

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СКОРОСТИ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ У ПАЦИЕНТОВ С ИНФИЛЬТРАТИВНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ



Д.С. Эсмедляева¹, Н.П. Алексеева², М.Е. Дьякова¹

¹ ФГБУ Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Эффективность химиотерапии при инфильтративном туберкулезе легких (ИТЛ) определяется своевременностью и адекватностью лечения, а скорость репаративных изменений легочной паренхимы связана с эффективностью терапии. Различные классы протеиназ участвуют в ремоделировании внеклеточного матрикса посредством деградации его компонентов, а также в воспалительной реакции, регулируя ряд провоспалительных цитокинов. Целью данного исследования было определить взаимосвязь направленности репаративных изменений с показателями системы протеиназы/ингибиторы у пациентов инфильтративным туберкулезом легких (ИТЛ) с различной лекарственной устойчивостью (ЛУ) штаммов *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) к противотуберкулезным препаратам (ПТП). **Материалы и методы.** Ретроспективное исследование включало 60 и 55 пациентов с впервые выявленным ИТЛ, выделяющих лекарственно-чувствительные (ЛЧ) и лекарственно-устойчивые (ЛУ) штаммы возбудителя к ПТП соответственно. Абацеллирование с закрытием полости распада по окончании интенсивной фазы терапии рассматривали как выраженную положительную динамику, а с сохранением полости распада — как замедленную динамику процесса репарации. В сыворотке крови определяли уровни матриксных металлопротеиназ ММП-1, ММП-3, ММП-8, ММП-9 и их ингибитора ТИМП-1, нейтрофильной эластазы (НЭ), альфа-2-макроглобулина (МГ) и протеиназного ингибитора (ПИ). Применяли Statistica 10.0 и R. **Результаты.** Структура воспалительного ответа организма при ИТЛ определялась не только различной резистентностью возбудителя, но и объемом поражения. Пациенты с ограниченным и распространенным процессом, выделяющие ЛЧ штаммы возбудителя составили I и II группы, а ЛУ — III и IV группы соответственно. Согласно дискриминантному анализу в оценке прогноза репарации в I и II группах определяющим являлось число нейтрофилов с уровнями протеиназ ММП-8, ММП-9 (I группа) или с уровнями ингибиторов ТИМП-1 и ПИ (II группа). В III и IV группах прогнозирование возможно только по сочетанию биохимических данных (уровни протеиназ) с результатами лучевых методов исследования (отсутствие/наличие полостных изменений). **Выводы.** Комбинации из показателей системы протеиназы/ингибиторы информативны в оценке скорости репаративных изменений при ИТЛ и различаются не только в зависимости от ЛЧ штаммов МБТ к ПТП, но и от объема поражения легочной паренхимы. Различия в комбинациях показателей обусловлены давностью специфического процесса.

Ключевые слова: туберкулез, репарация, биомаркеры, матриксные металлопротеиназы, тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ, нейтрофильная эластаза.

Адрес для переписки:

Эсмедляева Диляра Салиевна
191036, Россия, Санкт-Петербург, Лиговский пр., 2–4,
ФГБУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский
институт фтизиопульмонологии.
Тел.: 8 921 183-50-35. E-mail: diljara-e@yandex.ru

Contacts:

Dilyara S. Esmedlyaeva
191036, Russian Federation, St. Petersburg, Ligovskiy pr., 2–4,
St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology.
Phone: +7 921 183-50-35. E-mail: diljara-e@yandex.ru

Для цитирования:

Эсмедляева Д.С., Алексеева Н.П., Дьякова М.Е. Биохимические маркеры скорости репаративных процессов у пациентов с инфильтративным туберкулезом легких // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 931–938. doi: 10.15789/2220-7619-BMA-8034

Citation:

Esmedlyaeva D.S., Alekseeva N.P., Dyakova M.E. Biochemical markers assessing rate of reparative processes in patients with infiltrative pulmonary tuberculosis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 5, pp. 931–938. doi: 10.15789/2220-7619-BMA-8034

