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya. — 2014.- № 6 (255). — S. 21-23.
5. Luchkevich V.S., Hasanova E.A. Tendencii jepidemicheskoy situacii po tuberkulezu v Rossii na sovremennom jetape (obzor). Medicinskij al'jans. 2016; 3:20-23.
6. Vliyanie rannikh metodov diagnostiki mnozhestvennoy lekarstvennoy ustoychivosti na effektivnost' lecheniya patsientov s tuberkulezom organov dykhaniya / N.V. Sapozhnikova [i dr.] // Infektsionnye bolezni. — 2014. — T.12, №1. — S. 273.
7. Sravnitel'nyy analiz rezul'tatov opredeleniya lekarstvennoy ustoychivosti mikobakteriy tuberkuleza k rifampitsinu i izoniazidu razlichnymi metodami issledovaniya / T.G. Smirnova [i dr.] // Tuberkulez i bolezni legkikh. — 2015. — № 5. — S. 171-172.
8. Khan F, Khan M. Inflammation and acute phase response. Intern. J. of Applied Biology and Pharmaceutical Technol. 2010; 1 (2): 312-21.
9. Kaufmann SHE, Dorhoi A. Inflammation in tuberculosis: interactions, imbalances and interventions. Current Opinion in Immunology. 2013; 25: 441–9.
10. Adanin S, Yalovetskiy IV, Nardulli BA. Inhibiting adenosine deaminase modulates the systemic inflammatory response syndrome in endotoxemia and sepsis. Am J Physiol. 2002; 282: 1324-32.
11. Conlon B.A, Law WR. Macrophages are a source of extracellular adenosine deaminase-2 during inflammatory responses. Clin Exp Immunol. 2004;138:14–20.
12. Law WR, Valli VE, Conlon BA. Therapeutic potential for transient inhibition of adenosine deaminase in systemic inflammatory response syndrome. Crit Care Med. 2003;31: 1475–1481.
13. Aktivnost' adenozindezaminazy plazmy krovi i lizatov mononuklearykh kletok u patsientov s tuberkulezom legkikh s raznym urovnem lekarstvennoy ustoychivosti k protivotuberkuleznym preparatam / O.O. Yanovich [i dr.] // Tuberkulez i bolezni legkikh. — 2015. — № 4. — S. 58-61.
14. Hochepped T, Berger F, Baumann H, Libert C. Alpha-1-acid glycoprotein: an acute phase protein with inflammatory and immunomodulating properties. Cytokine Growth Factor Rev. 2003; 14 (1): 25-34.
15. Sadrzadeh SMH, Bozorgmehr J. Haptoglobin phenotypes in health and disorders. Am J Clin Pathol. 2004; 121:97–104.
16. D'jakova M.E., Zhuravlev V.Ju., Torkatjuk E.A., Jesmedljaeva D.S., Perova T.L. Adenozindezaminaza v patogeneze infil'trativnogo tuberkuleza legkih i pnevmonii. Medicinskij al'jans. 2015; 4: 60-67.

*Авторский коллектив:*

*Беляева Екатерина Николаевна* – младший научный сотрудник Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии; тел.: 8(812)579-25-06, e-mail: ekaterina\_83@bk.ru

*Дьякова Марина Евгеньевна* – старший научный сотрудник Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии, к.б.н.; тел.: 8(812)297-86-03, e-mail: marinadyakova@yandex.ru

*Эсмедяева Диляра Салиевна* – старший научный сотрудник Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии, к.б.н.; тел.: 8(812)297-86-03, e-mail: diljara-e@yandex.ru

*Сапожникова Надежда Валентиновна* – старший научный сотрудник отделения терапии туберкулеза легких Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии, к.м.н.; тел.: 8(812)579-25-06, e-mail: n\_sapozhnikova69@mail.ru

*Старшинова Анна Ангреевна* – ведущий научный сотрудник Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии, д.м.н.; тел.: 8(812)579-25-06, e-mail: starshinova\_777@mail.ru