

На правах рукописи

Самсонов Кирилл Юрьевич

**ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ
ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННОГО ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ С
ПОЛИМОРФИЗМОМ ГЕНОВ ФИБРОНЕКТИНА И ТЕНАСЦИНА X**

3.1.26. Фтизиатрия

Автореферат диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Москва -2021

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Мордык Анна Владимировна

Официальные оппоненты:

Бородулина Елена Александровна, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой фтизиатрии и пульмонологии;

Пьянзова Татьяна Владимировна, доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой фтизиатрии.

Ведущая организация: Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «12» октября 2021 г. в 15:00 часов на заседании диссертационного совета 24.1.264.01, созданного на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», по адресу: 107564, г. Москва, ул. Яузская аллея, дом 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза» (107564, г. Москва, ул. Яузская аллея, дом 2; www.critub.ru)

Автореферат разослан «_____» _____ 2021 года

Ученый секретарь

диссертационного совета

Юхименко Наталья Валентиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность избранной темы. Несмотря на большие достижения в борьбе с туберкулезом (ТБ), проблема различной восприимчивости к ТБ, а также ответа на проводимую терапию и её исход остаются одними из ведущих. В данном направлении было изучено и доказано влияние сопутствующих заболеваний (таких как ВИЧ-инфекция, сахарный диабет, ХОБЛ и др.), возраста и социальной сохранности пациента, своевременности обращения и характеристики возбудителя [Зиминова А. Н. и соавт., 2013; Багишева Н. В. И соавт., 2014; Бекмухамбетова Н. В. и соавт., 2014; Бородулина Э. В. и соавт., 2018; Владимиров А. В. И соавт., 2018]. Многого поменялось с введением в рутинную практику молекулярно-генетических методов диагностики, в частности ПЦР. С помощью данного метода было расшифровано множество мутаций системы цитокинов, их рецепторов (таких как IL, TNF- α , IFN- γ и др.) и доказан их несомненный вклад в развитие, течение и исход ТБ [Чурина Е. Г. И соавт., 2014; Наследникова И. О. и соавт., 2015; Байке Е. Е. и соавт., 2015; Степанова Н. А. и соавт., 2017; Ding G. G. et al., 2012; Liu G. et al., 2014; Yu Z. G. et al., 2017; Wang H. et al., 2017; Lin K. et al., 2018; Mandal R. K. et al., 2019; Urazova O. I. et al., 2019; Varzari A. et al., 2019].

Известно, что иммунный ответ при активном ТБ реализуется посредством внеклеточного матрикса (ВКМ) [Theocharis A. D. et al., 2019]. На сегодня большинство исследований по ВКМ сводятся к изучению диспластических процессов в соединительной ткани и их влиянии на развитие и течение ТБ [Лёншин А. В. и соавт., 2012; Суханова Л. А., 2015]. Эти исследования наряду с развитием молекулярной генетики привели к расшифровке множества веществ, функционирующих в ВКМ, и мутаций в генах этих веществ, которые непосредственно или опосредованно способны влиять на ТБ процесс [Singh Shivani et al., 2014; Bruno B Andrade et al., 2015; Moores Rachel C. et al., 2017; Squeglia F et al., 2019; Kuo C. J., 2019].

Из всех изученных на современном этапе молекул и генов ВКМ, наибольший интерес представляют фибронектин (Fn) и тенасцины (Tn), ввиду накопления множества противоречивых данных по их функционированию при различных патологических процессах и в частности при ТБ [Jones F. S. et al.,

2000; Udalova I. A. et al., 2011; Valcourt U. et al., 2015; Hymes J. P. et al., 2016; Prasad A. et al., 2018; Beyeler J. et al., 2019; Lemanska-Perek A. et al., 2019; Jara C. P. et al., 2020; Logie C. et al., 2020; Wang K. et al., 2020].

Степень разработанности темы диссертации. Несмотря на совершенствование этиотропной противотуберкулезной терапии, разработке эффективных новых препаратов, доля пациентов, неэффективно закончивших интенсивную фазу химиотерапии (ХТ), остается достаточно высокой [Зиминова А. Н. и соавт., 2013; Мордык А. В. и соавт., 2015; Поркулевич Н. И. и соавт., 2015; Бородулина Е. А. и соавт., 2019]. Работа в данном направлении, несомненно, является одной из приоритетных, для чего углубляются знания по патогенезу туберкулезного процесса, а также биологии *Mycobacterium tuberculosis* [Зоркальцева Е. Ю. и соавт., 2017].

Существует немало работ, изучающих течение ТБ процесса на фоне дисплазии соединительной ткани. Практически все эти работы завязаны на клинической картине дисплазии [Лёншин А. В. и соавт., 2012; Бекмухамбетова Н. В. и соавт., 2014; Суханова Л. А., 2015]. Проблемой является множество недифференцированных форм дисплазии, которые не имеют клинических признаков, но ответственны за несовершенный иммунный ответ при множестве патологических состояний, в том числе и ТБ [Суханова Л. А., 2015], что говорит о необходимости искать причинно-следственные связи данного явления в несовершенной работе компонентов соединительной ткани.

На сегодня литературных данных по изучению влияния полиморфизма генов соединительнотканного матрикса на ТБ процесс, в частности FN1 и TNXB, не найдено.

Цель исследования. Разработка новых научно-обоснованных критериев прогнозирования течения и эффективности лечения впервые выявленного туберкулеза легких у больных с полиморфизмом генов фибронектина и тенасцина X.

Задачи исследования

1. Выделить рентгенологические особенности, бактериологические характеристики возбудителя заболевания у впервые выявленных больных туберкулезом легких.

