

активным туберкулезом легких в Саратовской области и сравнить частоту встречаемости данного вида мутаций у больных туберкулезом с МЛУ возбудителя и пациентов с изолированной устойчивостью к INH.

Материалы и методы. Обследовано 402 больных активным туберкулезом легких, находившихся на стационарном лечении в Саратовском областном клиническом противотуберкулезном диспансере в 2006-2013 гг. Из них мужчин – 274 (68,2%), женщин – 128 (31,9%) человек. Клинические формы туберкулеза были представлены преимущественно инфильтративным – 361 (89,8%) и диссеминированным туберкулезом легких – 47 (11,7%) человек, другие формы туберкулеза (кавернозный, фиброзно-кавернозный, туберкулемы) встречались в единичных случаях. Среди обследованных пациентов впервые выявленный туберкулез был установлен у 375 (93,3%), рецидив – у 19 (4,7%), хронические формы туберкулеза – у 8 (2%) человек. Деструктивные изменения в легких установлены у 290 (72,1%), бактериовыделение – у 259 (64,4%) человек.

Выделение ДНК *M. tuberculosis* и определение спектра генетических мутаций, кодирующих ЛУ *M. tuberculosis*, в мокроте проводили на биологических микрочипах с применением набора реагентов «ТВ-Биочип МДР», Россия. Результаты реакции учитывали на аппаратно-программном комплексе «Чипдетектор-01». Технология проведения исследований, набор реагентов и оборудования разработаны сотрудниками института молекулярной биологии (ООО «БИОЧИП-ИМБ», г. Москва).

Результаты. ДНК *M. tuberculosis* обнаружена у 281 (69,9%) пациента, из них МЛУ – у 105 (37,4%), изолированная устойчивость к INH – у 45 (16%). Мутации в гене *inhA* выявлены у 72 (25,6%) человек, из них у 38 (52,8%) зарегистрировано сочетание мутаций в генах *katG* и *inhA*. Обнаружено

16 различных сочетаний мутаций в гене *katG* и *inhA*. Наиболее часто встречались мутации в следующих комбинациях (Ser315 -> Thr1 + *inhA*_T15 – у 16 (42,1%) и Ser315 -> Thr1 + *inhA*_A8 – у 4 (10,8%) человек, другие комбинации встречались в единичных случаях. Сочетание мутации в генах *katG* и *inhA* является неблагоприятным фактором, так как, по данным литературы, потеря активности каталазы и мутации в гене *inhA* приводит к усилению резистентности *M. tuberculosis* к INH в результате кумулятивного эффекта.

Среди штаммов *M. tuberculosis*, имеющих мутации в гене *inhA*, выявлено 6 разновидностей. Наиболее часто встречались мутации: *inhA*_T15 – у 44 (61,1%) пациентов, реже *inhA*_G16 – у 7 (9,7%), *inhA*_A8 – у 5 (6,9%) человек. Другие виды мутаций (*inhA*_G8, *inhA*_T8, *inhA*_T24) были зарегистрированы в единичных случаях. У 11 (15,3%) человек наблюдалось сочетание нескольких разных видов мутаций внутри гена *inhA*: *inhA*_G16 + *inhA*_G8 – у 4, *inhA*_G16 + *inhA*_A8 – у 3, *inhA*_G16 + *inhA*_T15 – у 1, *inhA*_G16 + *inhA*_T24 – у 2, *inhA*_G16 + *inhA*_T15 – у 1 человека.

Установлено достоверное преобладание мутации в гене *inhA* у 20 (61%) больных туберкулезом с МЛУ возбудителя, из них у 15 (75,5%) – в сочетании с мутацией в гене *katG*, по сравнению с пациентами с изолированной устойчивостью к *M. tuberculosis* INH – 5 (16,1%), $p = 0,0005$.

Заключение. На территории Саратовской области мутации в гене *inhA*, кодирующие устойчивость к INH, регистрируются в 25,6% случаев. Данный вид мутаций изолированно или в сочетании с мутациями в гене *katG* наиболее часто встречается у больных туберкулезом с МЛУ возбудителя. Полученные данные необходимо учитывать при оценке эпидемической ситуации и при разработке или использовании диагностических наборов для молекулярно-генетических исследований на данной территории.

ЗАВИСИМОСТЬ ЭКСПРЕССИИ FAS (CD95) АНТИГЕНА ОТ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ТУБЕРКУЛЕЗНОГО ПРОЦЕССА

САЛИНА Т. Ю., МОРОЗОВА Т. И.

DEPENDENCE OF FAS (CD95) ANTIGENE EXPRESSION FROM SEVERITY OF TUBERCULOSIS PROCESS

SALINA T. YU., MOROZOVA T. I.

ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского» МЗ РФ, г. Саратов

V. I. Razumovsky Saratov State Medical University, Saratov, RF

Туберкулез относится к хроническим инфекционным заболеваниям, протекающим на фоне измененного иммунобиологического состояния организма. От способности многоклеточного ор-

ганизма адекватно реагировать на внедрение инфекции, в том числе *Mycobacterium tuberculosis*, зависят тяжесть течения заболевания и его исход. Важным механизмом в регуляции патологическо-

го процесса в организме является апоптоз. Путем апоптоза регулируется ответ иммунных клеток на антигены, сила и длительность иммунного ответа. Повышенная готовность клеток к апоптозу сопровождается экспрессией мембранного гликолизированного белка APO-1/FAS (Fas-рецептора), взаимодействие которого со специфическим лигандом (FasL) инициирует процесс апоптотической гибели клетки.

Представляется актуальной оценка числа клеток, экспрессирующих Fas (CD95) антиген у больных с разной тяжестью течения туберкулезного процесса, так как это может выявить дополнительные причины тяжелого течения туберкулеза с неблагоприятным прогнозом, и позволит повысить эффективность лечения таких больных за счет целенаправленного применения патогенетических средств.

Цель: изучить особенности экспрессии Fas (CD95) на иммунокомпетентных клетках периферической крови больных с тяжелыми, распространенными формами туберкулеза по сравнению с пациентами с ограниченными и благоприятно протекающими формами туберкулеза.

Материалы и методы. Обследовано 54 пациента (мужчин – 24, женщин – 30) с впервые выявленным активным туберкулезом легких в возрасте от 17 до 62 лет. Клинические формы туберкулеза были представлены преимущественно инфильтративным туберкулезом легких у 35 (64,8%) человек. Из них фаза распада была выявлена у 21 (38,9%), бактериовыделение (МБТ+) – у 26 (48,1%) больных. Все пациенты проходили курс лечения в Саратовском областном клиническом противотуберкулезном диспансере. Группу контроля составили 22 здоровых лица. В зависимости от тяжести течения туберкулеза больные были распределены на 2 группы. Группу 1 составили 18 больных с тяжелыми, деструктивными формами туберкулеза, включая остро прогрессирующее течение (казеозная пневмония, генерализованный туберкулез, туберкулезный менингит) у 9 (50%) человек. У 10 (55,6%) пациентов наблюдались осложнения туберкулезного процесса в виде кахексии, легочно-сердечной и дыхательной

недостаточности, спонтанного пневмоторакса, экссудативного плеврита, геморрагического синдрома. В группу 2 были включены 36 больных с ограниченными и благоприятно протекающими формами туберкулеза (инфильтративный без распада и выраженного интоксикационного синдрома, мелкие туберкулемы).

У всех пациентов исходно (до начала антибактериальной терапии) проводили оценку относительного количества CD95-клеток в периферической крови. CD95-клетки определяли методом иммунофенотипирования лимфоцитов, основанном на выявлении мембранных маркеров иммунокомпетентных клеток с помощью моноклональных антител (анти CD95). Иммунокомпетентные клетки выделяли из периферической венозной крови методом градиентного центрифугирования (на градиенте-плотности фиколл-урографин; $p = 1,076$, при 200 g).

Для статистической обработки данных использовали пакет прикладных программ Statistica 6 для Windows[®].

Результаты. Установлено, что у всех пациентов с активным туберкулезом легких в острую фазу болезни (до начала антибактериальной терапии) наблюдается достоверное увеличение в периферической крови числа клеток, экспрессирующих маркер CD95 (среднее значение – $40,3 \pm 13,0\%$, медиана – 39, мода – 50, интервал – 15,4-71,6), что почти в 2 раза выше по сравнению со здоровыми (М – $23,0 \pm 12,0\%$, медиана – 23,5, мода – 32, интервал 12,7-32,2), $p = 0,0008$.

Наиболее высокий уровень CD95 был выявлен у пациентов группы 1 с тяжелыми, деструктивными и осложненными формами туберкулеза по сравнению с пациентами группы 2 с ограниченным и благоприятно протекающим туберкулезом и здоровыми. Данные представлены в таблице.

Выводы.

1. У больных туберкулезом легких исходно наблюдается повышенный уровень CD95-клеток в периферической крови по сравнению со здоровыми, что отражает повышенную готовность к апоптозу.