BIOCHEMICAL MARKERS ASSESSING RATE OF REPARATIVE PROCESSES IN PATIENTS WITH INFILTRATIVE PULMONARY TUBERCULOSIS

Esmedlyeva D.S.^a, Alekseeva N.P.^b, Dyakova M.E.^a

^a St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation

^b St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The effectiveness of chemotherapy for infiltrative pulmonary tuberculosis (ITL) is determined by proper timing and adequacy of treatment. The speed of reparative changes in the pulmonary parenchyma is associated with the effectiveness of therapy. Different classes of proteinases are involved in extracellular matrix remodeling. The aim of the study was to evaluate a potential of using the markers of proteinase/inhibitors axis for predicting effectiveness of therapy in patients with ITL due to varying resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to anti-tuberculosis drugs (PTP). **Materials and methods.** A retrospective study included 60 and 55 ITL patients with the drug sensitive (DS) and drug resistance (DR) Mtb strains, respectively. Patients were divided into two groups according to therapy effectiveness. The levels of blood serum matrix metalloproteinase MMP-1, MMP-3, MMP-8, MMP-9 and their TIMP-1 inhibitor, neutrophil elastase (NE), alpha-2 macroglobulin (MG) and proteinase inhibitor (PI) were determined. Statistica 10.0 and R software packages were used. **Results.** According to the model of discriminant analysis, the pattern of host inflammatory response in ITL was accounted for not only by varying pathogen resistance, but also by the different size of lung damage. Patients with a limited and widespread process with the DS of the pathogen strains were assigned to group I and II, and DR — to group III and IV group, respectively. The decisive in the speed of tissue repair was the number of neutrophils bearing various levels of proteinase MMP-8, MMP-9 (I group) or TIMP-1 and PI inhibitors (II group). Only combining biochemical data with the those on radiation methods are possible for prognosis in a group of patients with DR (III and IV). **Conclusions.** Combinations of the markers of the proteinase/inhibitors axis are informative in assessing a rate of reparative changes in ITL and differ not only depending on the pathogen DS strains, but also from the size of destructed pulmonary parenchyma. Differences in parameter combinations are accounted for by history of a specific disease.

Key words: tuberculosis, repair, biomarkers, matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of matrix metalloproteinases, neutrophil elastase.

Введение

Эффективность терапии туберкулеза легких (ТЛ) определяется своевременностью и адекватностью лечения и характеризуется скоростью репаративных изменений легочной паренхимы [4]. Предсказать ответ организма по совокупности клинико-рентгенологических параметров до начала лечения не представляется возможным, что делает перспективным поиск прогностических биомаркеров неспецифической реактивности макроорганизма для определения вероятности неблагоприятных исходов лечения [17].

В соответствии с потребностями роста и репарации одним из наиболее важных механизмов регуляции внеклеточного компонента межклеточного матрикса (ВКМ) является протеолитический процессинг, опосредуемый различными классами протеиназ, среди которых можно выделить сериновые и матриксные металлопротеиназы (ММП). В норме эти протеиназы участвуют в процессах, включающих адгезию, пролиферацию, миграцию клеток, апоптоз, модулируют действия цитокинов, вызывая расщепление биоактивных молекул. Субстратом типичного представителя сериновых протеиназ — нейтрофильной эластазы (НЭ) — являются эластины межклеточного вещества, а также коллагены IV и V типов базальной мембраны, а среди ММП,

согласно субстратной специфичности, выделяют — коллагеназы (ММП-1, ММП-8, ММП-13), желатиназы (ММП-2, ММП-9), стромелизины (ММП-3, ММП-10, ММП-11), матрилизины (ММП-7) и др. Источниками ММП могут быть различные типы клеток включая моноциты, нейтрофилы, клетки эпителия, фибробласты. Ферменты продуцируются как зимогены, а в периферической крови их активность регулируется протеиназным ингибитором (ПИ), α 2-макроглобулином (МГ) и тканевыми ингибиторами металлопротеиназ (ТИМП). Нарушение баланса между ММП и ингибиторами играет важную роль в патологических состояниях, включая воспаление, фиброз, аутоиммунные заболевания и канцерогенез [12].

Известно, что *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) и ее основные клеточные антигенные компоненты стимулируют высвобождение ММП, но роль ММП в механизме разрушения соединительной ткани, вызванных МБТ, до конца не исследована [10]. Между сериновыми протеиназами и ММП существует взаимосвязь. Показано, что ММП-8, ММП-9 разрушая ПИ могут восстановить активность сериновых протеаз, в основном НЭ, тогда как НЭ, инактивируя ТИМП-1, опосредованно участвует в активации ММП [13]. Показано, что НЭ и представитель ММП (ММП-8) входят в состав нейтрофильных внеклеточных ловушек (NETs),

которые напрямую воздействуют на МБТ [14, 15]. Повышение уровней НЭ и ММП связано с рентгенологическими показателями тяжести процесса при различных заболеваниях легких [19]. Возможность использовать показатели системы протеиназы/ингибиторы в прогнозировании результатов интенсивной фазы терапии обсуждалась в единичных исследованиях [7, 11].

Целью данного исследования было определение взаимосвязи направленности репаративных изменений с показателями системы протеиназы/ингибиторы у пациентов инфильтративным туберкулезом легких (ИТЛ) с различной лекарственной устойчивостью (ЛУ) штаммов МБТ к противотуберкулезным препаратам (ПТП).