2. Оценить встречаемость генотипов и аллелей полиморфизмов rs6707530 FN1 и rs1150754 TNXB у впервые выявленных больных туберкулезом легких, сопоставив их с результатами лечения.

3. Выявить связь полиморфизма rs6707530 гена FN1 с рентгенологическими проявлениями заболевания и бактериологическими характеристиками возбудителя в динамике у впервые выявленных больных туберкулезом.

4. Выявить связь полиморфизма rs1150754 гена TNXB с рентгенологическими проявлениями и бактериологическими характеристиками в динамике у впервые выявленных больных туберкулезом.

Научная новизна. Получены данные об отсутствии влияния ряда социальных факторов, пола, возраста, наличия зависимостей от психоактивных веществ, наличия и варианта сопутствующей патологии на результат интенсивной фазы химиотерапии, установлена связь неэффективности химиотерапии с распространенностью процесса, наличием и количеством деструктивных изменений, набором противотуберкулезных препаратов при назначении стандартного режима химиотерапии.

Получены сведения о наличии связи неэффективного курса химиотерапии с наличием бактериовыделения, обнаруженного методом простой бактериоскопии до начала лечения туберкулеза и интенсивностью роста МБТ на питательных средах, и об отсутствии связи неэффективности лечения впервые выявленного туберкулеза с массивностью бактериовыделения по данным микроскопии мазка мокроты и наличием высокой скорости роста МБТ на питательных средах.

Впервые у больных впервые выявленным туберкулезом оценены полиморфизмы rs6707530 гена FN1 и rs1150754 гена TNXB.

Впервые установлено, что носительство генотипов T\G и G\G, а также аллели G полиморфизма rs6707530 гена FN1 ассоциировано с эффективным курсом химиотерапии у впервые выявленных больных, носительство генотипа T\T – с неэффективным курсом химиотерапии. Впервые получены сведения об отсутствии связи наличия аллельного варианта полиморфизма rs1150754 гена TNXB со скоростью репаративных процессов, бактериологическими

характеристиками возбудителя заболевания и эффективностью лечения впервые выявленного туберкулеза.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные данные позволили расширить представление о причинах неэффективности лечения впервые выявленного туберкулеза с позиции молекулярно-генетических методов исследования. Показано, что эффективность химиотерапии связана с носительством определенного аллельного варианта rs6707530 гена FN1, но не rs1150754 гена TNXB.

Установлено, что лица с впервые выявленным туберкулезом носители генотипов T\G и G\G показывают стабильно более благоприятную рентгенологическую динамику, чаще закрывают полости распада, а также прекращают бактериовыделение по данным микроскопии и посева на плотные питательные среды (ППС) раньше в сравнении с носителями генотипа T\T. Анализ полиморфизма rs1150754 гена TNXB не выявил значимых закономерностей у впервые выявленных больных, что может указывать на отсутствие влияния данной мутации на ТБ процесс.

Эти результаты способствуют оценивать прогноз исхода лечения впервые выявленного туберкулеза легких на ранних этапах путем проведения генотипирования поступивших на лечение пациентов. Помимо прогноза практикующий фтизиатр путем корректировки патогенетической терапии может повлиять на исход у лиц с носительством «неблагоприятных» генотипов.

Методология и методы диссертационного исследования. Работа представляет собой открытое проспективное когортное исследование, в котором проанализированы социальные, клинические, эпидемиологические, рентгенологические, бактериологические, молекулярно генетические данные 184 пациентов с впервые выявленным туберкулезом легких.

Решение поставленных задач подразумевало поэтапное деление когорты на несколько групп. По завершению интенсивной фазы ХТ изначально были сформированы 2 группы для выявления возможных факторов неэффективности лечения. Первая – лица с неэффективным курсом ХТ (n=93), вторая – лица с эффективным курсом ХТ (n=91). На следующем этапе для оценки связи мутаций в изучаемых нами генах с рентгенологической и бактериологической

динамикой когорты была разделена ещё 5 групп в зависимости от носительства определённого генотипа соответствующего полиморфизма. Генотипирование rs6707530 FN1 послужило формированию 3-ей, 4-й и 5-й групп. Третью группу составили лица, носители генотипа T\T (n=94), четвертую – носители генотипа T\G (n=73), пятую – носители генотипа G\G (n=17). Генотипирование rs1150754 TNXB добавило ещё 2 группы: шестая группа – носители генотипа C\C (n=152), седьмая группа – носители генотипа C\T (n=31).

Статистические методы включали в себя описательную статистику, анализ таблиц сопряженности (точный критерий Фишера, χ^2), критерий отношения рисков (RR) с расчетом для него 95% доверительного интервала.

Положения, выносимые на защиту

1. Распространённость процесса, наличие полостей распада и их количество по данным рентгенологических методов исследования на момент поступления, а также определённый набор противотуберкулёзных препаратов при лечении по IV режиму химиотерапии связаны с исходом лечения впервые выявленных больных. Обнаружение бактериовыделения методом микроскопии мазка мокроты, а также интенсивность роста *Mycobacterium tuberculosis* на плотных питательных средах при обследовании на момент выявления туберкулеза могут обуславливать исход химиотерапии у впервые выявленных больных. Массивность бактериовыделения по данным микроскопии мазка мокроты и быстрорастущие штаммы *Mycobacterium tuberculosis* не связаны с эффективностью лечения.