Таблица

Количество клеток, экспрессирующих маркер CD95 в периферической крови больных активным туберкулезом легких в зависимости от тяжести заболевания

Группы обследованных		Среднее значение ($M \pm \delta$)%	Медиана	Диапазон колебаний (min-max)
1	Группа 1 ($n = 18$)	$46,1 \pm 15,0$	45	20-71,6
2	Группа 2 ($n = 36$)	$37,4 \pm 11,0$	38,6	15,4-57,7
3	Группа контроля ($n = 22$)	$23,0 \pm 12,0$ $p_{1,2} = 0,0386$ $p_{1,3} = 0,0003$ $p_{2,3} = 0,0002$	23,5	12,7-32,2

Примечание: М – среднее арифметическое, δ – стандартное отклонение

2. Уровень экспрессии активационного маркера CD95 зависит от тяжести течения туберкулеза и наиболее выражен у пациентов с тяжелыми, распространенными и осложненными формами туберкулеза легких. Полученные результаты

открывают перспективы целенаправленного использования иммуномодулирующих препаратов в качестве патогенетической терапии у пациентов в тяжелом состоянии с неблагоприятным течением заболевания.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВЫХ ШТАММОВ *M. TUBERCULOSIS*, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ СРЕДИ ГОРОДСКОГО НАСЕЛЕНИЯ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

САЛИНА Т. Ю., МОРОЗОВА Т. И., ДАНИЛОВ А. Н.

MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS OF DRUG RESISTANT STRAINS OF *M. TUBERCULOSIS*, CIRCULATING AMONG URBAN POPULATION OF SARATOV REGION

SALINA T. YU., MOROZOVA T. I., DANILOV A. N.

ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского» МЗ РФ, г. Саратов

V. I. Razumovsky Saratov State Medical University, Saratov, RF

Туберкулез легких – одна из острых медицинских и социально-экономических проблем как в России, так и во всем мире. В последние годы на территории Саратовской области отмечается тенденция к снижению основных эпидемиологических показателей по туберкулезу. Однако заболеваемость городского населения в Саратовской области выше, чем сельского. Эпидемическая ситуация осложняется сохранением высокого уровня первичной лекарственной устойчивости (ЛУ) микобактерий туберкулеза (МБТ) к основным антибактериальным препаратам, включая множественную лекарственную устойчивость (МЛУ).

Цель: провести анализ региональных особенностей распространения лекарственно-устойчивых штаммов *M. tuberculosis* у больных активным туберкулезом легких, постоянно проживающих в городах Саратовской области, на основе использования молекулярно-генетического метода биологических микрочипов.

Материалы и методы. Обследовано 133 больных активным туберкулезом легких, постоянных жителей 7 наиболее крупных городов Саратовской области (Саратов, Маркс, Пугачев, Аткарск, Красноармейск, Новоузенск, Петровск). Впервые выявленные больные составили 121 (91%), рецидивы – 12 (9%) человек. Из них мужчин было 83 (62,4%), женщин – 50 (37,6%) человек в возрасте от 18 до 70 лет. Клинические формы туберкулеза представлены преимущественно инфильтративным – 98 (73,7%) и диссеминированным туберкулезом легких – 17 (12,8%) человек. Другие формы туберкулеза наблюдались в единичных случаях. Среди обследован-

ных пациентов деструктивные изменения в легких выявлены у 80 (60,2%), бактериовыделение – у 72 (54,1%) человек. У всех пациентов, наряду с традиционными методами микробиологической диагностики туберкулеза, выявление МБТ, определение их ЛУ к изониазиду (INH) и рифампицину (Rif), а также изучение спектра генетических мутаций ДНК *M. tuberculosis* проводили в образцах мокроты методом биологических микрочипов с использованием набора реагентов «ТВ-биочип MDR». Технология проведения исследований, набор реагентов и оборудования разработаны сотрудниками института молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН (ООО «Биочип-ИМБ»), г. Москва. Результаты реакции регистрировали на портативном анализаторе биочипов «Чипдетектор-01» с соответствующим программным обеспечением Imageware®, Россия.

Результаты. В ходе исследований ДНК *M. tuberculosis* в количестве, достаточном для определения ЛУ, выделена из мокроты у 101 (75,9%) пациента. Из них мутации в генах *katG*, *inhA*, *ahpC*, кодирующие ЛУ к INH, обнаружены у 61 (60,4%), включая МЛУ у 39 (38,6%) и изолированную устойчивость к INH у 22 (21,8%) человек. Наиболее часто встречались мутации в гене *katG* – у 55 (90,2%), преимущественно Ser315-Thr1 – у 35 (63,6%) и Ser315-Arg1 – у 9 (16,4%) человек. Мутации в гене *katG* ser315->Thr1 являются неблагоприятными, так как, по данным литературы, сопряжены с высоким уровнем ЛУ к INH, а также обладают наибольшим потенциалом широкого распространения в качестве изолятов МЛУ. Мутации в гене *inhA* зарегистрированы у 30 (49,2%) из 61 INH-устойчивого образца,