Материалы и методы

Ретроспективное исследование включало 115 больных (65 мужчин и 50 женщин) со средним возрастом (39 лет) с впервые выявленным ИТЛ, находившихся на лечении в клинике ФГБУ «СПбНИИ фтизиопульмонологии» МЗ РФ. Критериями исключения служили внелегочные формы туберкулеза, сахарный диабет, острая воспалительная реакция нетуберкулезного генеза, ВИЧ и беременность. Исследование респираторного материала проводили методом микроскопии, посева в системе ВАСТЕС MGIT 960 (Becton Dickinson, США) и молекулярно-генетическим методом (ПЦР). ЛУ изолятов МБТ определяли в соответствии с Приказом № 109. С учетом цели исследования в качестве группирующих факторов использовали тип чувствительности изолятов возбудителя и эффективность интенсивной фазы противотуберкулезной терапии. ЛЧ и ЛУ штаммы возбудителя к ПТП выделяли 60 и 55 пациентов соответственно. Выраженный положительный эффект терапии (1 вариант динамики процесса) характеризовался исчезновением симптомов интоксикации, абациллированием и ликвидацией полостей распада ($n = 46$). Замедленная динамика процесса (2 вариант) характеризовалась исчезновением симптомов интоксикации, абациллированием и частичным рассасыванием инфильтративных изменений с уменьшением полостей распада ($n = 69$). Компьютерные исследования (КТ) были выполнены на спиральном компьютерном томографе Aquilion Prime (Toshiba) с оценкой структурных изменений легочной паренхимы (пакет прикладных программ Nodule Analysis и Lung Volume Analysis) [3].

Взятие крови осуществлялось перед назначением адекватной терапии, после определения ЛУ изолятов МБТ. Методом твердофазно-

го иммуноферментного анализа в сыворотке крови определяли уровни показателей системы протеиназы/ингибиторы: концентрации ММП-1, ММП-3, ММП-8, ММП-9 и их тканевого ингибитора-1 (ТИМП-1) с использованием наборов реагентов «R&D Systems» (Minneapolis, MN, США); активность МГ, НЭ и ее ингибитора ПИ оценивали спектрофотометрически по торможению синтетических субстратов [2, 20].

Для статистического анализа данных были использованы программные продукты Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.) и R (свободная программная среда вычислений с открытым исходным кодом). Для описания в группах категориальных переменных использовались частоты градаций, представленные в процентах, значимость различия которых проверялась при помощи точного критерия Фишера. После проверки на нормальность распределения (Шапиро–Уилка), характеристики метрических переменных представлялись в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей (Me , Q_1 – Q_3). Для проверки значимости их различий применяли непараметрические критерии Вилкоксона, Краскела–Уоллиса с учетом поправки Бонферрони, в корреляционном анализе использовали критерий Спирмена (r).

Для решения задачи разделимости популяций больных с разной скоростью репаративных процессов и изучения вопроса о возможности прогнозирования результатов лечения на основе биохимических данных и результатов КТ, применялась статистическая процедура классификации с кросс-валидацией 20%. В качестве возможных предикторов ($n = 23$) рассматривались показатели системы протеиназы/ингибиторы, данные об основных популяциях лейкоцитов (общее количество лейкоцитов, общее количество лимфоцитов, сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов) до начала терапии и результаты рентгенологических исследований до и после интенсивной фазы лечения (суммарный объем поражения и деструкции, наличие полостных изменений).

В основу построения дифференциально-диагностической модели был положен метод классификации с расслоением [1], в котором предварительно ищутся категориальные переменные для такого расслоения выборки, при котором возможные предикторы в отдельных подвыборках отличались бы наибольшим образом. В группах с разной ЛЧ штаммов МБТ к ПТП и с разной распространенностью процесса был применен линейный дискриминантный анализ (на основе более чем 30 функций) с зависимой переменной в виде характера эффективности интенсивной фазы лечения. Исследование подтверждено этическим комитетом НИИФ от 2020 г.

Результаты

Предварительно проведенная классификация с расслоением данных показала необходимость анализа показателей системы протеиназы/ингибиторы не только в зависимости от ЛЧ штаммов МБТ, но и от объема поражения [1]. В связи с этим последующее построение модели дискриминантного анализа (ДА) с ретроспективной оценкой эффективности терапии проводилась в четырех группах: у пациентов с ограниченным и распространенным процессом, выделяющих как ЛЧ (I и II группы), так и ЛУ штаммы МБТ к ПТП (III и IV) соответственно (табл. 1).