2. Пациенты в группе с носительством генотипа T\T на момент поступления чаще имели деструкцию лёгочной ткани более 2см. Положительная рентгенологическая динамика и закрытие полостей деструкции на 2-й, 4-й и 6-й месяцы контроля наблюдалась преимущественно у носителей генотипов T\G и G\G. Связи аллельного варианта rs6707530 гена FN1 с наличием и массивностью бактериовыделения методом микроскопии на момент поступления не наблюдалось. Штаммы *Mycobacterium tuberculosis* с быстрым и обильным ростом на плотных питательных средах выявлялись чаще у гетерозигот. Прекращение бактериовыделения методом микроскопии имело различие только на 5-й месяц ХТ и чаще наблюдалось в группе гомозигот по

гуанину. Сроки прекращения бактериовыделения методом посева биологического материала на ППС не было ассоциировано с носительством определенного генотипа. На фоне химиотерапии в течение 12 месяцев посев материала на ППС чаще давал рост у пациентов гомозигот по тимину.

3. Аллельный вариант полиморфизма rs1150754 гена TNXB со скоростью репаративных процессов, бактериологическими характеристиками возбудителя заболевания и эффективностью лечения впервые выявленного туберкулеза не сопряжен.

Степень достоверности. Достоверность результатов определяется достаточным объемом и корректным формированием изучаемых выборок, применением принципов, технологий и методов доказательной медицины, информативностью современных методов обследования, адекватностью математических методов обработки данных поставленным задачам.

Апробация работы. Результаты работы обсуждались и были одобрены на: VII Ежегодной научной конференции «Современные тенденции развития фтизиатрии», посвящённая Дню Российской науки и 100-летию со дня рождения выдающегося Сибирского фтизиохирурга профессора Андрея Илларионовича Боровинского (Новосибирск, 2019); V межвузовской научной сессии молодых ученых и студентов (Омск, 2019), ежегодной Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Современные инновационные технологии в эпидемиологии, диагностике и лечении туберкулеза взрослых и детей», посвященной Всемирному Дню борьбы с туберкулезом (Москва, 2020); IX Ежегодной научной конференции, посвящённой Дню Российской науки (Новосибирск, 2020), ERS internacional Congress (Vienna, Austria, 2020), VII межвузовской научной сессии молодых ученых и студентов (Омск, 2021), XX научной конференции с международным участием «Молодежное научное творчество – эффективный путь подготовки медико-биологических кадров» (Бишкек, Киргизия, 2021).

Диссертационная работа апробирована на расширенном заседании кафедры фтизиатрии, фтизиохирургии и инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России (Омск, 2020).

Диссертация выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России по теме: «Проблема туберкулеза как коморбидного заболевания», номер государственной регистрации АААА-А15-115123110097-3.

Внедрение результатов исследования. Материалы диссертационного исследования используются в учебном процессе на кафедре фтизиатрии, фтизиохирургии и инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России. Результаты исследования внедрены в практику бюджетного учреждения здравоохранения Омской области «Клинический противотуберкулезный диспансер» (БУЗОО КПТД).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 научных работы, в том числе 4 статьи в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 2 статьи в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и систем цитирования (Scopus, Web of Science).

Личный вклад автора. Автором осуществлен сбор первичной документации, сформированы электронные базы данных, проведены статистическая обработка и анализ результатов исследования, подготовлены материалы для публикации и внедрения результатов в практику, учебный процесс, сформулированы основные положения, выводы и подготовлена диссертационная работа.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 139 страницах машинописного текста и состоит из введения, 6 глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного материала. Список литературы представлен 199 источниками, из которых 133 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 52 таблиц и 1 рисунка.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведение исследования одобрено этическим комитетом Омского государственного медицинского университета. Объектом исследования были больные с впервые выявленным туберкулезом легких. Из исследования исключали пациентов с ВИЧ-инфекцией, микобактериозом, внелегочным ТБ, впервые выявленным ФКТ, лица с самовольным отрывом от лечения или летальным исходом по иным от ТБ причинам.

По завершению интенсивной фазы ХТ все пациенты были разделены на 2 группы. В первую группу вошли лица, у которых сохранялась или появилась деструкция легочной ткани по рентгенологическим данным, не достигнута негитивация мазка мокроты и\или абациллирование, отсутствовала или была отрицательной рентгенологическая динамика, либо совокупность этих факторов, а также 1 пациент с летальным исходом от ТБ до завершения интенсивной фазы ХТ по данным патологоанатомического исследования (n=93). Вторую группу составили лица, у которых закрылись полости распада, либо получена положительная рентгенологическая динамика в виде уплотнения и\или рассасывания очагов и инфильтрата у пациентов без деструкции легочной ткани, достигнута негитивация мазка мокроты и абациллирование (n=91).

Для решения второй задачи когорта была разделена ещё на 3 группы в зависимости от носительства определённого генотипа FN1 rs6707530. Третью группу составили пациенты с носительством генотипа T\T (n=94), в четвертую группу вошли гетерозиготы (n=73), в пятую группу – носители генотипа G\G (n=17). Решение третьей задачи потребовало разделить когорту ещё на 2 группы в зависимости от носительства генотипа TNXB rs1150754. Шестую группу составили носители генотипа C\C (n=152), седьмую – гетерозиготы (n=31). Так как всего один пациент был носителем генотипа T\T, его мы описывали отдельно непосредственно для каждого сравнения.

Оценка эффективности, в зависимости от режима ХТ, проводилась на 2, 4 и 6 месяцы и основывалась на бактериологических и рентгенологических данных. Бактериологические данные подразумевали под собой люминесцентную микроскопию мазка мокроты и результат посева

биологического материала на ППС (из одного образца). Рентгенологическое исследование включало рентгенограмму ОГК (1 раз в 2 месяца, чаще по показаниям), томографию и МСКТ, либо их совокупность, динамика оценивалась одним врачом-рентгенологом, который не был осведомлен о ходе научного исследования.

Материалом для молекулярно-генетического исследования rs6707530 гена FN1 и rs1150754 гена TNXB являлись ДНК и супернатанты культуральных суспензий мононуклеарных лейкоцитов, выделенных из периферической крови, взятой утром натощак из локтевой вены в количестве 4 мл. Дезоксинуклеотидтрифосфаты и олигонуклеотидные праймеры были синтезированы в ИХБФМ СОРАН. Генотипирование полиморфных локусов FN1 rs6707530 и TNXB rs1150754 проводили методом Fluorescent melt curve analysis с использованием флюоресцентно-меченого олигонуклеотидного зонда с последующим плавлением амплификационных продуктов и анализа кривых плавления.

Качественные признаки в двух независимых группах сравнивали при помощи четырехпольных таблиц сопряженности с расчетом χ^2 Пирсона, при значении одного из сравниваемых показателей ≤ 10 с поправкой Йейтса, если случаев было ≤ 5 , использовали точный тест Фишера (ТТФ). Оценку возможной связи определенного фактора риска с исходом производили при помощи критерия отношения рисков (RR) с расчетом для него 95% доверительного интервала. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Чувствительность МБТ к противотуберкулезным препаратам была сохранена у 34,4% в 1-й группе и 36,3% во 2-й группе ($p=0,793$). Пациенты с МЛУ возбудителя встречались практически в половине случаев в каждой группе: 38 (40,9%) человек в 1-й и 43 (47,2%) человек во 2-й группах ($p=0,383$). ШЛУ МБТ регистрировалась у 13 (14%) больных 1-й и 6 (6,6%) больных 2-й группы ($p=0,161$). Полный спектр ЛУ чаще выявлялся при помощи посева в системе ВАСТЕС: у 54% пациентов 1-й группы и 48,3% пациентов 2-й группы ($p=0,532$).

Лечение по III режиму химиотерапии чаще назначалось во 2-й группе (9,9% против 1,1% в 1-й группе; $p=0,021$). Терапию по IV (включая стандартный и индивидуализированный) и V режимам ХТ получали 53 (57%) больных 1-й группы и 49 (53,8%) больных 2-й группы. Из представленных данных видно, что набор ПТП, состоящий из Cm/Km Cs Lfx/Mfx Pto Z PAS статистически значимо чаще назначался пациентам первой группы: 26,4% против 6,1% во второй группе ($p=0,014$). Напротив, во второй группе преобладали больные с набором Cm/Km Cs Lfx/Mfx Pto Z E: 40,8% против 18,9% больных первой группы ($p=0,016$).

Сравниваемые группы отличались крайне низкой долей развития НПР (2,2% пациентов в 1-й группе и 7,7% пациентов второй группы). У 1 (1,1%) пациента 1-й группы имело место развитие нежелательного эффекта с вовлечением желудочно-кишечного тракта, отмена ПТП составила 4 последовательных дня. Ещё у 1 (1,1%) больного развился токсический гепатит, повлекший отмену ПТП на 16 дней. Во второй группе средняя продолжительность пропущенных доз ввиду развития НПР составила $10,85 \pm 1,69$ дней. Что касается вида НПР, в когорте были отмечены лишь гастроинтестинальные, гепатотоксические, нейротоксические и аллергические нежелательные реакции. Нейротоксические и аллергические НПР встречались лишь во второй группе в 2,2% и 3,3% случаев соответственно.

Распространенный ТБ процесс по данным рентгенографии на момент поступления в стационар чаще регистрировался у пациентов 1-й группы (72% случаев), чем во 2-й группе (51,7% случаев) ($p=0,005$).

Если оценивать деструкцию легочной ткани на момент поступления больного в стационар (Таблица 1), то здесь мы видим более выраженные различия. Полость распада обнаруживалась у 82 (88,2%) человек 1-й группы и 39 (42,8%) человек 2-й группы ($p<0,001$). Более двух полостей распада также чаще выявляли среди лиц 1-й группы: 75,6% случаев против 38,5% случаев во 2-й группе ($p<0,001$).

Таблица 1 – Характеристика распада легочной ткани на момент поступления в группах с различной эффективностью химиотерапии, абс. (%)

Наличие распада	1-я группа, n=93 (100%)	2-я группа, n=91 (100%)	χ^2	p
Есть	82 (88,2)	39 (42,8)	41,947	<0,001
Нет	11 (11,8)	52 (57,2)		
Количество полостей				
1-2 полости	20 (24,4)	24 (61,5)	15,761	<0,001
Более 2-х полостей	62 (75,6)	15 (38,5)		
Размер полостей				
До 2см включительно	43 (52,4)	22 (56,4)	0,168	0,683
Более 2см	39 (47,6)	17 (43,6)		
Примечание: χ^2 – стандартный критерий Пирсона.				

Бактериовыделение методом микроскопии мазка мокроты на момент поступления (Таблица 2) в стационар доминировало у больных первой группы: 69,9% против 37,4% больных второй группы ($p < 0,001$). Статистических различий, несмотря на различия в деструктивном процессе, по массивности бактериовыделения в группах с различной эффективностью ХТ мы не получили. Прекращение бактериовыделения по данным микроскопии раньше наступало у пациентов второй группы: 8 (22,2%) против 3 (4,6%) в первой группе ($p = 0,017$). В течение 12 месяцев бактериовыделение по данным микроскопии мазка мокроты сохранялось только у 19 (29,2%) пациентов первой группы, у всех пациентов второй группы бактериовыделение указанным методом прекратилось в течение 12 месяцев ($p < 0,001$).