Согласно ретроспективной оценке эффективности интенсивной фазы терапии, среди пациентов с ЛЧ штаммами МБТ к ПТП, независимо от распространенности процесса (I и II группы), «выраженная положительная» и «замедленная динамика» процесса выявлялись почти в равном проценте случаев, а среди пациентов с ЛУ штаммами МБТ (III и IV группы) «замедленная динамика» процесса отмечалась в 2 раза чаще. Исходные отличия «замедленной» динамики от «выраженной положительной» динамики процесса в группе пациентов с ЛУ штаммами возбудителя к ПТП, проявлялись более выраженным деструктивным компонентом как по объему, так и по характеру процесса, наличию полостей деструкции в 62,16% против 37,84% случаев и бактериовыделением, оцениваемым методом микроскопии, в 37,5% против 13,3% случаев, что соответствует данным литературы о особенностях замедленной скорости репаративных изменений [5].

Следует обратить внимание, что в группе пациентов с исходно адекватной терапией (с ЛЧ штаммами возбудителя) не только при распространенных, но и при ограниченных процессах, замедленная скорость репарации отмечалась почти у половины пациентов. Учитывая, что эти изменения выявлялись до назначения ПТП, возможным объяснением полученных различий может служить фактор, который мы не включили в исследование — оценка давности заболевания. Обоснованием такой гипотезы является то, что по мере увеличения длительности воспалительного процесса отмечается изменение его патоморфоза в сторону нарастания фиброзных изменений.

Представленный ниже анализ данных проводился в выделенных группах до начала терапии. Согласно ретроспективной оценке динамики процесса, попарное сравнение исходных уровней показателей протеиназно-ингибиторной системы не выявило значимых отличий внутри каждой из четырех групп. Независимо от динамики процесса, во всех группах отмечалось значимое повышение уровней представ-

вителей разных классов протеиназ: сериновой протеиназы (НЭ) и одной из ММП — желатиназы — при сохранении концентраций коллагеназ (ММП-1, ММП-8) и стромелизина-1 (ММП-3) на уровне здоровых пациентов. Была установлена сниженная активность МГ и отсутствие изменений ТИМП-1 и ПИ относительно референтного уровня. Избыток концентрации ММП-9 и относительный дефицит ТИМП-1 при низкой активности МГ свидетельствовал о нарушении баланса в сторону повышения ММП.

С увеличением суммарного объема фокуса были связаны концентрации ММП-1 в I ($r = 0,51$, $p = 0,05$) и IV группах ($r = 0,31$, $p = 0,02$), ММП-8 во II ($r = 0,54$, $p = 0,03$), ММП-9 в III ($r = 0,48$, $p = 0,05$) и IV ($r = 0,43$, $p = 0,007$) соответственно. Выявленные закономерности согласуются с полученным нами ранее выводом о том, что изменения ММП являются объективным критерием распространенности специфического процесса [7, 10].

Для оценки прогноза скорости репарации по показателям протеиназно-ингибиторной системы модель ДА формировалась для каждой из четырех группы отдельно. Для того чтобы оценить вклад каждой из переменных, были вычислены их коэффициенты корреляций с итоговой моделью ДА, составленной более чем по 30 функциям (табл. 2). Анализируя данные таблицы, следует подчеркнуть, что сочетания из маркеров, определяющие скорость репаративных изменений, отличались между 4 группами.

В группе с ЛЧ к ПТП штаммами МБТ сопоставление коэффициентов корреляций и направленности знаков перед переменными в модели ДА показало, что менее выраженный эффект терапии характеризуется особенностью воспалительной реакции с преобладанием нейтрофильного компонента. При ограниченном процессе (I группа) увеличение числа нейтрофилов ($r = 0,59$, $p = 0,035$) не сопровождалось ростом концентраций протеиназ нейтрофильного происхождения, таких как ММП-8 и ММП-9 ($r = -0,67$, $p = 0,023$; $r = -0,57$, $p = 0,007$ соответственно). При распространенном процессе (II группа) на фоне роста числа нейтрофилов ($r = 0,88$, $p = 0,001$) не наблюдалось компенсаторного роста ингибитора ТИМП-1 ($r = 0,57$, $p = 0,008$) и отмечалось снижение основного ингибитора нейтрофильных протеиназ — ПИ ($r = -0,51$, $p = 0,01$). Роль ПИ в ингибировании нейтрофильных протеаз является важным отрицательным модулятором активности внеклеточных ловушек и считается его ключевой функцией.