Таблица 2 – Распределение пациентов в сравниваемых группах в зависимости от бактериовыделения и его массивности методом микроскопии на момент поступления в стационар, абс. (%)

Бактериовыделение в момент поступления	1-я группа, n=93 (100%)	2-я группа, n=91 (100%)	χ^2	p
Есть	65 (69,9)	34 (37,4)	19,582	<0,001
Нет	28 (30,1)	57 (62,6)		
Массивность бактериовыделения				
10-99 КУМ в 100 п\з (+)	16 (24,6)	10 (29,4)	0,265	0,607*
1-10 КУМ в 1 п\з (++)	16 (24,6)	9 (26,5)	0,002	0,841*
более 10 КУМ в 1 п\з (+++)	33 (50,8)	15 (44,1)	0,395	0,53
Примечание: χ^2 – стандартный критерий Пирсона; * - χ^2 Пирсона с Йейтса.				

Данные посева бактериологического материала на ППС в сравниваемых группах представлены в таблице 3. Статистически значимым оказалось и различие в отсутствии роста МБТ на ППС на момент поступления, что отмечалось у 3 (3,3%) пациентов первой группы и 20 (22%) пациентов второй группы ($p < 0,001$). При этом быстрорастущие штаммы МБТ (со скоростью роста на ППС менее 30 дней) выявляли у 27 (30%) лиц 1-й группы и 32 (45,1%) лиц 2-й группы ($p = 0,049$). Скучный рост МБТ на ППС (1-20 КОЕ) выявляли у 15 (16,7%) больных в 1-й группе и 26 (36,6%) больных 2-й группы ($p = 0,004$). Напротив, обильный рост МБТ на ППС чаще выявляли в 1-й группе, нежели во 2-й: 67,8% против 40,9% в группах соответственно ($p < 0,001$). Штаммы МБТ с быстрым и обильным ростом на ППС на момент начала лечения регистрировали у 18,9% больных в первой группе и 29,6% больных второй группы ($p = 0,113$). Более ранние сроки прекращения бактериовыделения по данным посева мокроты на ППС наблюдали среди пациентов второй группы. На второй месяц лечения рост МБТ на ППС прекратился у 4,4% лиц первой группы и 26,7% лиц второй группы ($p < 0,001$). На 3-й месяц ХТ рост МБТ на ППС не наблюдали у 13,3% пациентов 1-й группы и 28,2% пациентов 2-й группы ($p = 0,02$). В течение 12 месяцев рост культуры МБТ сохранялся только среди больных первой группы и обнаруживался у 47,8% ($p < 0,001$).

Таблица 3 – Распределение пациентов в группах в зависимости от скорости и интенсивности роста МБТ на ППС, абс. (%)

Скорость роста на ППС	1-я группа, n=93 (100%)	2-я группа, n=91 (100%)	χ^2	p
до 30 дней	27 (30)	32 (45,1)	3,883	0,049
от 31 до 60 дней	49 (54,4)	28 (39,4)	3,583	0,059
более 60 дней	14 (15,6)	11 (15,5)	0,043	0,992
Интенсивность роста на ППС				
1-20 КОЕ (+)	15 (16,7)	26 (36,6)	8,325	0,004
21-100 КОЕ (++)	14 (15,5)	16 (22,5)	1,351	0,246
более 100 КОЕ (+++)	61 (67,8)	29 (40,9)	11,687	<0,001
Скорость роста менее 30 дней, массивность роста более 100 КОЕ (+++)	17 (18,9)	21 (29,6)	2,515	0,113
Посевы роста не дали	3 (3,3)	20 (22)	0,000097	<0,001*
Примечание: χ^2 – стандартный критерий Пирсона; * - точный тест Фишера.				

Генотипирование биологического материала пациентов в локусе rs6707530 FN1 представлены в таблице 4. Лица носители генотипа T\T преобладали среди больных первой группы: 62 (66,7%) против 32 (35,2%) больных во второй группе ($p < 0,001$; [RR=1,915; 95% ДИ 1,391; 2,637]). Носителей генотипа T\G было 28 (30,1%) в 1-й группе и 45 (49,4%) во 2-й группе ($p = 0,008$; [RR=0,655; 95% ДИ 0,471; 0,911]). Генотип G\G встречался у 3 (3,2%) пациентов первой группы и 14 (15,4%) пациентов второй группы ($p = 0,01$; [RR=0,327; 95% ДИ 0,116; 0,923]).

Таблица 4 – Распределение генотипов и аллелей полиморфизма rs6707530 гена FN1 в группах с различной эффективностью химиотерапии, абс. (%)

Генотип\ аллель	1-я группа, n=93 (100%)	2-я группа, n=91 (100%)	χ^2	RR (95% CI)
Генотип T\T	62 (66,7)	32 (35,2)	18,266 $p < 0,001$	1,915 (1,391 – 2,637)
Генотип T\G	28 (30,1)	45 (49,4)	7,19 $p = 0,008$	0,655 (0,471 – 0,911)
Генотип G\G	3 (3,2)	14 (15,4)	0,005 $p = 0,01^*$	0,327 (0,116 – 0,923)
Аллель G	34 (18,3)	73 (40,1)	21,258 $p < 0,001$	0,546 (0,406 – 0,734)
Аллель T	152 (81,7)	109 (59,9)		1,833 (1,363 – 2,464)
Примечание: χ^2 – стандартный критерий Пирсона; * - точный тест Фишера; RR – критерий отношения риска.				

Статистически значимых различий в носительстве аллельных вариантов локуса rs1150754 TNXB в группах с различной эффективностью химиотерапии мы не выявили.

Анализ рентгенологической картины в группах с носительством различных генотипов полиморфизма rs6707530 FN1 на момент поступления в стационар показал статистически значимые различия в размерах полостей распада (Таблица 5). Распад более 2см обнаруживался у 43 (68,3%) пациентов носителей генотипа T\T (третья группа), 5 (10,2%) носителей генотипа T\G (четвертая группа) и 1 (11,1%) пациента носителя генотипа G\G (пятая группа)

(р3-я гр\4-я гр <0,001; р4-я гр\5-я гр=0,936; р3-я гр\5-я гр=0,004). Рентгенологическая динамика на 2- месяц контроля показала достоверные различия в закрытии полостей распада. Так 2 (22,2%) пациента пятой группы, 3 (6,1%) четвертой группы справились с деструкцией на второй месяц, при этом в третьей группе таковых не оказалось (р3-я гр\4-я гр =0,955; р4-я гр\5-я гр=0,35; р3-я гр\5-я гр=0,007). Рентгенологический контроль на 4 месяц ХТ показал преобладание у пациентов 4-й группы положительной динамики в сравнении с 3-ей группой (47 (64,4%) против 44 (47,3%) соответственно, р3-я гр\4-я гр=0,029). Также у 43 (46,2%) лиц 3-ей группы отсутствовала рентгенологическая динамика, в то время как в 4-й группе динамика не наблюдалась только у 22 (30,1%) больных (р3-я гр\4-я гр=0,035). Распад легочной ткани на фоне лечения не претерпел изменений у 44 (68,8%) пациентов 3-ей группы, 20 (43,5%) пациентов 4-й группы (р3-я гр\4-я гр=0,009) и 4 (50%) 5-й группы (р3-я гр\5-я гр=0,508), при этом полость распада закрыли 6 (13%) больных 4-й группы и 1 (12,5%) 5-й группы (р4-я гр\5-я гр=0,967), но в 3-ей группе ни один на 4 месяц ХТ с деструкцией не справился (р3-я гр\4-я гр=0,011; р3-я гр\5-я гр=0,213). Тенденции рентгенологической динамики с 4 месяца ХТ перешли на 6 месяц. Положительная динамика в 4-й группе, преобладала над 3-ей группой (60,3% против 43% соответственно, р3-я гр\4-я гр=0,028), напротив, отсутствие динамики было прерогативой больных 3-ей группы (49,5%), среди лиц 4-й группы динамика не была обнаружена в 34,2% случаев (р3-я гр\4-я гр=0,05), у пациентов 5-й группы в 35,3% случаев (р4-я гр\5-я гр=0,935; р3-я гр\5-я гр=0,417).

Таблица 5 – Характеристика распада легочной ткани на момент поступления в зависимости от генотипа FN1 rs6707530, абс. (%)

Наличие распада	3-я группа, n=94 (100%)	4-я группа, n=73 (100%)	5-я группа, n=17 (100%)
Есть	63 (67)	49 (67,1)	9 (52,9)
Нет	31 (33)	24 (32,9)	8 (47,1)
	p3-я гр\4-я гр=0,989	p4-я гр\5-я гр=0,413*	p3-я гр\5-я гр=0,4*
Количество полостей			
1-2 полости	23 (36,5)	16 (32,6)	5 (55,6)
Более 2-х полостей	40 (63,5)	33 (67,4)	4 (44,4)
	p3-я гр\4-я гр=0,823	p4-я гр\5-я гр=0,349**	p3-я гр\5-я гр=0,465**
Величина полостей			
До 2см включительно	20 (31,7)	44 (89,8)	8 (88,9)
Более 2см	43 (68,3)	5 (10,2)	1 (11,1)
	p3-я гр\4-я гр <0,001**	p4-я гр\5-я гр=0,936**	p3-я гр\5-я гр=0,004**
Примечание: p – уровень статистической значимости при расчете стандартного критерия Пирсона; * – уровень статистической значимости при расчете стандартного критерия Пирсона с поправкой Йейтса; ** – уровень статистической значимости для точного теста Фишера.			

Оценка микроскопии мазка мокроты на момент поступления в стационар в группах с носительством различных генотипов полиморфизма rs1150754 TNXB статистически значимых различий не показала ни по наличию бактериовыделения, ни по массивности.

В отличие от данных микроскопии, различия в скорости и массивности роста МБТ на ППС на момент поступления пациента в стационар в зависимости от генотипа rs6707530 гена FN1 имели статистическую значимость. Так быстрорастущие штаммы МБТ обнаруживались в 48,4% случаев в 4-й группе в сравнении с 26,2% 3-ей группы (p3-я гр\4-я гр=0,006), а штаммы со скоростью роста от 31 до 60 дней выявлялись у 57,1% 3-ей группы и 38,7% 4-й группы (p3-я гр\4-я гр=0,028). Кроме того, имелись различия и в интенсивности роста: 30,9% лиц 3-ей группы имели скудный рост МБТ на ППС, в то время как среди пациентов 4-й группы таких было только 14,5% (p3-я гр\4-я гр=0,036). В отличие от групп сравнения, выявление быстрорастущих

штаммов с обильным ростом на ППС среди носителей различных генотипов rs6707530 гена FN1 показали значимые различия. Рост таких штаммов МБТ выявлялся у 15,5% больных 3-ей группы, 38,7% 4-й группы и 26,7% 5-й группы ($p_{3\text{-я гр}\backslash 4\text{-я гр}}=0,002$; $p_{4\text{-я гр}\backslash 5\text{-я гр}}=0,569$; $p_{3\text{-я гр}\backslash 5\text{-я гр}}=0,493$).