В группе пациентов с ЛУ к ПТП штаммам МБТ, согласно модели ДА, при ограниченном процессе (III группа) возникла необходимость в качестве предикторов замедленной скорости

Таблица 1. Эффективность терапии в группах с различной резистентностью в зависимости от объема поражения легочной ткани

Table 1. The effectiveness of therapy in groups with various resistance depending on the size of pulmonary tissue lesions

	Группы Groups			
	Пациенты с ЛЧ штаммы МБТ к ПТП Patients with DS strains <i>Mycobacterium tuberculosis</i> in anti-tuberculosis therapy		Пациенты ЛУ штаммы МБТ к ПТП Patients with DR strains <i>Mycobacterium tuberculosis</i> in anti-tuberculosis therapy	
Динамика Dynamics of the process	I Ограниченный Limited process	II Распространенный Extended process	III Ограниченный Limited process	IV Распространенный Extended process
1/2	64,00/36,00	45,80/54,17	33,00/67,70 *p = 0,01	26,92/73,08 *p = 0,03

Примечание. ЛЧ — лекарственно чувствительные, ЛУ — лекарственно устойчивые штаммы МБТ штаммы *Mycobacterium tuberculosis* к противотуберкулезным препаратам; *p — значимость различий внутри группы.

Note. DS drug-sensitive strains, DR — drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains in anti-tuberculosis therapy; *p — a in-group significant difference.

Таблица 2. Коэффициенты корреляции между итоговой дискриминантной функцией и составляющими ее переменными в группах с различной резистентностью и объемами поражения при замедленной скорости репарации

Table 2. The correlation coefficients between the final discriminant function and its variables in groups with various resistance and size of damage with a slow repair rate

	Группы Groups			
	Пациенты с ЛЧ штаммы МБТ к ПТП Patients with DS strains <i>Mycobacterium tuberculosis</i> in anti-tuberculosis therapy		Пациенты с ЛУ штаммы МБТ к ПТП Patients with DR strains <i>Mycobacterium tuberculosis</i> in anti-tuberculosis therapy	
Переменные Variables	I Ограниченный Limited process n = 28	II Распространенный Extended process n = 32	III Ограниченный Limited process n = 21	IV Распространенный Extended process n = 34
ММП-1 MMP-1	0,26	0,15	0,46 *p = 0,009	-0,25
ММП-3 MMP-3	0,01	0,03	0,57 *p = 0,05	0,03
ММП-8 MMP-8	-0,67 *p = 0,023	0,50	0,57 *p = 0,006	0,50
ММП-9 MMP-9	-0,57 *p = 0,007	-0,40	0,57 *p = 0,001	0,08
ТИМП-1 TIMP-1	0,05	0,57 *p = 0,008	0,46 *p = 0,008	-0,09
МГ MG	0,11	0,03	-0,13	-0,11
НЭ NE	0,13	-0,04	0,68 *p = 0,001	0,22
ПИ PI	-0,41	-0,51 *p = 0,01	-0,12	0,31
Число палочкоядерных нейтрофилов Number of stab neutrophils	0,59 *p = 0,03	0,88 *p = 0,001	0,18	0,87 *p = 0,001
Наличие полости Presence of a cavity	0,29	0,19	0,36 *p = 0,005	-0,14
Объем поражения Size of lesion	0,01	-0,06	0,28	-0,37 *p = 0,001

Примечание. ЛЧ МБТ — лекарственно-чувствительные или ЛУ МБТ лекарственно-устойчивые к противотуберкулезным препаратам штаммы *Mycobacterium tuberculosis*, ММП — металлопротеиназы, ТИМП-1 — тканевый ингибитор-1 металлопротеиназ, МГ — α 2-макроглобулин, ПИ — протеиназный ингибитор, НЭ — нейтрофильная эластаза; *p — значимость по критерию Спирмена.

Note. DS — drug-sensitive strains, DR — drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains in anti-tuberculosis therapy, MMP — matrix metalloproteinases, TIMP-1 — tissue inhibitor of metalloproteinases, MG — α 2-macroglobulin, NE — neutrophilic elastase, PI — proteinase inhibitor, *p — a statistical significance according to Spearman's criterion.

репарации учитывать не только биохимические характеристики (концентрации протеиназ), но и данные КТ (наличие полости). Полученные результаты можно расценить как проявление взаимодействия моноцитов (ММП-1 в сочетании с ее активатором ММП-3) и нейтрофилов (ММП-8, ММП-9, НЭ) при увеличении объема специфического поражения. На тканевом уровне сочетанное действие различных классов протеиназ, обладающих эластолитической активностью (НЭ с ММП-9), проявляется в способности вызывать большую деградацию белков легочной ткани, по крайней мере, эластина. Таким образом, можно предположить, что предпосылкой более длительного процесса заживления является вовлечение в протеолитический каскад деградации ВКМ различных классов ММП, формирующих увеличение объема поражения (размеры полости). Снижение скорости репарации будет отмечаться при общем повышении уровней различных ММП на фоне роста ингибитора ТИМП-1, что согласуется с данными литературы об ухудшении прогноза заболевания и его прогрессировании [8]. В группе пациентов с ЛУ (IV группа) и распространенным процессом к окончанию интенсивной фазы терапии в 90% случаев отмечалось сохранение полости и высокий уровень нейтрофилов, что не позволило нам выделить дискриминантные функции (ДФ). Процент правильной классификации скорости репаративных изменений в описанных моделях составил 90–100%.