По данным микроскопии мазка мокроты, достоверным оказалось различие лишь на 5-й месяц ХТ, так 4,2% больных 3-ей группы, 2,2% больных 4-й группы и 33,4% больных 5-й группы ($p_{3\text{-я гр}\backslash 4\text{-я гр}}=0,97$; $p_{4\text{-я гр}\backslash 5\text{-я гр}}=0,011$; $p_{3\text{-я гр}\backslash 5\text{-я гр}}=0,031$). Стоит отметить, что у всех пациентов носителей генотипа G\G (5-я группа) достигнута негативация мазка мокроты в течение года. Если рассматривать сроки прекращения бактериовыделения по данным посева мокроты на ППС в зависимости от генотипа rs6707530 гена FN1, то здесь мы видим значимые различия лишь среди не абациллированных в течение 12 месяцев пациентов. Так у 35,7% больных 3-ей группы, у 19,4% 4-й группы и у 6,7% 5-й группы сохранялся рост МБТ на ППС не смотря на проводимую ХТ.

Анализ локализации и распространенности ТБ процесса, а также характеристики распада у больных на момент поступления в зависимости от генотипа rs1150754 TNXB статистически значимых различий не показал. Обращает на себя внимание преобладание в 6-й группе лиц с двусторонним (53,3%) и распространенным (63,8%) процессом в сравнении с 7-й группой (53,3% с двусторонним и 54,8% с распространенным; $p=0,25$ и $p=0,348$ соответственно). Пациент с носительством генотипа T\T на момент поступления имел ограниченный правосторонний процесс. Наряду со склонностью к более обширному процессу, у пациентов 6-й группы имелась склонность и к наличию деструкции с большим количеством и размером полостей в сравнении с пациентами 7-й группы. Так полости были обнаружены в 66,5% случаев в 6-й группе и у 61,3% в 7-й группе ($p=0,582$), более двух полостей выявлено у 64,4% пациентов 6-й группы и 57,9% 7-й группы ($p=0,782$), распад более 2см имел место у 10,9% больных 6-й группы и 5,3% 7-й группы ($p=0,739$).

Рентгенологический контроль на 2 месяц лечения показал преобладание у лиц 7-й группы положительной рентгенологической динамики (67,8% против

52,6% лиц 6-й группы; $p=0,124$), но также среди этих пациентов чаще имела место отрицательная динамика (16,1% против 13,2% в 6-й группе; $p=0,88$). Уменьшение распада легочной ткани также чаще было в 7-й группе и составило 47,4%, среди больных 6-й группы – 35,6% ($p=0,478$). У пациента с генотипом T\T рентгенологической динамики в целом и распада в частности на 2 месяц ХТ не определялось. В отличие от 2 месяца, 4 месяц лечения показал обратные результаты относительно положительной динамики (56,3% в 6-й группе и 51,6% в 7-й группе; $p=0,634$), однако, различия в динамике распада легочной ткани сохранили тенденции, но при этом стали иметь статистически значимые различия. Так у 63,1% пациентов 7-й группы распад к 4 месяцу ХТ уменьшился в сравнении с 28,6% пациентов 6-й группы ($p=0,004$), напротив, отсутствие каких-либо изменений в деструкции было у 61,2% лиц 6-й группы и 31,6% 7-й группы ($p=0,033$). Закрытие полости распада было отмечено лишь среди пациентов 6-й группы в 7,2% случаев ($p=0,501$). На 6 месяц рентгенологического контроля ХТ общая динамика различий практически не имела, чего не сказать о динамике распада. Так на 6 месяц мы снова видим стабильное преобладание уменьшения деструкции у больных 7-й группы (21%) в сравнении с 6-й группой (11%; $p=0,413$). Также на протяжении всего контроля лица 6-й группы преобладали среди тех, полость распада у которых увеличивалась. Не исключением был и 6 месяц: не смотря на проводимую терапию, 8,8% лиц 6-й группы увеличили деструкцию, среди больных 7-й группы таких случаев не наблюдалось ($p<0,001$). Но если посмотреть на лиц, у которых появился распад, то здесь мы видим 6,5% пациентов 7-й группы и только 0,7% 6-й группы ($p=0,126$).

Наличие и массивность бактериовыделения по данным микроскопии, наличие, скорость и интенсивность роста культуры МБТ на ППС у лиц с носительством различных генотипов полиморфизма rs1150754 TNXB на момент поступления достоверных различий не показали, как и сроки прекращения бактериовыделения указанными методами.

ВЫВОДЫ

1. Наличие бактериовыделения методом микроскопии ($p < 0,001$) и обильный рост на плотных питательных средах ($p < 0,001$) обусловлены обширным поражением, наличием распада в лёгких, количеством полостей свыше двух и являются прогностически неблагоприятным признаком при впервые выявленном туберкулезе легких на инициальном этапе. Быстрорастущие штаммы МБТ статистически значимо чаще выявлялись у больных с эффективным курсом химиотерапии туберкулеза ($p = 0,049$), а более ранняя негитивация мокроты и абациллирование таких пациентов, скорее всего, обусловлены особенностью репаративных процессов легочной ткани.

2. Генотип T\T и аллель T rs6707530 гена FN1 доминировали у впервые выявленных больных туберкулезом с неэффективным курсом химиотерапии (66,7% в 1-й группе, против 35,2% во второй; $p < 0,001$), генотипы T\G (30,1% в первой, 49,4% во второй группе; $p = 0,008$) и G\G (3,2% в первой, 15,4% во второй группе; $p = 0,01$), а также аллель G (18,3% в первой, 40,1% во второй группе; $p < 0,001$), напротив, чаще встречались у эффективно леченых пациентов. Генотипы C\T и T\T, а также аллель T rs1150754 гена TNXB чаще встречались в первой группе и, напротив, генотип C\C и аллель C – во второй, но статистически значимыми данные различия не оказались.

3. Анализ рентгенологической динамики полиморфизма rs6707530 гена FN1 показал статистические различия в закрытии полостей распада у впервые выявленных больных. Так к 6 месяцу химиотерапии лица с генотипами T\G (30%; $p < 0,001$) и G\G (57,1%; $p < 0,001$) имели высокую долю, справившихся с деструктивным процессом, в сравнении с носителями генотипа T\T (6,3%). Гетерозиготы rs6707530 гена FN1 чаще гомозигот по тимину выделяли быстрорастущие штаммы МБТ (48,4% против 26,2% в группах соответственно; $p_{TT\TG} = 0,006$), гомозиготы по тимину чаще гетерозигот выделяли штаммы со средней скоростью роста МБТ на ППС ($p_{TT\TG} = 0,028$). У носителей генотипа T\T в сравнении с гетерозиготами чаще обнаруживали скудный рост (1-20 КОЕ (+)) ($p_{TT\TG} = 0,036$). Штаммы МБТ с быстрым и обильным ростом на ППС чаще выделяли носители T\G, чем гомозиготы по тимину (38,7% и 10,6% в группах соответственно; $p_{TT\TG} = 0,002$).

4. Носительство генотипа С\Т полиморфизма rs1150754 гена TNXB ассоциировано с уменьшением полостей деструкции на 4 месяц химиотерапии, генотип С\С – с увеличением полостей на 6 месяц. Рентгенологическая динамика, сроки прекращения бактериовыделения и исход химиотерапии с носительством определённого генотипа или аллели полиморфизма rs1150754 TNXB не связаны.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для выявления лиц с повышенным риском неэффективного завершения интенсивной фазы химиотерапии необходимо учитывать совокупность таких факторов как распространенность процесса, наличие распада легочной ткани, количество полостей более двух по данным лучевых методов исследования, наличие бактериовыделения по данным микроскопии, быстрорастущие штаммы и обильный рост МБТ на ППС.

2. При генотипировании полиморфизма rs6707530 FN1 считать заведомо неблагоприятным исход химиотерапии у носителей генотипа Т\Т. Данной категории лиц рекомендована более тщательная оценка рентгенологической динамики (1 раз в месяц во время интенсивной фазы ХТ) и обязательный МСКТ контроль (не менее 2 раз за время интенсивной фазы ХТ).

3. Носителям генотипа Т\Т полиморфизма rs6707530 FN1 для ускорения репаративного процесса в легких рекомендовано сопровождать основной курс химиотерапии усиленной патогенетической терапией с включением препаратов с доказанным репаративным эффектом, а также консультация фтизиохирурга в первый месяц лечения для решения вопроса раннего оперативного вмешательства.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Самсонов, К. Ю. Клинический случай сочетанного туберкулеза гортани и легких / К Ю. Самсонов, Д. Р. Юнусова, А. Р. Ароян // Сборник статей межрегиональной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 40-летию Омского фониатрического центра. Редакторы: Ю.А. Кротов, К.И. Нестерова. – 2016. – С. 180-183.

2. Самсонов, К. Ю. Клинический случай первичного туберкулеза на фоне приема генно-инженерных препаратов / К Ю. Самсонов, А. Р. Ароян // Смоленский медицинский альманах. – 2016. – №4. – С. 86-90.
3. Влияние полиморфизма гена фибронектина на эффективность лечения впервые выявленного туберкулеза / К. Ю. Самсонов [и др.] // Медицинский Альянс . – 2019. – №3. – С. 21-27.
4. Самсонов, К. Ю. Исход химиотерапии впервые выявленного туберкулеза легких при мутациях в генах FN1 и TNXB / К. Ю. Самсонов // Вестник Центрального научно-исследовательского института туберкулеза. – 2020. – № S1. – С. 114-115.
5. Бактериологические показатели в оценке эффективности терапии впервые выявленного туберкулеза легких / К. Ю. Самсонов [и др.] // Наука и инновации в медицине. – 2020. – Т. 5, № 2. – С. 140-144.
6. Репарация легочной ткани при впервые выявленном туберкулезе как генетически детерминированный процесс / К. Ю. Самсонов [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2020. – Т. 10. – № 4. – С. 775-781.
7. Samsonov, K. Yu. Chemotherapy outcome of pulmonary tuberculosis with mutations in the FN1 and TNXB genes / K. Yu. Samsonov, A. Mordyk // European Respiratory Journal. – 2020. – Vol. 56, № 64. – P. 4592.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВИЧ	вирус иммунодефицита человека
ВКМ	внеклеточный матрикс
МБТ	микобактерии туберкулеза
МЛУ	множественная лекарственная устойчивость
НПР	нежелательная побочная реакция
ППС	плотные питательные среды
ПТП	противотуберкулёзные препараты
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ТБ	туберкулёз
ХОБЛ	хроническая обструктивная болезнь лёгких
ХТ	химиотерапия

ШЛУ	широкая лекарственная устойчивость
Am	амикацин
Bq	бедаквилин
Cm	капреомицин
Cs	цикloserин
E	этамбутол
Eto	этионамид
Fn	фибронектин
FN1	ген, кодирующий тканевой фибронектин
H	изониазид
IL	интерлейкины
Km	канамицин
Lfx	левофлоксацин
Lzd	линезолид
PAS	пара-аминосалициловая кислота
R	рифампицин
Tn	тенасцины
TNXB	ген, кодирующий тенасцин X
Z	пиразинамид