Обсуждение

Поиск более эффективных схем лечения туберкулеза затруднен из-за отсутствия надежных прогностических биомаркеров, которые определяют стратегию лечения. Математический аппарат, который мы применили, доказал эффективность поиска комбинаций из показателей протеиназно-ингибиторной системы для оценки прогноза терапии при отсутствии значимых различий при бинарном анализе переменных. На сегодня опубликовано единственное исследование, доказывающее связь исходных уровней ММП и ТИМП с результатами лечения [11]. Было выявлено, что комбинация из ММП-2, ММП-7 и ТИМП-1 обладает высокой точностью при классификации благоприятных и неблагоприятных исходов лечения (с чувствительностью в 84% и специфичностью в 83%) в группе пациентов с ЛЧ к ПТП штаммами МБТ.

Преимуществом нашего анализа было получение ДФ с учетом резистентности штаммов МБТ. Основным выводом текущего исследования следует считать, что комбинации из биохимических маркеров деструкции, прогнозирующие направленность и скорость

репарации, различаются не только в группах с различной резистентностью штаммов возбудителя, но и зависят от объема поражения. В группе пациентов с ЛЧ к ПТП штаммами МБТ ведущим оказалось влияние нейтрофильного компонента воспаления. Наши данные согласуются с литературными о том, что деструкция легочной паренхимы и бактериовыделение наиболее тесно связаны с относительной экспансией нейтрофилов, особенно палочкоядерных и снижением отношения лимфоцитов к нейтрофилам [16]. Различия в составе выделенных комбинаций в зависимости от объема поражения могут быть объяснимы с точки зрения соотношения нейтрофилов с умеренным или выраженным проявлением воспалительной реакции. Следует помнить, что оценка нейтрофилов не ограничивается их количеством. Необходимо учитывать их пластичность и спектр функциональных возможностей, среди которых также отмечена способность к дегрануляции или высвобождению во внеклеточное пространство из NETs НЭ, ММП-8 наряду с ядерной ДНК, IL-17, катепсином-G и протеиназой-3 [9]. Полученные нами данные согласуются с тем, что количественные параметры антигенспецифического Th1-ответа играют не столь выраженную роль в определении тяжести течения ТЛ, как общие сдвиги в гранулоцитарном и лимфоцитарном ростках, формируя важный фактор патогенеза специфического воспаления [16].

Подтверждением нашей гипотезы о влиянии длительности заболевания на скорость репарации на тканевом уровне являются различия в соотношении инфильтративных и фиброзных изменений легочной паренхимы, которые могут определяться раньше по биохимическим маркерам деструкции и ремоделирования, чем по данным КТ. Наличие фиброзных изменений, препятствует проникновению препаратов, способствует снижению эффективности (50%) лечения. Избыточное разрушение ВКМ приводит к деструкции тканей, тогда как преобладание избыточной продукция его компонентов над деградацией вызывает фиброз [18]. Установлено, что ММП не только вовлечены в воспалительный процесс, но могут активировать цитокины, инициирующие легочный фиброз, такие как трансформирующий фактор роста β (TGF- β). Предполагаемый механизм формирования фиброза заключается в последовательной стимуляции свободными радикалами кислорода и НЭ протеаз (ММП-9), которые активируют находящийся в латентном состоянии TGF- β .

В пользу нашей гипотезы о влиянии фиброзных изменений на скорость репарации служат данные литературы о том, что в течении трех

лет у 26,7% больных ИТЛ с бактериовыделением и сохраненной ЛЧ к препаратам первого ряда процесс переходит в хроническую форму [6]. Полученный нами вывод о необходимости учитывать не только биохимические характеристики, но и данные КТ в группе больных с ЛУ штаммами возбудителя согласуется с данными литературы о снижении вероятности положительной динамики процесса при наличии полостных изменений с 54,5 до 31,5% [5].

Заключение

Применение статистической модели классификации на основе ДА выявило различия в структуре воспалительного ответа организма при ИТЛ в зависимости от объема поражения

в группах с различной резистентностью возбудителя. Была показана информативность комбинаций из показателей системы протеиназы/ингибиторы в оценке направленности и скорости репаративных изменений. Построенные нами ДФ показали, что взаимодействие «микроорганизм—макроорганизм» в зависимости от скорости репарации характеризуется различной выраженностью неспецифического воспалительного ответа. Различия в комбинациях показателей протеиназно-ингибиторной системы свидетельствуют о том, что для достижения эффективности терапии следует учитывать биохимические данные, характеризующие исходный фон, на котором будут происходить репаративные изменения, обусловленные давностью специфического процесса.

Список литературы/References

1. Алексеева Н.П., Горлова И.А., Бондаренко Б.Б. Возможности прогнозирования возникновения артериальной гипертензии на основе метода проективной классификации // Артериальная гипертензия. 2017. Т. 23, № 5. С. 472–480. [Aleksееva N.P., Gorlova I.A., Bondarenko B.B. Forecasting hypertension risk based on the method of projective classification. *Arterial'naya gipertenziya = Arterial Hypertension*, 2017, vol. 23, no. 5, pp. 472–480. (In Russ.)] doi: 10.18705/1607-419X-2017-23-5-472-480
2. Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.И. Протеолиз в норме и при патологии. Киев: Здоровье, 1988. 319 с. [Veremeenko K.N., Goloborod'ko O.P., Kizim A.I. Proteolysis is normal and with pathology. *Kiev: Zdorov'e*, 1988. 319 p. (In Russ.)]
3. Гаврилов П.В., Баулин И.А., Лукина О.В. Стандартизованная интерпретация и контроль выявленных одиночных образований в легких по системе lung imaging reporting and data system (lung-rads™) // Медицинский альянс. 2017. № 3. С. 17–27. [Gavrilov P.V., Baulin I.A., Lukina O.V. Standardized interpretation and control of identified single lung nodule by the Lung Imaging Reporting and Data System (Lung-RADS™). *Meditsinskii al'yans = Medical Alliance*, 2017, no. 3, pp. 17–27 (In Russ.)]
4. Ерохин В.В. О некоторых механизмах патогенеза туберкулеза // Туберкулез и болезни легких. 2009. Т. 86, № 11. С. 3–8. [Erokhin V.V. About some mechanisms of tuberculosis pathogenesis. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2009, vol. 86, no. 11, pp. 3–8. (In Russ.)]
5. Мишин В.Ю. Химиотерапия туберкулеза легких // Пульмонология. 2008. Т. 3. С. 5–14. [Mishin V.Yu. Chemotherapy of pulmonary tuberculosis *Pul'monologiya = Pulmonology*, 2008, vol. 3, pp. 5–14. (In Russ.)] doi: 10.18093/0869-0189-2008-0-3-5-14
6. Пильник Г.В., Ханин А.Л., Башева С.А. Непосредственные и отдаленные результаты лечения впервые выявленных больных деструктивным туберкулезом легких с применением комплексной физиотерапии // Вестник современной клинической медицины. 2017. Т. 10, вып. 3. С. 38–43. [Pil'nik G.V., Khanin A.L., Basheva S.A. Immediate and long-term results of treatment of newly diagnosed patients with destructive pulmonary tuberculosis using complex physiotherapy. *Vestnik sovremennoi klinicheskoi meditsiny = Bulletin of Modern Clinical Medicine*, 2017, vol. 10, iss. 3, pp. 38–43. (In Russ.)] doi: 10.20969/VSKM.2017.10(3).38-43
7. Эсмедляева Д.С., Алексеева Н.П., Сапожникова Н.В., Дьякова М.Е., Перова Т.Л., Кирюхина Л.Д., Журавлев В.Ю. Система матричные металлопротеиназы/ингибиторы при инфильтративном туберкулезе легких и ее роль в оценке интенсивной фазы лечения // Биомедицинская химия. 2016. Т. 62, № 5. С. 593–598. [Esmedlyayeva D.S., Aleksееva N.P., Sapozhnikova N.V., D'yakova M.E., Perova T.L., Kiryukhina L.D., Zhuravlev V.Yu. The system of matrix metalloproteinases/inhibitors in infiltrate pulmonary tuberculosis and its function for assessment of the intensive phase of treatment. *Biomeditsinskaya khimiya = Biomedicinskaya Khimiya*, 2016, vol. 62, no. 5, pp. 593–598. (In Russ.)] doi: 10.18097/PBMC20166205593
8. Cabral-Pacheco G.A., Garza-Veloz I., Castruita-De la Rosa C., Ramirez-Acuña J.M., Perez-Romero B.A., Guerrero-Rodriguez J.F., Martinez-Avila N., Martinez-Fierro M.L. The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, vol. 21, no. 24: 9739. doi: 10.3390/ijms21249739
9. De Melo M.G., Mesquita E.D., Oliveira M.M., Silva-Monteiro C., Silveira A.K., Malaquias T.S., Dutra T.C., Galliez R.M., Kritski A.L., Silva E.C. Imbalance of NET and alpha-1-antitrypsin in tuberculosis patients is related with hyper inflammation and severe lung tissue damage. *Front. Immunol.*, 2019, vol. 9: 3147. doi: 10.3389/fimmu.2018.03147
10. Hrabec E., Strek M., Zieba M., Kwiatkowska S. Circulation level of matrix metalloproteinase-9 is correlated with disease severity in tuberculosis patients. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2002, vol. 6, no. 8, pp. 713–719.
11. Kumar N.P., Moideen K., Nancy A., Viswanathan V., Thiruvengadam K., Sivakumar S., Hissar S., Nair D., Banurekha V.V., Kornfeld H., Babu S. Association of plasma matrix metalloproteinase and tissue inhibitors of matrix metalloproteinase levels with adverse treatment outcomes among patients with pulmonary tuberculosis. *JAMA Netw. Open*, 2020, vol. 3, no. 12: e2027754. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.27754
12. Lee H.S., Kim W.J. The role of matrix metalloproteinase in inflammation with a focus on infectious diseases. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, vol. 23, no. 18: 10546. doi: 10.3390/ijms231810546
13. Liu Z., Zhou X., Shapiro S.D., Shipley J.M., Twining S.S., Diaz L.A., Senior R.M., Werb Z. The serpin alpha1-proteinase inhibitor is a critical substrate for gelatinase B/MMP-9 in vivo. *Cell*, 2000, vol. 102, no. 5, pp. 647–655. doi: 10.1016/s0092-8674(00)00087-8

14. Muefong C., Owolabi O., Donkor S., Charalambous S., Mendy J., Sey I., Bakuli A., Rachow A., Geldmacher C., Sutherland J. Major neutrophil-derived soluble mediators associate with baseline lung pathology and post-treatment recovery in tuberculosis patients. *Front. Immunol.*, 2021, vol. 23, no. 12: 740933. doi: 10.3389/fimmu.2021.740933
15. Ong C., Elkington P., Brilha S., Ugarte-Gil C., Tome-Esteban M., Tezera L., Pabisiak P., Moores R., Sathyamoorthy T., Patel V., Gilman R., Porter J., Friedland J. Neutrophil-derived MMP-8 drives AMPK-dependent matrix destruction in human pulmonary tuberculosis. *PLoS Pathog.*, 2015, vol. 11, no. 5: e1004917. doi: 10.1371/journal.ppat.1004917
16. Pantelev A.V., Nikitina I.Y., Burmistrova I.A., Kosmiadi G.A., Radaeva T.V., Amansahedov R.B., Sadikov P.V., Serdyuk Y.V., Larionova E.E., Bagdasarian T.R., Chernousova L.N., Ganusov V.V., Lyadova I.V. Severe tuberculosis in humans correlates best with neutrophil abundance and lymphocyte deficiency and does not correlate with antigen-specific CD4 T-cell response. *Front. Immunol.*, 2017, vol. 8: 963. doi: 10.3389/fimmu.2017.00963
17. Rockwood N., du Bruyn E., Morris T., Wilkinson R.J. Assessment of treatment response in tuberculosis. *Expert Rev. Respir. Med.*, 2016, vol. 10, no. 6, pp. 643–654. doi: 10.1586/17476348.2016.1166960
18. Sonbol H.S. Extracellular matrix remodeling in human disease. *J. Microsc. Ultrastruct.*, 2018, vol. 6, no. 3, pp. 123–128. doi: 10.4103/jmau.jmau_4_18
19. Ugarte-Gil C., Elkington P., Gilman R., Coronel J., Tezera L., Bernabe-Ortiz A., Gotuzzo E., Friedland J., Moore D. Induced sputum MMP-1, -3 & -8 concentrations during treatment of tuberculosis. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 4: e61333. doi: 10.1371/journal.pone.0061333
20. Visser L., Blout E.R. The use of p-nitrophenyl N-tert-butylloxycarbonyl-L-alaninate as substrate for elastase. *Biochim. Biophys. Acta*, 1972, vol. 268, no. 1, pp. 257–260. doi: 10.1016/0005-2744(72)90223-9

Авторы:

Эсмедляева Д.С., к.б.н., старший научный сотрудник отдела фундаментальной медицины ФГБНУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт физиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия;
Алексеева Н.П., к.ф.-м.н., доцент кафедры статистического моделирования математико-механического факультета Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург, Россия;
Дьякова М.Е., д.б.н., старший научный сотрудник отдела фундаментальной медицины ФГБНУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт физиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Esmedlyaeva D.S., PhD (Biology), Senior Researcher, Department of Fundamental Medicine, St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation;
Alekseeva N.P., PhD (Physics and Mathematics), Associate Professor, Senior Researcher, Scientific Technical Information Department, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation;
Dyakova M.E., DSc (Biology), Senior Researcher, Department of Fundamental Medicine, St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 06.03.2023
Принята к печати 13.10.2023

Received 06.03.2023
Accepted 13.10.2023